

USO DE AMINOÁCIDO EXÓGENO NA PREVENÇÃO DE INJÚRIAS CAUSADAS POR GLYPHOSATE NA SOJA RR¹

Use of Exogenous Amino Acid to Prevent Glyphosate Injury in Glyphosate-Resistant Soybean

ZOBIOLE, L.H.S.², OLIVEIRA JR., R.S.³, CONSTANTIN, J.³, BIFFE, D.F.² e KREMER, R.J.⁴

RESUMO - O aumento da área cultivada de soja resistente ao glyphosate (RR) no Brasil é resultado do benefício dessa tecnologia no manejo de plantas daninhas. No entanto, a expansão da área de soja RR aumentou significativamente o uso de glyphosate e conseqüentemente, em alguns casos, têm sido observados sintomas de injúrias na soja RR conhecidos como *yellow flashing* ou amarelecimento das folhas superiores. Nesse sentido, dois experimentos, em diferentes anos, foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. O primeiro teve o objetivo de avaliar a influência do glyphosate na soja RR nas variáveis fotossintéticas, nos parâmetros de nodulação e na biomassa seca da parte aérea e raiz, realizando-se a comparação entre os tratamentos BRS 242 RR sem glyphosate, BRS 242 RR + glyphosate e a isolinha parental não-RR cv. Embrapa 58, submetidas a uma dose de glyphosate de 1.200 g e.a. ha⁻¹, aplicada no estágio V4. O segundo experimento foi conduzido visando reavaliar as variáveis fotossintéticas, de produção de biomassa e nodulação afetadas na soja RR pelo glyphosate no primeiro experimento. Entretanto, no segundo experimento foi avaliada a utilização de diversas modalidades de aplicação de aminoácidos (a.a.), sendo os diferentes tratamentos (sem a.a.; tratamento de semente com a.a.; tratamento de semente com a.a. + aplicação foliar de a.a.; sem tratamento de sementes com a.a.; e com aplicação foliar de a.a.) combinados com diferentes doses de glyphosate (1.200 e 2.400 g e.a. ha⁻¹), objetivando uma provável recuperação das plantas de soja com sua utilização exógena. Em ambos os experimentos, as variáveis fotossintéticas, os parâmetros de nodulação e biomassa seca da parte aérea e raiz foram afetados pela aplicação do glyphosate, porém o segundo experimento evidenciou, de modo geral, que o uso de aminoácidos via tratamento de sementes associado com aplicação foliar pode ser uma estratégia para prevenir os efeitos indesejáveis desse herbicida na cultura da soja RR.

Palavras-chave: fotossíntese, biomassa, nodulação, herbicida, *Rhizobium*.

ABSTRACT - Cultivation of glyphosate-resistant (GR) soybeans has increased in Brazil as a result of the application of this technology in weed management systems developed for this crop. However, the expansion of GR soybean production has significantly increased the use of glyphosate and, in some cases, resulted in injury symptoms observed in GR soybean, known as "yellow flashing" or yellowing of the upper leaves. Thus, two experiments were conducted in different years. The first experiment aimed to evaluate the influence of glyphosate on GR soybeans regarding the photosynthetic variables, nodule parameters, and shoot and root dry biomass by comparing cultivar BRS 242 GR without glyphosate and BRS 242 RR + glyphosate at 1.200 g ha⁻¹ at V4 growth stage, to the near isogenic non-GR parental line cv. Embrapa 58. The second experiment aimed to reassess the same parameters in GR soybeans at the V4 stage treated with glyphosate, plus the application of various amino acids, to evaluate the expected recovery of soybean growth under the exogenous use of supplemental amino acids. In general, the photosynthetic variables, nodulation parameters and shoot and root dry biomass were affected by glyphosate; however, the use of amino acids may be a strategy to prevent the undesirable effects of this herbicide on GR soybean.

Keywords: photosynthesis, biomass, nodulation, herbicide, *Rhizobium*.

¹ Recebido para publicação em 16.12.2009 e na forma revisada em 3.9.2010.

² Doutorando do curso do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Maringá –UEM, Av. Colombo, 5790, Bloco J45, 87020-900 Maringá-PR, <lhzobiole@uol.com.br>; ³ Professor Associado, Dep. de Agronomia, UEM; ⁴ United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Cropping Systems & Water Quality Research Unit, University of Missouri, 327 Anheuser-Busch Natural Resources Building, 65201, Columbia, MO, USA.



INTRODUÇÃO

No Brasil, a área cultivada com soja resistente ao glyphosate (RR) deve alcançar na safra 2009/2010 cerca de 65% da área total cultivada de soja, e continua aumentando significativamente. A cada ano, empresas de biotecnologia investem bilhões de dólares para o desenvolvimento de variedades resistentes a herbicidas. No entanto, com o aumento do uso da tecnologia da soja RR, muitos agricultores têm notado que alguns cultivares RR apresentam injúrias visuais logo após a aplicação do glyphosate em pós-emergência (Santos et al., 2007; Zablotowicz & Reddy, 2007).

Observações em campo no Brasil e na região centro-norte dos Estados Unidos levaram a relatos de deficiências de Fe, Zn e Mn na soja RR após a utilização frequente de glyphosate (Huber, 2006; Johal & Huber, 2009). O sintoma típico observado em campo após a aplicação do glyphosate é conhecido como *yellow flashing* ou amarelecimento das folhas superiores. Recentes pesquisas demonstraram que esse sintoma clorótico nas culturas RR pode ser atribuído à imobilização de cátions bivalentes, como Fe e Mn (Huber, 2006; Bott et al., 2008; Zobiole et al., 2010a). Uma possibilidade para ocorrer a menor disponibilidade desses cátions é que o glyphosate, por ser um ácido fosfônico e “quelador” de cátions metálicos (Kabachnik et al., 1974), poderia formar quelatos com cátions bivalentes e trivalentes. Provavelmente, a duração desse amarelecimento depende da habilidade da planta de se recuperar pela absorção radicular dos elementos que foram imobilizados pelo glyphosate nos tecidos foliares (Cakmak et al., 2009).

De acordo com Reddy et al. (2004), o sintoma clorótico indesejável na soja RR tem sido atribuído ao acúmulo do primeiro metabólito fitotóxico do glyphosate, conhecido como AMPA (ácido aminometilfosfônico), o qual é um dos responsáveis pela diminuição da biomassa seca da parte aérea e raiz e do teor de clorofila (Reddy et al., 2000; King et al., 2001; Zablotowicz & Reddy, 2004). Esses sintomas não têm ocorrido apenas em solos com baixa disponibilidade natural de micronutrientes, como os dos cerrados, mas também em áreas com adequada ou até alta fertilidade,

como os Latossolos Vermelhos Eutroféricos, distribuídos pelas regiões norte e oeste do Paraná. A ocorrência desse amarelecimento tem levado muitos produtores ao uso intensivo de fertilizantes foliares como alternativa para amenizar ou suprir essa provável deficiência nutricional, sem, no entanto, haver necessariamente a recuperação da cultura.

Sabe-se que bioestimulantes são utilizados para aumentar o crescimento e a produtividade da soja, sob o argumento de que esses produtos podem aumentar a atividade microbológica, biodisponibilidade de nutrientes e mineralização da matéria orgânica (Subler et al., 1998; Chen et al., 2002). Contudo, até o momento não existem estudos específicos visando avaliar a aplicação de bioestimulantes na recuperação dos efeitos indesejáveis do glyphosate na soja RR.

Existem pesquisas que relatam que o suprimento exógeno de aminoácidos (a.a.) pode reduzir a inibição do crescimento em plantas atingidas por herbicidas que agem no metabolismo de aminoácidos (Jaworski, 1972; Roisch & Lingens, 1974; Haderlie et al., 1977; Gresshoff, 1979). Nas décadas de 1980 e 1990, estudos visando descobrir os mecanismos de ação dos herbicidas eram feitos a partir da aplicação de determinadas moléculas em plantas, incubando-as posteriormente com diversas combinações de aminoácidos. Dessa forma, pela adição de aminoácido no meio de cultura, e com a recuperação dos sintomas, era possível descobrir qual o sítio de ação do herbicida. Ray (1984) demonstrou que a adição de valina e isoleucina a herbicidas inibidores da acetolactato sintase (ALS), como o chlorsulfuron, reduziu completamente a inibição do crescimento de raízes de ervilha (*Pisum sativum*). De forma semelhante, a adição desses mesmos aminoácidos reverteu a inibição do crescimento de milho, causada pelo herbicida imazapir, em trabalho conduzido por Shaner et al. (1984).

Em relação aos herbicidas inibidores da enzima 5-enol-piruvil-3-shikimato-fosfato sintetase – EPSPs, um dos primeiros trabalhos conduzidos visando suprimir os sintomas do herbicida glyphosate pela adição da mistura de fenilalanina, tirosina e triptofano foi descrito por Jaworski (1972). Nesse trabalho, a utilização desses três aminoácidos preveniu a

inibição do crescimento de *Lemma gibba* e da bactéria *Rhizobium japonicum*. Esses mesmos resultados foram confirmados por Santos et al. (2005), os quais descreveram que a adição desses aminoácidos aromáticos ao meio de cultura com *B. japonicum* preveniu a inibição do crescimento pelo glyphosate, pelo fato de esse microrganismo possuir esta enzima sensível ao glyphosate (Moorman et al., 1992; De Maria et al., 2006). Forlani et al. (1997) também relatam que a adição de aminoácidos aromáticos preveniu parcialmente a inibição do crescimento de raízes de pepino (*Cucumis sativus*) causada pelo glyphosate e pelo ácido N-pirimidilaminometilenobifosfônico (Forlani et al., 1997).

Considerando que os problemas causados pelo herbicida glyphosate na cultura da soja RR em todo o mundo são um tema bastante atual e que há um apenas um limitado conhecimento no Brasil a respeito da resposta de cultivares de soja RR à aplicação de glyphosate, o primeiro experimento deste trabalho foi instalado com o objetivo de avaliar a influência do glyphosate na soja RR, e o segundo, de reavaliar os efeitos indesejáveis do glyphosate na soja RR e também a utilização de diversas modalidades de aplicação de aminoácidos visando uma provável recuperação das plantas de soja.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação (25–35: 20–22 °C dia/noite), sob condições naturais de luminosidade, na Universidade Estadual de Maringá. O primeiro foi conduzido entre outubro de 2007 e fevereiro de 2008; e o segundo, entre dezembro de 2008 e fevereiro de 2009, a 23°25' de latitude sul e

51°57' de longitude oeste de Greenwich, numa altitude de 542 m.

As unidades experimentais foram constituídas de vasos de polietileno de 5,0 dm³, preenchidos com solo argiloso (Latosolo Vermelho nitossólico), proveniente do horizonte A coletado no Centro Tecnológico de Irrigação da Universidade Estadual de Maringá (Maringá-PR). Após coleta, o solo foi seco ao ar e passado em peneira com malha 10 mesh. Os resultados das análises químicas e granulométrica dos dois solos dos experimentos encontram-se na Tabela 1. As propriedades físico-químicas foram determinadas de acordo com procedimentos estabelecidos pela Embrapa (1997).

Ambos os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. No primeiro, foram avaliados os tratamentos BRS 242 RR sem glyphosate, BRS 242 RR + glyphosate e a isolinha parental não-RR cv. Embrapa 58, submetidos a uma dose de glyphosate de 1.200 g e.a. ha⁻¹, aplicada no estádio V4. O segundo experimento foi conduzido em esquema fatorial (3 x 4) + 1, sendo o primeiro fator representado pelas doses de glyphosate (0, 1.200 e 2.400 g a.e. ha⁻¹) e o segundo pelas diversas modalidades de aplicação de aminoácido (sem fornecimento de aminoácidos – SEM AA; com fornecimento de aminoácidos via tratamento de sementes – TRATSEM; com fornecimento de aminoácidos via tratamento de sementes e via foliar em mistura com glyphosate – TRATSEM + FOL; e apenas com fornecimento de aminoácidos via foliar em mistura com glyphosate - FOL). O tratamento adicional (+1) foi constituído pela isolinha parental não-RR – cv. Embrapa 58 e não recebeu nenhuma aplicação de glyphosate nem de aminoácido.

Tabela 1 - Análise química e granulométrica da amostra de solo utilizada nos experimentos. Maringá-PR, 2007 e 2008

pH	C	P	Al ⁺⁺⁺	H ⁺ +Al ⁺⁺⁺	Ca ⁺⁺ +Mg ⁺⁺	Ca ⁺⁺	K ⁺	S	Fe ⁺⁺	Zn ⁺⁺	Cu ⁺⁺	Mn ⁺⁺	
(CaCl ₂)	(H ₂ O)	(g dm ⁻³)	(mg dm ⁻³)	(cmol _c dm ⁻³)				(mg dm ⁻³)					
5,70	6,10	25,82	18,0	0,0	3,97	11,93	8,71	1,13	9,61	64,43	13,87	25,61	148,58
Areia grossa			Areia fina				Silte			Argila			
(g kg ⁻¹)													
40			120				90			750			



Antes da semeadura, as sementes de soja (*Glycine max*) cv. BRS 242 RR e sua isolinha parental não-RR cv. Embrapa 58 foram tratadas com 200 mL 100 kg⁻¹ de sementes com uma mistura de 200 g L⁻¹ carboxim + 200 g L⁻¹ de thiram, 13,5 g L⁻¹ de cobalto e 135 g L⁻¹ de molibdênio. As sementes foram então inoculadas com 300 mL 100 kg⁻¹ de sementes da cultura de *Bradyrhizobium elkanii*, estirpes SEMIA 587 e SEMIA 5019, na concentração de 5x10⁹ rizóbios por grama. Cinco sementes foram semeadas por vaso na profundidade de 3 cm. Quando as plantas atingiram o estágio V1, foi realizado o desbaste, deixando-se apenas uma planta por vaso

Plantas no estágio V5 (35 dias após semeadura - DAS) foram sujeitas à aplicação de glyphosate formulado comercialmente como sal de isopropilamina (480 g e.a. L⁻¹). As aplicações foram feitas com os vasos colocados do lado de fora da casa de vegetação, utilizando-se barra equipada com quatro bicos com pontas tipo leque (Teejet XR 110.02), espaçados de 50 cm entre si, posicionados na altura de 50 cm das plantas, com volume relativo de calda de 190 L ha⁻¹. As condições climáticas no momento da aplicação eram de temperatura entre 24 e 28 °C, umidade relativa do ar entre 80 e 90%, solo úmido e velocidade do vento entre 6 e 8 km h⁻¹. Após as aplicações do herbicida, os vasos retornaram à casa de vegetação e foram irrigados apenas no dia seguinte, garantindo assim a absorção foliar do herbicida. Os vasos foram irrigados diariamente, para conservar o solo úmido, e mantidos livres de plantas daninhas por meio de capinas manuais.

Os tratamentos com aminoácidos consistiram em tratamento de sementes na dose de 5 mL kg sementes⁻¹ ou na aplicação conjunta com glyphosate na dose de 2 L ha⁻¹ do produto comercial AminoPlus®, Ajinomoto, São Paulo, Brasil. Este produto apresenta a seguinte composição: alanina (1,164%), arginina (0,189%), ácido aspártico (1,943%), ácido glutâmico (3,316%), glicina (0,202%), isoleucina (0,171%), leucina (0,268%), lisina (0,240%), fenilalanina (0,143%), serina (0,179%), treonina (0,188%), triptofano (0,175%), tirosina (0,122%), valina (0,288%) e os nutrientes: N - 11% e K₂O - 1%.

Quando as plantas atingiram o estágio R1 (aos 46 e 48 DAS para o primeiro e segundo

experimentos, respectivamente), foram feitas avaliações da taxa fotossintética (μmol CO₂ m⁻² s⁻¹) em um dia sem nebulosidade com fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA) de ± 1.500 μmol m⁻² s⁻¹ PARi, com um sistema fechado portátil de fotossíntese, utilizando o equipamento ADC model LCpro+(Infra Red Gas Analyser, Analytical Development Co. Ltd, Hoddesdon, UK). O teor de clorofila (unidades SPAD) foi avaliado no equipamento Minolta (SPAD-502 meter).

As avaliações foram realizadas entre 9h e 12h, tomando-se as medidas na parte mediana do segundo trifólio completamente expandido (folha diagnóstica). Após essas avaliações, as partes aéreas das plantas foram cortadas rente ao solo, embaladas em sacos de papel e secas em estufa de circulação forçada de ar a 65 - 70 °C até peso constante. As raízes foram lavadas em água corrente e, em seguida, procedeu-se ao destaque e contagem do número de nódulos, para posterior secagem do material e determinação da sua matéria seca. No entanto, no segundo experimento, imediatamente antes (V4, 30 DAS) e após (V7, 42 DAS) aplicações dos diferentes tratamentos foram avaliadas as taxas fotossintéticas e o índice SPAD. Da mesma forma, no segundo experimento, as demais variáveis, como massa seca da parte aérea, raiz, nódulos, número de nódulos e altura, foram avaliadas no estágio R1.

Os erros dos dados passaram pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk, com o objetivo de avaliar a sua variância e normalidade. Os dados de ambos os experimentos foram comparados pelo teste de agrupamento de Scott Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o software SISVAR (Ferreira, 1999), e também comparados com a isolinha parental não-RR pelo teste de Dunnet a 5% probabilidade pelo PROC GLM (SAS, 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro experimento no estágio R1 (46 DAS), não houve diferença no índice SPAD, porém a taxa fotossintética (A) foi diminuída com a aplicação de glyphosate no cultivar BRS 242 RR (Tabela 2), quando comparado com o mesmo cultivar sem herbicida ou com sua

Tabela 2 - Taxa fotossintética (A), SPAD, biomassa seca da parte aérea, da raiz e de nódulos e número de nódulos por planta avaliados no estágio R1 (experimento 1)

Tratamento	A	SPAD	Parte aérea	Raiz	Nódulos	Nódulos
	($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	(unidade)	(g por planta)	(g por planta)	(unidade por planta)	(unidade por planta)
BRS 242 GR	16,49 a	35,7 a	12,62 a	7,24 a	1,72 a	239,87 a
BRS 242 GR +glyphosate	14,42 b	31,5 a	9,62 b	5,08 b	1,13 b	148,33 b
Isolinha parental (Embrapa 48)	20,97 a	37,3 a	13,54 a	4,48 b	0,92 b	156,92 b
CV(%)	24,26	23,68	20,49	24,91	21,69	28,80

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não apresentam diferenças estatísticas significativas pelo teste LSD a 5% de probabilidade.

isolinha parental não-RR (Embrapa 58). Isso indica que, mesmo na ausência de sintomas perceptíveis de clorose após a aplicação desse herbicida na soja RR, ainda assim é possível que haja efeitos de fitointoxicação capazes de afetar, mesmo que de forma transitória, a intensidade de fixação de carbono pelas plantas. Estudos anteriores demonstraram que a taxa fotossintética (A) e o índice SPAD foram severamente reduzidos pelo glyphosate em todos os grupos de maturação de cultivares de soja RR avaliados em diferentes solos, porém não houve diferença entre os tratamentos sem glyphosate na soja RR e suas respectivas isolinhas parentais (Zobiolo et al., 2010a).

No presente trabalho, plantas tratadas com glyphosate exibiram sintomas leves de clorose, os quais devem estar relacionados com a diminuição da taxa fotossintética, devido ao dano do glyphosate à clorofila (Kitchen et al., 1981a; Lee, 1981; Reddy et al., 2004) ou à imobilização de Mg e Mn requeridos para a formação de clorofila e para a fotossíntese, respectivamente (Beale, 1978; Taiz & Zeiger, 1998). O principal metabólito do glyphosate em plantas é o ácido aminometilfosfônico (AMPA), o qual pode também estar associado às injúrias na soja RR tratada com glyphosate (Pline et al., 1999; Reddy et al., 2001; Duke et al., 2003; Reddy et al., 2004).

Ainda no primeiro experimento, o número de nódulos e a biomassa seca da parte aérea, da raiz e dos nódulos também foram severamente reduzidos pelo glyphosate (Tabela 2). A diminuição da nodulação causada pelo glyphosate pode ocorrer devido ao fato de que o microrganismo fixador de nitrogênio, *Bradyrhizobium japonicum*, possui a enzima EPSPs sensível ao glyphosate, podendo ocorrer,

dessa forma, o acúmulo dos ácidos chiquímico, hidroxibenzoico e protocatecúico e, consequentemente, a inibição da síntese de aminoácidos aromáticos, induzindo assim a morte do simbionte (Moorman et al., 1992; Bellalloui et al., 2006; De Maria et al., 2006).

A biomassa seca de nódulos é um dos principais parâmetros para quantificar a eficiência de fixação biológica de nitrogênio em soja, e um coeficiente de variação (CV) aceitável deve ser < 33% (Souza et al., 2008a,b). No presente estudo, o CV para biomassa seca de nódulos foi de 21,69%. Para o número de nódulos, o CV de 28,80% é classificado como médio, uma vez que essa variável é considerada de alta variação (Souza et al., 2008a); portanto, os CVs para os parâmetros de nodulação estão dentro de uma faixa aceitável, o que induz a considerar que o glyphosate interferiu efetivamente na nodulação da soja BRS 242 RR. Esses resultados estão de acordo com os de outros autores, os quais também observaram redução na nodulação pelo uso do glyphosate (King et al., 2001; Reddy & Zablutowicz, 2003; Oliveira et al., 2008; Zobiolo et al., 2010b). No entanto, a isolinha parental apresentou menor biomassa de raiz e de nódulos em relação à soja RR sem aplicação do glyphosate, provavelmente pela característica do cultivar em apresentar menor sistema radicular, contribuindo para o menor suprimento de nutrientes para os nódulos, o que se reflete no menor acúmulo de massa.

Embora os efeitos do glyphosate sobre a soja RR sejam dependentes de fatores como variedade, grupo de maturação, época de aplicação e dose, trabalhos anteriores desenvolvidos por nosso grupo de trabalho já demonstraram o efeito deletério desse herbicida sobre a



nodulação de um grande número de variedades de soja RR cultivadas no Brasil (Oliveira Jr. et al., 2008).

O efeito mais pronunciado do glyphosate ocorreu na parte aérea, possivelmente em razão do limitado período de tempo que essa cultivar dispõe para recuperar-se, uma vez que pertence ao grupo de maturação precoce. Efeitos negativos no acúmulo de biomassa ocorrem provavelmente devido aos efeitos aditivos da diminuição da taxa fotossintética (Tabela 2) e da redução na concentração dos nutrientes na parte aérea (Zobiole et al., 2010a). Da mesma forma, diversos autores, utilizando diferentes doses de glyphosate – 1.680 g a.e. ha⁻¹ em Reddy et al. (2000) e 6.300 g a.e. ha⁻¹ em King et al. (2001) –, encontraram reduções na biomassa da parte aérea e de raízes de soja RR. Esses resultados também encontram respaldo nos trabalhos desenvolvidos por Bott et al. (2008), os quais observaram que a aplicação do glyphosate na soja RR reduziu significativamente a biomassa e a alongação da raiz.

No segundo experimento, a avaliação da taxa fotossintética (A) e do índice SPAD, realizada imediatamente antes da aplicação do glyphosate (soja no estágio V4), sugere que a simples aplicação da fonte exógena de aminoácidos via tratamento de sementes não interferiu de forma significativa nesses parâmetros (Tabela 3). Demonstrou-se ainda que não havia diferenças prévias entre os valores observados nas plantas que seriam submetidas às doses de glyphosate e a isolinha parental (Embrapa 48). Imediatamente após a aplicação (soja no estágio V7) da dose de 2.400 g e.a. ha⁻¹, tanto A quanto SPAD foram reduzidos (em relação à dose zero de glyphosate) com ou sem a adição de aminoácidos, mostrando também valores inferiores aos da isolinha parental quando comparados pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade (Tabela 4). Utilizando a dose recomendada (1.200 g a.e. ha⁻¹), a taxa fotossintética foi reduzida apenas na ausência de fonte exógena de aminoácidos ou quando estes foram supridos apenas via tratamento de sementes. O fornecimento de aminoácidos em associação com a aplicação do glyphosate reduziu os efeitos negativos do herbicida sobre a taxa fotossintética da cultura. Em razão do período de tempo entre o tratamento de sementes e a aplicação do glyphosate em

pós-emergência, é possível que o potencial de mitigação da solução de aminoácidos fornecida às plantas de soja tenha sido minimizado. Já para a avaliação do teor de clorofila (SPAD), somente o tratamento TRATSEM+FOL foi suficientemente efetivo para evitar os sintomas indesejáveis.

Plantas de soja RR que não receberam a aplicação de glyphosate apresentaram A de 11,02 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Tabela 4). Procópio et al. (2004) encontraram valores similares para A (11 – 12 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) aos 39 DAS em *Glycine max* e *Phaseolus vulgaris*, sendo considerado um valor ótimo para essa fase vegetativa (Liu et al., 2005). Tratamentos sem glyphosate e com a adição de aminoácidos nas diversas modalidades não apresentaram aumento nos valores dos parâmetros fotossintéticos avaliados, provavelmente por não ter ocorrido o bloqueio da rota do ácido chiquímico, impedindo a conversão de fotoassimilados. Além disso, a adição de carbono (aminoácido) no sistema-planta não leva a aumento de fotossíntese e biomassa, pelo fato de aproximadamente 20% do carbono fixado pelas plantas superiores ser sintetizado em aminoácidos aromáticos, vitaminas, lignina, alcaloides e compostos fenólicos (Kishore & Shah, 1988). De acordo com o conceito do nível de suficiência, existem níveis definidos, por exemplo, para os nutrientes individuais no solo. Segundo esse conceito, abaixo desse nível as culturas responderão aos fertilizantes adicionados, e acima, a cultura provavelmente não responderá (Eckert, 1987). É possível que um conceito semelhante seja válido para a aplicação exógena de aminoácidos.

Os mesmos resultados observados para os tratamentos sem glyphosate e com adição de aminoácidos foram também obtidos na avaliação realizada no estágio R1, não se observando aumento da fotossíntese com a utilização dos tratamentos com aminoácidos (Tabela 5). Comparando as diversas modalidades de aplicação de aminoácido na dose de 1.200 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, não houve diferença significativa entre elas em relação a A, porém qualquer forma de fornecimento de aminoácidos preveniu o decréscimo da taxa fotossintética em relação às plantas que não receberam aminoácidos. No entanto, a utilização de TRATSEM + FOL preveniu a

diminuição da A na maior dose de glyphosate; para o índice SPAD, apenas FOL não mostrou redução no teor de clorofila causada pelo glyphosate.

Biomassas secas da parte aérea e de raízes foram afetadas pela aplicação de glyphosate na ausência de suprimento com aminoácidos, porém não houve diferenças significativas nos efeitos entre as doses de herbicida (Tabela 6). Como esperado, a aplicação de aminoácidos no tratamento sem glyphosate não reverteu em benefícios; contudo, o seu uso nas plantas que receberam a aplicação do glyphosate serviu para prevenir reduções no acúmulo de biomassa das plantas de soja. Comparando-se as modalidades de utilização de aminoácidos para as diferentes doses, a aplicação de TRATSEM foi inferior à de TRATSEM + FOL e FOL na produção de biomassa seca da parte aérea em ambas as doses (Tabela 6). Em relação à produção de biomassa seca de raiz, a modalidade de fornecimento exógeno de aminoácidos que apresentou o melhor efeito foi TRATSEM +

FOL, porém, comparando a biomassa seca total, não houve diferença entre TRATSEM + FOL e FOL; em ambas as modalidades a produção de biomassa e a altura de plantas foram preservadas (Tabelas 6 e 7). Uma das hipóteses para as reduções ocorridas no acúmulo de biomassa seca da parte aérea e da raiz em soja RR na presença do glyphosate, como discutido anteriormente, é o processo de degradação desse herbicida dentro da planta, que resulta na formação do AMPA, conhecida fitotoxina (Duke et al., 2003; Reddy et al., 2004).

No tocante à nodulação, a biomassa seca de nódulos e o número de nódulos foram afetados pelo glyphosate (Tabela 7). O uso de aminoácidos nas modalidades TRATSEM + FOL e FOL levou a uma menor redução de biomassa e número de nódulos, porém, comparando-se entre essas duas modalidades e nas diferentes doses de glyphosate, o melhor tratamento foi TRATSEM + FOL, com conseqüente menor redução de biomassa seca de nódulos. Esses dados estão de acordo com os observados

Tabela 3 - Taxa fotossintética e SPAD no estádio V4, antes da aplicação dos tratamentos com glyphosate e aminoácidos nas plantas de soja RR (experimento 2)

Glyphosate (g a.e. ha ⁻¹)	Taxa fotossintética (A) (mol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)				SPAD (unidade)			
	SEM AA	TRAT SEM	TRATSEM + FOL	FOL	SEM AA	TRAT SEM	TRATSEM + FOL	FOL
0	10,62 Aa	8,16 Aa	9,24 Aa	9,97 Aa	23,57 Aa	22,71 Aa	24,28 Aa	23,71 Aa
1.200	9,80 Aa	9,09 Aa	9,85 Aa	10,48 Aa	22,97 Aa	24,40 Aa	25,41 Aa	22,62 Aa
2.400	9,29 Aa	9,10 Aa	9,77 Aa	9,95 Aa	23,38 Aa	25,31 Aa	24,23 Aa	23,22 Aa
Isolinha parental (Embrapa 48)	9,43				24,31			
CV(%)	10,74				7,71			

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não apresentam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 4 - Taxa fotossintética e SPAD no estádio V7, após aplicação dos tratamentos com glyphosate e aminoácidos nas plantas de soja (experimento 2)

Glyphosate (g a.e. ha ⁻¹)	Taxa fotossintética (A) (mol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)				SPAD (unidade)			
	SEM AA	TRAT SEM	TRATSEM + FOL	FOL	SEM AA	TRAT SEM	TRATSEM + FOL	FOL
0	11,02 Aa	11,01 Aa	12,50 Aa	12,23 Aa	27,03 Aa	^(c) 27,87 Aa	29,35 Aa	29,58 Aa
1.200	^(c) 5,53 Ba	^(c) 7,21 Ba	9,97 Aa	9,72 Aa	^(c) 22,67 Aa	^(c) 20,70 Ba	^(c) 22,02 Aa	^(c) 19,43 Ba
2.400	^(c) 3,69 Ba	^(c) 3,58 Ba	^(c) 4,50 Ba	^(c) 3,54 Ba	^(c) 14,98 Ba	^(c) 14,41 Ba	^(c) 16,02 Ba	^(c) 16,72 Ba
Isolinha parental (Embrapa 48)	12,10				30,57			
CV(%)	7,87				27,28			

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não apresentam diferenças significativas pelo teste de Scott-Knott a p ≤ 0,05. (+, ou -) são comparações pelo teste de Dunnet a p ≤ 0,05 com a isolinha parental.



para acúmulo de biomassa das raízes, em que o tratamento TRATSEM + FOL foi aquele com maior produção de biomassa seca de raiz (Tabela 6). A prevenção da inibição do crescimento de *B. japonicum* tem sido descrita por outros autores, por meio do uso de aminoácidos aromáticos em meios de cultura (Jaworski, 1972; Santos et al., 2005). Supõe-se, portanto, que a fonte exógena aminoácido, cuja composição inclui aminoácidos aromáticos, tenha sido eficaz no suprimento desses aminoácidos eventualmente depletados para os microrganismos simbiotes na soja BRS 242 RR na presença do glyphosate.

Kremer & Means (2009) também observaram que o glyphosate em soja RR provoca desbalanço de ácido indol acético (AIA), o que leva à menor nodulação de raiz pelo *B. japonicum*. Como o produto comercial possui em sua composição o aminoácido triptofano,

que é um precursor do hormônio AIA (Taiz & Zeiger, 1998), provavelmente este seja um dos responsáveis pelos efeitos positivos do suprimento exógeno de aminoácidos observados neste experimento. Além disso, a entrada de carbono no sistema-planta, por meio da aplicação de aminoácidos oriundos da fonte exógena, provavelmente repercutiu na prevenção dos efeitos causados pelo glyphosate, com consequente aumento de A (Tabela 5) e da conversão de fotoassimilados (Tabelas 6 e 7).

Há evidências de que o fornecimento, principalmente, de fontes de nitrogênio junto com a aplicação de glyphosate aumentam a injúria das plantas ao herbicida. Reddy & Zablutowicz (2003), por exemplo, avaliaram diferentes sais de glyphosate, como disopropylamine, trimethylsulfonium (Tms) e diammonium aminomethanamide dihydrogen tetraoxosulfate (Adt), e concluíram que o

Tabela 5 - Taxa fotossintética e SPAD no estágio R1, após aplicação dos tratamentos com glyphosate e aminoácidos nas plantas de soja (experimento 2)

Glyphosate (g a.e. ha ⁻¹)	Taxa fotossintética (A) (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)				SPAD (unidade)			
	SEM AA	TRAT SEM	TRATSEM + FOL	FOL	SEM AA	TRAT SEM	TRATSEM + FOL	FOL
0	9,52 Aa	11,58 Aa	10,36 Aa	10,76 Aa	28,02 Aa	^(c) 24,76 Aa	27,70 Aa	27,26 Aa
1.200	8,29 Ab	10,13 Aa	9,83 Aa	9,42 Aa	^(c) 23,10 Aa	^(c) 25,21 Aa	^(c) 22,60 Ba	^(c) 23,05 Aa
2.400	^(c) 5,57 Bb	^(c) 6,09 Bb	9,69 Aa	^(c) 7,76 Ba	^(c) 16,38 Ba	^(c) 17,00 Ba	^(c) 19,93 Ba	^(c) 21,00 Aa
Isolinha parental (Embrapa 48)	11,48				27,95			
CV(%)	27,66				18,68			

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não apresentam diferenças significativas pelo teste de Scott-Knott a p ≤ 0,05. (+, ou -) são comparações pelo teste de Dunnet a p ≤ 0,05 com a isolinha parental.

Tabela 6 - Biomassa seca da parte aérea, raiz e total no estágio R1, após aplicação dos tratamentos com glyphosate e aminoácidos nas plantas de soja (experimento 2)

Glyphosate (g a.e. ha ⁻¹)	Parte aérea (g)				Raiz (g)				Total (g)			
	SEM AA	TRAT SEM	TRATSEM + FOL	FOL	SEM AA	TRAT SEM	TRATSEM + FOL	FOL	SEM AA	TRAT SEM	TRATSEM + FOL	FOL
0	12,27 Aa	11,60 Aa	11,85 Aa	12,10 Aa	3,88 Aa	4,61 Aa	3,38 Aa	4,42 Aa	16,16 Aa	16,22 Aa	15,23 Aa	16,52 Aa
1.200	^(c) 8,12 Bb	^(c) 9,16 Ab	11,92 Aa	10,70 Aa	2,59 Bb	3,34 Ba	3,76 Aa	2,96 Bb	^(c) 10,72 Bb	^(c) 12,50 Bb	15,68 Aa	13,66 Aa
2.400	^(c) 8,50 Bb	^(c) 9,84 Ab	11,90 Aa	11,47 Aa	^(c) 2,30 Bb	3,03 Ba	3,28 Aa	3,02 Ba	^(c) 10,80 Bb	^(c) 12,87 Bb	15,18 Aa	14,49 Aa
Isolinha parental (Embrapa 48)	11,80				3,50				15,31			
CV(%)	18,69				24,74				17,65			

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não apresentam diferenças significativas pelo teste de Scott-Knott a p ≤ 0,05. (+, ou -) são comparações pelo teste de Dunnet a p ≤ 0,05 com a isolinha parental.

Tabela 7 - Altura, massa seca de nódulos e número de nódulos no estágio R1, após aplicação dos tratamentos com glyphosate e aminoácidos nas plantas de soja (experimento 2)

Glyphosate (g a.e. ha ⁻¹)	Altura (cm)				Massa seca de nódulos (mg por planta)				Número de nódulos (unidade por planta)			
	SEM AA	TRAT SEM	TRATSEM +FOL	FOL	SEM AA	TRAT SEM	TRATSEM +FOL	FOL	SEM AA	TRAT SEM	TRATSEM +FOL	FOL
0	16,16 Aa	16,22 Aa	15,23 Aa	16,52 Aa	572,00 Aa	395,00 Aa	387,50 Aa	452,50 Aa	115,00 Aa	85,50 Aa	98,50 Aa	93,75 Aa
1.200	⁽⁻⁾ 10,72 Bb	⁽⁻⁾ 12,50 Bb	15,68 Aa	13,66 Aa	257,00 Bb	232,50 Bb	432,50 Aa	265,00 Ab	61,50 Ba	61,50 Aa	85,50 Aa	61,75 Aa
2.400	⁽⁻⁾ 10,80 Bb	⁽⁻⁾ 12,87 Bb	15,18 Aa	14,49 Aa	⁽⁻⁾ 180,00 Bb	257,50 Bb	392,50 Aa	292,50 Ab	⁽⁻⁾ 38,00 Bb	60,75 Ab	74,75 Aa	70,50 Aa
Isolinha parental (Embrapa 48)	15,31				390,00				91,25			
CV(%)	17,65				17,65				17,65			

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não apresentam diferenças significativas pelo teste de Scott-Knott a p ≤ 0,05. (+, ou -) são comparações pelo teste de Dunnett a p ≤ 0,05 com a isolinha parental.

glyphosate-Adt causou maior injúria na soja RR, apresentando necrose com poucas horas após aplicação, além de redução do número de nódulos, leghemoglobina, peso fresco e clorofila. Bernardas et al. (2005) e Mueller et al. (2006) também observaram que a adição de sulfato de amônio aumentou a porcentagem de absorção e translocação de glyphosate, com consequente aumento de efeito no controle de plantas daninhas. Em relação ao efeito da aplicação de potássio junto com glyphosate, não há até o momento evidências de que possa haver antagonismo ou sinergismo da ação do herbicida. Portanto, provavelmente a reversão dos sintomas de intoxicação na soja RR decorre do suprimento exógeno de aminoácidos, e não do suprimento extra de N e P.

Em resumo, o glyphosate diminuiu a fotosíntese e conversão de fotoassimilados nas plantas RR, porém o uso de aminoácidos pode ser uma estratégia para prevenir os efeitos indesejáveis desse herbicida na cultura da soja RR.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudos e pelo apoio financeiro. As marcas comerciais no texto são apenas informativas e não representam nenhuma recomendação oficial do USDA-ARS.

LITERATURA CITADA

BEALE, S. I. δ-Aminolevulinic acid in plants: its biosynthesis, regulation and role in plastid development. **An. Rev. Plant Physiol.**, v. 29, n. 1, p. 95-120, 1978.

BELLALLOUI, N. et al. Simulated glyphosate drift influences nitrate assimilation and nitrogen fixation in non-glyphosate-resistant soybean. **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, n. 20, p. 3357-3364, 2006.

BERNARDS, M. L. et al. Glyphosate interaction with manganese in tank mixtures and its effects on glyphosate absorption and translocation. **Weed Sci.**, v. 53, p. 787-794, 2005.

BOTT, S. et al. Glyphosate-induced impairment of plant growth and micronutrient status in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* L.). **Plant Soil**, v. 312, n. 1, 2, p. 185-194, 2008.

CAKMAK, I. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium and iron in non-glyphosate resistant soybean. **Europ. J. Agron.**, v. 31, n. 1, p. 114-119, 2009.

CHEN, S. K.; SUBLER, S.; EDWARDS, C. A. Effects of agricultural biostimulants on soil microbial activity and nitrogen dynamics. **Appl. Soil Ecol.**, v. 19, p. 249-259, 2002.

DE MARIA, N. et al. New insights on glyphosate mode of action in nodulant metabolism: role of shikimate accumulation. **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, n. 7, p. 2621-2628, 2006.

DUKE, S. O. et al. Isoflavone, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid levels in seeds of glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, n. 1, p. 340-344, 2003.

ECKERT, D. J. Soil test interpretations: Basic cation saturation ratios and sufficiency levels. In: BROWN, J. R. **Soil testing: Sampling, correlation, calibration, and interpretation**. Madison: SSSA, 1987. p. 53-64. (SSSA Spec. Publ., 21)

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos **Manual de métodos de análises do solo**. 2.ed. Rio de Janeiro: 1997. 212 p.



- FERREIRA, D. F. Sistema de análise de variância (Sisvar). versão 4.6. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1999. CD ROM.
- FORLANI, G. Mode of action of herbicidal derivatives of aminomethylenebisphosphonic acid. Part II. Reversal of herbicidal action by aromatic amino acids. **J. Plant Growth Reg.**, v. 16, n. 1, p. 147-152, 1997.
- GRESSHOFF, P. M. Growth inhibition by glyphosate and reversal of its action by phenylalanine and tyrosine. **Austr. J. Plant Physiol.**, v. 6, p. 177-85, 1979.
- HADERLIE, L. C.; WIDHOLM, J. M.; SLIFE, F. W. Effect of glyphosate on carrot and tobacco cells. **Plant Physiol.**, v. 60, n. 1, p. 40-43, 1977.
- HUBER, D. M. Strategies to ameliorate glyphosate immobilization of manganese and its impact on the rhizosphere and disease. In: LORENZ, N.; DICK, R. **Proceedings of the Glyphosate Potassium Symposium 2006**. DeWitt: Ohio State University, AG Spectrum, 2006.
- JAWORSKI, E. G. Mode of action of N-phosphonomethylglycine: inhibition of aromatic amino acid biosynthesis. **J. Agri. Food Chem.**, v. 20, n. 6, p. 1195-1198, 1972.
- JOHAL, G. S.; HUBER, D. M. Glyphosate effects on disease and disease resistance in plants. **Europ. J. Agron.**, v. 31, p. 144-152, 2009.
- KABACHNIK, M. I. et al. Organophosphorus complexones. **Russian Chem. Rev.**, v. 43, p. 733-744, 1974.
- KING, A. C.; PURCELL, L. C.; VORIES, E. D. Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate-tolerant soybean in response to glyphosate applications. **Agron. J.**, v. 93, n. 1, p. 179-186, 2001.
- KISHORE, G. M.; SHAH, D. M. Amino acid biosynthesis inhibitors as herbicides. **Ann. Rev. Biochem.**, v. 57, p. 627-663, 1988.
- KREMER, R. J.; MEANS, N. E. Glyphosate and glyphosate-resistant crop interactions with rhizosphere microorganisms. **Europ. J. Agron.**, v. 31, n. 1, p. 153-161, 2009.
- LEE, T. T. Effects of glyphosate on synthesis and degradation of chlorophyll in soybean and tobacco cells. **Weed Res.**, v. 21, n. 1, p. 161-164, 1981.
- LIU, F. et al. Stomatal control and water use efficiency of soybean (*Glycine max* L. Merr.) during progressive soil drying. **Environ. Exper. Bot.**, v. 54, n. 1, p. 33-40, 2005.
- MOORMAN, T. B. et al. Production of hydroxybenzoic acids by *Bradyrhizobium japonicum* strains after treatment with glyphosate. **J. Agric. Food. Chem.**, v. 40, n. 1, p. 289-293, 1992.
- MUELLER, T. C. et al. Comparison of glyphosate salts (isopropylamine, diammonium and potassium) calcium magnesium concentrations on the control various weeds. **Weed Technol.**, v. 20, n. 1, p. 164-171, 2006.
- OLIVEIRA JR., R. S. et al. Influência do glyphosate sobre a nodulação e o crescimento de vinte cultivares de soja RR. **Planta Daninha**, v. 26, n. 4, p. 831-843, 2008.
- PLINE, W. A.; WU, J.; HATZIOS, K. K. Effects of temperature and chemical additives on the response of transgenic herbicide-resistant soybeans to glufosinate and glyphosate applications. **Pestic. Biochem. Physiol.**, v. 65, n. 1, p. 119-131, 1999.
- PROCÓPIO, S. O. et al. Características fisiológicas das culturas de soja e feijão e de três espécies de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 211-216, 2004.
- RAY, T. B. Inhibition of valine and isoleucine biosynthesis in plants. **Plant Physiol.**, v. 75, p. 827-831, 1984.
- REDDY, K. N.; HOAGLAND, R. E.; ZABLOTOWICZ, R. M. Effect of glyphosate on growth, chlorophyll content and nodulation in glyphosate-resistant soybeans (*Glycine max*) varieties. **J. New Seeds.**, v. 2, n. 1, p. 37-52, 2000.
- REDDY, K. N.; ZABLOTOWICZ, R. M. Glyphosate-resistant soybean response to various salts of glyphosate and glyphosate accumulation in soybean nodules. **Weed Sci.**, v. 51, p. 496-502, 2003.
- REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, n. 16, p. 5139-5143, 2004.
- ROISCH, H. U.; LINGENS, F. **Angewadte chemie**. International Edition 13:400 p. 1974.
- SANTOS, J. B. et al. Tolerance of *Bradyrhizobium strains* to glyphosate formulations. **Crop Protec.**, v. 24, p. 543-547, 2005.
- SANTOS, J. B. et al. Efeito de formulações na absorção e translocação do glyphosate em soja transgênica. **Planta Daninha**, v. 25, n. 2, p. 381-388, 2007.
- SAS Institute. SAS/STAT User Guide. Version 8.2. Cary: 2001.



SHANER, D. L. et al. Physiological responses of corn to Arsenal. **Proc. South Weed Sci.**, v. 37, p. 364, 1984.

SOUZA, R. A. et al. Avaliação qualitativa e quantitativa da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 43, n. 1, p. 71-82, 2008a.

SOUZA, R. A. Conjunto mínimo de parâmetros para avaliação da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 43, n. 1, p. 83-91. 2008b.

SUBLER, S.; DOMINGUEZ, J.; EDWARDS, C.A. Assessing biological activity of agricultural biostimulants: bioassays for plant growth regulators in three soil additives. **Comm. Soil Sci. Plant Anal.**, v. 29, p. 859-866, 1998.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**, Sunderland: Sinauer Associates, 1998. 719 p.

ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K. N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean. **J. Environ. Qual.**, v. 33, n. 3, p. 825-831, 2004.

ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K. N. Nitrogenase activity, nitrogen content, and yield responses to glyphosate in glyphosate-resistant soybean. **Crop Protec.**, v. 26, p. 370-376, 2007.

ZOBIOLE, L. H. S. et al. Glyphosate reduces shoot concentration of mineral nutrients in glyphosate-resistant soybeans. **Plant Soil**, v. 328, n. 1, p. 57-69, 2010a

ZOBIOLE, L. H. S. et al. Effect of glyphosate on symbiotic N₂ fixation and nickel concentration in glyphosate-resistant soybeans. **Applied Soil Ecol.**, v. 44, p. 176-180, 2010b.

