



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**ESCOLA DE ENGENHARIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA NUCLEAR**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E TÉCNICAS NUCLEARES**

**WELLINGTON FERRARI DA SILVA**

**Estudo do metabolismo de zinco em plantas de milho transgênico submetidas ao  
herbicida glifosato utilizando técnicas analíticas nucleares**

**BELO HORIZONTE**

**WELLINGTON FERRARI DA SILVA**

**ESTUDO DO METABOLISMO DE ZINCO EM PLANTAS DE MILHO  
TRANSGÊNICO SUBMETIDAS AO HERBICIDA GLIFOSATO UTILIZANDO  
TÉCNICAS ANALÍTICAS NUCLEARES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências e Técnicas Nucleares como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências e Técnicas Nucleares.

Área de Concentração: Ciências das Radiações

Orientadora: Dra. Maria Ângela de Barros Correia Menezes

Coorientador: Dr. Douglas José Marques

BELO HORIZONTE

2019

S586e

Silva, Wellington Ferrari da.

Estudo do metabolismo de zinco em plantas de milho transgênico submetidas ao herbicida glifosato utilizando técnicas analíticas nucleares [manuscrito] / Wellington Ferrari da Silva. – 2019.

131 f., enc.: il.

Orientadora: Maria Ângela de Barros Correia Menezes.

Coorientador: Douglas José Marques.

Tese (doutorado) Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia.

Anexos: f.127-131.

Bibliografia: f.108-126.

1. Engenharia nuclear – Teses. 2. Milho - Teses. 3. Zinco – Teses. 4. Análise por ativação nuclear – Teses. I. Menezes, Maria Ângela de Barros Correia. II. Marques, Douglas José. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia. IV. Título.

CDU: 621.039(043)



## FOLHA DE APROVAÇÃO


**Estudo do metabolismo de zinco em plantas de milho transgênico submetidas ao herbicida glifosato utilizando técnicas analíticas nucleares**

### WELLINGTON FERRARI DA SILVA

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS E TÉCNICAS NUCLEARES, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIAS E TÉCNICAS NUCLEARES, área de concentração CIÊNCIAS DAS RADIAÇÕES.

Aprovada em 28 de fevereiro de 2019, pela banca constituída pelos membros:

  
Dra. Maria Ângela de Barros Correia Menezes - Orientadora  
PCTN - CD/CTNEN

  
Dr. Douglas José Marques - Coorientador  
UNIFENAS

  
Prof. Clarysson Alberto Mello da Silva  
Departamento de Engenharia Nuclear - UFMG

  
Dra. Paula Maria Borges de Salles  
FACSETE

  
Dr. Maurilio Fernandes de Oliveira  
EMBRAPA

  
Dr. Renáto Pereira de Andrade  
IFSMG/ JF

Belo Horizonte, 28 de fevereiro de 2019.

## **OFEREÇO**

Ao meu grande pai Evani da Silva (*in memoriam*)  
Que foi o esteio da minha vida, que sempre me ajudou  
e incentivou a concluir meus estudos.

## **DEDICATÓRIA**

A minha mãe Maria Lucia que norteia  
minhas buscas e me faz enfrentar os  
desafios querendo ultrapassar os limites  
tornando possíveis minhas realizações  
pessoais e profissionais.

## AGRADECIMENTOS

“A *DEUS*, minha eterna luz, sem ele nada seria. Por sempre iluminar e guiar os meus passos.”

Às instituições de apoio técnico, científico e financeiro:

- Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG
- Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear – CDTN/CNEN
- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES

Aos professores, pesquisadores e colaboradores de pesquisa:

- Profa. Dra. Maria Ângela de Barros Correia Menezes, agradeço pela orientação, que acreditou em meu projeto, a confiança depositada, o sempre pronto atendimento, estímulo otimista e especialmente a amizade, paciência e principalmente por ter acreditado em meus ideais.

- Prof. Dr. Douglas José Marques pela coorientação, agradeço pelos caminhos e oportunidades que me foram oferecidos, especialmente pela amizade, pronto atendimento e paciência principalmente por ter acreditado em meus ideais.

- Dra. Helena Eugênia Leonhardt Palmieri pela colaboração e apoio.
- Dra. Lúcia Maria Laboissière de Alencar Auler pela colaboração e apoio.
- Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências e Técnicas Nucleares pelo aprendizado.
- Aos membros da banca examinadora, pelo apoio, sugestões e críticas.

Aos funcionários e servidores do CDTN/CNEN:

- Heloisa, Vagner, Dovenir, Roseli, Emílio e José Augusto pela disponibilidade, atenção e ajuda.
- Olívia, Flávio, Geraldo, Ângela, pela amizade, atenção, carinho e disposição em ajudar.

Aos funcionários do PCTN/UFMG pela atenção, paciência e desempenho na realização das tarefas burocráticas.

Aos colegas do PCTN/UFMG e CDTN:

- Rodrigo Reis e Paula Salles, agradeço pelo apoio, amizade, pela troca de conhecimentos e contribuições científicas.

- Marcia Maia, Ana Clara Pelaes e Claudia Ferreira, agradeço pela amizade e auxílio na realização dos cálculos elementares.

Ao meu amigo e parceiro Thiago Leandro, pela amizade, apoio e incentivo.

À família, por ser o alicerce do amor de Deus na terra:

- Evani da Silva (*in memoriam*) e Maria Lucia Ferrari (meus pais), pela graça da vida e que me ensinaram a arte de resistir, persistir e superar as barreiras existentes nesta caminhada.

- À minha esposa Fabiana pela harmonia, companheirismo, carinho e paciência. Por acreditar nos meus sonhos e por estar sempre ao meu lado.

- A meu filho Arthur que foi concedido pela graça de Deus no período de realização dos meus estudos.

- Aos meus irmãos Cláudio e Claudinele, companheiros de todas horas, sempre presentes.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste projeto, o meu muito obrigado!

*“A radiação não deve ser temida, mas sim, respeitada!”*

*(E. Malavolta)*



## RESUMO

A cultura do milho tem passado por grandes avanços tecnológicos nos últimos anos, principalmente depois que surgiram no mercado, cultivares tolerantes ao herbicida glifosato. A aplicação deste herbicida visa eliminar as plantas daninhas presentes nas lavouras, mas seus efeitos sobre a cultura podem influenciar no crescimento e na nutrição mineral das plantas. Esta pesquisa teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação do glifosato sob o aspecto agrônomico e a interferência na absorção e translocação do zinco no milho tolerante ao produto. Foram realizados três experimentos: Experimento 1, ensaio em solução nutritiva, conduzido em esquema fatorial (3 x 2), com três repetições, com duas plantas por tratamento. Os tratamentos consistiram de 3 doses do herbicida glifosato (0 g L<sup>-1</sup>, 370 g L<sup>-1</sup>, 1480 g L<sup>-1</sup>) e 2 doses de zinco (0 g L<sup>-1</sup> e 0,22 g L<sup>-1</sup> de ZnSO<sub>4</sub>). O experimento 2, ensaio em solo foi conduzido em esquema fatorial (3 x 3), com duas repetições, com duas plantas por tratamento. Os tratamentos consistiram da mesma dosagem do herbicida glifosato do experimento anterior e com 3 doses de zinco (0 mg kg<sup>-1</sup>, 5 mg kg<sup>-1</sup> e 10 mg kg<sup>-1</sup> de ZnSO<sub>4</sub>). O experimento 3, ensaio em solução nutritiva com traçador radioativo <sup>65</sup>Zn foi realizado em esquema fatorial (3 x 1), com uma repetição, com três plantas por tratamento. Os tratamentos consistiram novamente das mesmas doses do herbicida glifosato e uma dose de zinco radioativo, <sup>65</sup>Zn, (0,22 g L<sup>-1</sup>). As plantas foram colhidas e separadas em raiz, caule, folhas centrais, medianas e baixas. A técnica analítica utilizada para quantificar o zinco nos experimentos 1 e 2 foi a análise por ativação neutrônica, método *k<sub>0</sub>* padronizado, irradiando as amostras no reator nuclear de pesquisa TRIGA MARK I IPR-R1 do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear/Comissão Nacional de Energia Nuclear (CDTN/CNEN). A atividade total do <sup>65</sup>Zn, foi determinada por espectrometria gama.

Os resultados desta pesquisa sugerem que a aplicação de dosagem maior que a recomendada do herbicida glifosato interferiu praticamente em todos os parâmetros avaliados. Para a dose recomendada do herbicida, no ensaio em solução nutritiva, verificou-se que o glifosato afetou negativamente a translocação do zinco e a matéria seca do caule e da parte aérea. No ensaio em solo, a dose recomendada do glifosato não alterou o crescimento nem a absorção e a translocação do zinco também não foram afetadas por essa dose do herbicida glifosato.

**Palavras-chave:** Glifosato, Milho, Zinco, Análise por Ativação Neutrônica, Método *k<sub>0</sub>*.

## ABSTRACT

Maize cultivation has undergone major technological advances in recent years, especially since glyphosate-tolerant cultivars have emerged on the market. The use of this herbicide aims at eliminating the weeds present in the crops, but this product may influence the growth and mineral nutrition of the plants. The objective of this research was to evaluate the effect of the application of glyphosate under agronomic point of view and the effect in the absorption and translocation of zinc in the product tolerant corn. Three experiments were carried out: Experiment 1, cultivation in hydroponics, conducted in a factorial scheme (3 x 2), with three replications, with two plants per treatment. Treatments consisted of 3 doses of the herbicide glyphosate (control, recommended dose, 4 times the recommended dose). Experiment 2, soil cultivation, was conducted in a factorial scheme (3 x 3), with two replications, with two plants per treatment. The treatments consisted of the same dosage of glyphosate herbicide from the previous experiment and with 3 doses of zinc (0 mg kg<sup>-1</sup>, 5 mg kg<sup>-1</sup> and 10 mg kg<sup>-1</sup> ZnSO<sub>4</sub>). Experiment 3, cultivation in hydroponics with radioactive tracer <sup>65</sup>Zn was performed in a factorial scheme (3 x 1), with one replicate, with three plants per treatment. Treatments consisted again of the same doses of the herbicide glyphosate and a dose of radioactive zinc, <sup>65</sup>Zn (0.22 g L<sup>-1</sup>). The plants were harvested and separated in root, stem, central, medium and low leaves. The analytical technique used to quantify the zinc in experiments 1 and 2 was the neutron activation analysis, standardized *k*<sub>0</sub> method, irradiating the samples in the TRIGA MARK I IPR-R1 nuclear research reactor of the Nuclear Technology Development Center / Brazilian Commission for Nuclear Energy (CDTN / CNEN). The total activity of <sup>65</sup>Zn was determined by gamma spectrometry analysis.

The results of this research suggest that the dosage application higher than the recommended dosage of the herbicide glyphosate interfered in almost all parameters evaluated. The application of the recommended dose in the cultivation in hydroponics, negatively affected the translocation of zinc and the dry matter of the stem and shoot. Related to experiment in soil cultivation, the application of the recommended dose of glyphosate was satisfactory, in other words, the growth of the plant and the absorption and translocation of zinc were not affected.

**Key words:** Glyphosate, Corn, Zinc, Neutron Activation Analysis, *k*<sub>0</sub>-Method

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Esquema de decaimento do $^{65}\text{Zn}$ .....	32
<b>Figura 2.</b> Fórmula estrutural da molécula de glifosato .....	34
<b>Figura 3.</b> Translocação do glifosato aplicado na parte aérea da planta até a rizosfera .....	35
<b>Figura 4.</b> Morte da planta após a aplicação com glifosato, sem produção de aminoácidos ..	38
<b>Figura 5.</b> Planta com tolerância ao glifosato, há produção de aminoácidos .....	38
<b>Figura 6.</b> Reator Nuclear TRIGA MARK I IPR – R1 do CDTN/CNEN .....	45
<b>Figura 7.</b> Espectros esquemáticos onde são demonstrados como seria um com boa resolução e outro com má resolução .....	50
<b>Figura 8.</b> (a) Localização; (b) Casa de vegetação; (c) Ensaio em Solução Nutritiva; (d) Ensaio em Solo; (e) Ensaio com $^{65}\text{Zn}$ .....	53
<b>Figura 9.</b> Amostras sendo: (a) secas; (b) pesadas; (c) acondicionadas em béquer de Teflon .....	62
<b>Figura 10.</b> Amostras sendo: (a) liofilizadas; (b) trituradas; (c) pesadas; (d) acondicionadas em frasco com tampa; (e) amostra de folhas medianas do tratamento 6 – Experimento: Ensaio em Solução Nutritiva .....	63
<b>Figura 11.</b> Sementes de milho .....	63
<b>Figura 12.</b> Substrato Bioplant <sup>®</sup> .....	64
<b>Figura 13.</b> Amostras sendo: (a) pesadas; (b) acondicionadas em tubos menores para irradiação; (c) monitores de ouro sendo pesados para irradiação .....	65
<b>Figura 14.</b> Altura das plantas com 35 dap (A), 45 dap (B) e 60 dap (C) em plantas de <i>Zea mays</i> .....	69
<b>Figura 15.</b> Comprimento do caule com 35 dap (A), 45 dap (B) e 60 dap (C) em plantas de <i>Zea mays</i> .....	71
<b>Figura 16.</b> Diâmetro do caule com 35 dap (A), 45 dap (B) e 60 dap (C) em plantas de <i>Zea mays</i> .....	72
<b>Figura 17.</b> Comprimento da raiz das plantas de milho (cm) .....	73
<b>Figura 18.</b> Massa da matéria seca do caule (g) .....	74
<b>Figura 19.</b> Massa da matéria seca da raiz (g) .....	74

<b>Figura 20.</b> Massa da matéria seca das folhas centrais (g) .....	75
<b>Figura 21.</b> Massa da matéria seca das folhas medianas (g) .....	76
<b>Figura 22.</b> Massa da matéria seca das folhas baixas (g) .....	76
<b>Figura 23.</b> Massa da matéria seca das folhas totais (g) .....	77
<b>Figura 24.</b> Massa da matéria seca da parte aérea (g) .....	78
<b>Figura 25.</b> Concentração de zinco na matéria seca da raiz ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), em função das doses de glifosato e doses de Zn .....	80
<b>Figura 26.</b> Concentração de zinco na matéria seca do caule ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), em função das doses de glifosato e doses de Zn .....	81
<b>Figura 27.</b> Concentração de zinco na matéria seca das folhas centrais (A), medianas (B), baixas (C) e totais (D) ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), em função das doses de glifosato e doses de Zn .....	82
<b>Figura 28.</b> Concentração de zinco na matéria seca da parte aérea ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), em função das doses de glifosato e doses de Zn .....	83
<b>Figura 29.</b> Concentração de zinco no substrato Bioplant <sup>®</sup> e nas sementes de milho ( $\text{mg kg}^{-1}$ ). As barras representam o erro padrão médio .....	85
<b>Figura 30.</b> Altura das plantas com 20 dap (A), 30 dap (B) e 40 dap (C) em plantas de <i>Zea mays</i> .....	86
<b>Figura 31.</b> Comprimento do caule com 20 dap (A), 30 dap (B) e 40 dap (C) em plantas de <i>Zea mays</i> .....	87
<b>Figura 32.</b> Diâmetro do caule com 20 dap (A), 30 dap (B) e 40 dap (C) em plantas de <i>Zea mays</i> .....	88
<b>Figura 33.</b> Massa da matéria seca do caule (g) .....	89
<b>Figura 34.</b> Massa da matéria seca das folhas centrais (g) .....	90
<b>Figura 35.</b> Massa da matéria seca das folhas medianas (g) .....	90
<b>Figura 36.</b> Massa da matéria seca das folhas baixas (g) .....	91
<b>Figura 37.</b> Massa da matéria seca das folhas totais (g) .....	92
<b>Figura 38.</b> Massa da matéria seca da parte aérea (g) .....	93

<b>Figura 39.</b> Concentração de zinco na matéria seca do caule ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), em função das doses de glifosato e doses de Zn .....	95
<b>Figura 40.</b> Concentração de zinco na matéria seca das folhas centrais (A), medianas (B), baixas (C) e totais (D) ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), em função das doses de glifosato e doses de Zn .....	96
<b>Figura 41.</b> Concentração de zinco na matéria seca da parte aérea ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), em função das doses de glifosato e doses de Zn .....	98
<b>Figura 42.</b> Atividade total do $^{65}\text{Zn}$ na matéria seca da raiz (Bq), em função das doses de glifosato e dias de avaliação .....	101
<b>Figura 43.</b> Atividade total do $^{65}\text{Zn}$ na matéria seca do caule (Bq), em função das doses de glifosato e dias de avaliação .....	102
<b>Figura 44.</b> Atividade total do $^{65}\text{Zn}$ na matéria seca das folhas centrais (A), medianas (B), baixas (C) e totais (D) (Bq), em função das doses de glifosato e dias de avaliação .....	103
<b>Figura 45.</b> Atividade total do $^{65}\text{Zn}$ na matéria seca da parte aérea (Bq), em função das doses de glifosato e dias de avaliação .....	104

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Resultados experimentais e os valores certificados para SRM 1573a, <i>Tomato Leaves</i> , e avaliação estatística, $E_n$ -score .....	67
<b>Tabela 2.</b> Resultados experimentais e valores certificados para BCR-320R, <i>Channel Sediment</i> , e avaliação estatística, $E_n$ -score .....	68
<b>Tabela 3.</b> Concentrações de zinco determinadas nas amostras de plantas de milho do Experimento 1: Ensaio em Solução Nutritiva .....	78
<b>Tabela 4.</b> Concentração dos elementos determinados na alíquota analisada do substrato Bioplant <sup>®</sup> .....	84
<b>Tabela 5.</b> Concentração dos elementos determinados nas sementes de milho analisadas .....	84
<b>Tabela 6.</b> Concentração de zinco encontrados nas amostras de plantas de milho do Experimento 2: Ensaio em Solo .....	94
<b>Tabela 7.</b> Atividade total do <sup>65</sup> Zn nas partes das plantas de milho do Experimento 3: Ensaio em Solução Nutritiva com Traçador Radioativo .....	100

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Estádios fenológicos da cultura do milho .....	26
<b>Quadro 2.</b> Redistribuição dos nutrientes em plantas e os órgãos onde os sintomas de deficiência ocorrem primeiro .....	28
<b>Quadro 3.</b> Tratamentos e doses utilizadas de zinco e glifosato, no Experimento 1- Ensaio em Solução Nutritiva .....	54
<b>Quadro 4.</b> Composição química das soluções nutritivas estoque que compõem a solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) .....	55
<b>Quadro 5.</b> Tratamentos e doses utilizadas de zinco e glifosato, no Experimento 2 - Ensaio em solo .....	56
<b>Quadro 6.</b> Nutrientes, concentrações requeridas, compostos químicos e fonte dos nutrientes utilizados para a adubação do solo .....	57
<b>Quadro 7.</b> Procedimento de Avaliação dos Parâmetros Biométricos .....	58
<b>Quadro 8.</b> Tratamentos e doses utilizadas de zinco e glifosato, no Experimento 3 - Ensaio em Solução Nutritiva com Traçado .....	60
<b>Quadro 9.</b> Análise qualitativa dos experimentos em relação à dose recomendada de Glifosato e 4 vezes está dose: Ensaio em Solução Nutritiva e Ensaio em Solo .....	99
<b>Quadro 10.</b> Análise qualitativa do experimento em relação à dose recomendada de Glifosato e 4 vezes está dose: Ensaio em Solução Nutritiva com Traçador Radioativo .....	105

## LISTA ABREVIATURAS E SIGLAS

AAN - Análise por Ativação Neutrônica  
AANI - Análise por Ativação Neutrônica Instrumental  
AMPA - Ácido Amino-metilfosfônico  
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
APL - Altura da Planta  
CC - Comprimento do Caule  
CDTN - Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear  
CENA - Centro de Energia Nuclear e Agricultura  
CNEN - Comissão Nacional de Energia Nuclear  
CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento  
CR - Comprimento da Raiz  
DC - Diâmetro do Caule  
DR - Dose Recomendada  
ED-XRF - Fluorescência de Raio X com energia dispersiva  
EPSP - 5 enolpiruvilshiquimato-3-fosfato  
EPSPs - 5 enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase  
GMHT - Geneticamente Modificadas Tolerantes a Herbicidas  
HPGe - *High Pure Germanium*  
IAEA - *International Atomic Energy Agency*  
IRMM - *Institute for Reference Materials and Measurements*  
 $K_0$  INAA - Método  $k_0$  de Análise por Ativação Neutrônica  
MMSC - Massa da Matéria Seca do Caule  
MMSF - Massa da Matéria Seca das Folhas  
MMSFB - Massa da Matéria Seca das Folhas Baixas  
MMSFC - Massa da Matéria Seca das Folhas Centrais  
MMSFM - Massa da Matéria Seca das Folhas Medianas  
MMSPA - Massa da Matéria Seca da Parte Aérea  
MMSFT - Massa da Matéria Seca das Folhas Totais  
PEP - Fosfoenolpiruvato  
pEPSPs - pré enzima 5 enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase  
RR - *Roundup Redy*  
S3P - Shiquimato-3-fosfato  
USDA - *United States Departamento of Agriculture*  
C.V - Cultivar



## LISTA DE SÍMBOLOS

$\alpha$ : Partícula alfa

$\beta^-$ : Partícula beta menos (elétron)

$\gamma$ : Radiação gama

n,  $\gamma$ : Nêutrons, raios gama

$E_n$ : score

$f_\phi$ : razão entre os fluxos de nêutrons térmicos e epitérmicos

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	9
<b>ABSTRACT</b> .....	10
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b> .....	11
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	14
<b>LISTA DE QUADROS</b> .....	15
<b>LISTA ABREVIATURAS E SIGLAS</b> .....	16
<b>LISTA DE SÍMBOLOS</b> .....	17
<b>SUMÁRIO</b> .....	18
<b>CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO</b> .....	20
<b>1.1 Contextualização do Problema</b> .....	20
<b>1.2 Justificativa</b> .....	21
<b>1.3 Objetivos</b> .....	23
<i>1.3.1 Objetivo Geral</i> .....	23
<i>1.3.2 Objetivos Específicos</i> .....	23
<b>1.4 Estrutura do Estudo</b> .....	23
<b>CAPÍTULO 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	25
<b>2.1 Cultura do Milho – Aspectos Gerais</b> .....	25
<b>2.2 Fases Fenológicas do Milho</b> .....	26
<b>2.3 Cultivo em Ambiente Protegido</b> .....	27
<b>2.4 Nutrientes Vegetais</b> .....	27
<b>2.5 Micronutrientes na Agricultura</b> .....	29
<i>2.5.1 Zinco na Cultura do Milho</i> .....	29
<i>2.5.2 Técnicas Analíticas na Determinação de Nutrientes</i> .....	30
<i>2.5.3 Radioisótopo de Zinco (<sup>65</sup>Zn)</i> .....	31
<b>2.6 Comportamento do Herbicida Glifosato</b> .....	33
<i>2.6.1 Características e Propriedades</i> .....	33
<i>2.6.2 Modo de Ação</i> .....	35
<i>2.6.3 Seletividade</i> .....	36
<i>2.6.4 Milho tolerante ao glifosato</i> .....	37
<i>2.6.5 Efeito do glifosato na Nutrição Mineral das Plantas</i> .....	39
<b>CAPÍTULO 3. TÉCNICAS ANALÍTICAS NUCLEARES EMPREGADAS</b> .....	42
<b>3.1 Análise por Ativação Neutrônica (AAN)</b> .....	42

3.1.1 Princípio Fundamental da AAN .....	42
3.1.2 Reator Nuclear TRIGA MARK I IPR-R1 .....	45
3.1.3 Vantagens e Limitações .....	46
3.1.4 Método $k_0$ de Análise por Ativação Neutrônica .....	47
3.1.5 Programas Computacionais .....	49
<b>3.2 Análise por Espectrometria Gama</b> .....	49
3.2.1 Radiotraçador ( $^{65}\text{Zn}$ ) .....	51
<b>CAPÍTULO 4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	52
<b>4.1 Parte 1: Experimentos</b> .....	53
4.1.1 Etapa 1, Experimento 1 – Ensaio em Solução Nutritiva .....	53
4.1.2 Etapa 2, Experimento 2: Ensaio em Solo .....	56
4.1.3 Características Agronômicas .....	58
4.1.4 Etapa 3, Experimento 3 – Ensaio em Solução Nutritiva Traçador Radioativo .....	59
<b>4.2 Parte 2: Análises Químicas</b> .....	61
4.2.1 Controle de Qualidade do Método $k_0$ .....	61
4.2.2 Análise 1 – Por Ativação Neutrônica .....	62
4.2.2.1 Preparo das Plantas de Milho .....	62
4.2.2.2 Preparo do Substrato Bioplant® .....	64
4.2.2.3 Preparação das Amostras para a Análise por Ativação Neutrônica .....	64
4.2.3 Análise 2 – Atividade Total do Radioisótopo $^{65}\text{Zn}$ .....	66
<b>4.3 Análises Estatísticas</b> .....	66
<b>CAPÍTULO 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	67
<b>5.1 Controle de Qualidade do Método <math>k_0</math></b> .....	67
<b>5.2 Experimento 1: Ensaio em Solução Nutritiva</b> .....	68
5.2.1 Características Agronômicas .....	68
5.2.2 Avaliações químicas .....	78
<b>5.3 Experimento 2: Ensaio em Solo</b> .....	85
5.3.1 Características Agronômicas .....	85
5.3.2 Avaliações químicas .....	94
<b>5.4 Experimento 3: Ensaio em Solução Nutritiva com Traçador Radioativo</b> .....	100
<b>CAPÍTULO 6. CONCLUSÕES</b> .....	106
<b>CAPÍTULO 7. TRABALHOS FUTUROS E PERSPECTIVAS</b> .....	107
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	108
<b>ANEXO</b> .....	127

## CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Contextualização do Problema

O milho possui alto potencial produtivo e é bastante responsivo à tecnologia, se beneficiando de técnicas modernas de plantio a colheita. Estudos realizados sugerem que práticas culturais, como seleção de híbridos e um controle fitossanitário são primordiais para um aumento da produtividade da cultura em questão (FARINELLI e JÚNIOR, 2014). Os manejos adequados da fertilidade do solo e da nutrição mineral da planta são, também, considerados de grande importância, pois os macronutrientes e os micronutrientes necessários devem ser supridos.

Neste contexto, o micronutriente zinco é um dos elementos mais importantes da cultura do milho cujas deficiências podem ser limitantes para obtenção de melhores rendimentos (ABREU, 2001). A utilização de maiores quantidades desse micronutriente deve ser realizada criteriosamente, pois é necessário haver equilíbrio nutricional de acordo com as necessidades da planta e em função do potencial produtivo (ABREU, 2001).

Outro fator a ser considerado para se obter boas produtividades na cultura é a utilização de plantas geneticamente modificadas. O seu uso ocorreu a partir da necessidade de facilitar o controle de plantas daninhas e insetos, diminuir o uso de pesticidas e a possibilidade de obtenção de plantas menos suscetíveis a condições de estresse (MONQUERO, 2005). Desta forma, as plantas transgênicas são uma alternativa importante para a agricultura, pois podem promover o aumento da produção (ISAAA, 2017) e a diminuição do uso de produtos fitossanitários. A utilização de cultivo de transgênicos tem aumentado na última década principalmente nas culturas de soja, milho, algodão e canola. Atualmente, um dos maiores exemplos dessa tecnologia é o uso de variedades de milho (*Zea mays*) que são tolerantes ao herbicida glifosato. Esta tecnologia simplifica o processo de controle de plantas daninhas e apresenta baixo custo em relação às demais opções de controle (VALDES e ASH, 2004).

O glifosato se destaca como um dos herbicidas mais comercializados no mundo (MENDELSON, 1998). No Brasil, o glifosato representa sozinho, em torno de 40% do consumo de agrotóxicos, tendo sido comercializados em 2012 mais de 200 toneladas (CARNEIRO et al., 2015). Ao ser aplicado na planta em pré e pós-emergência da cultura, pode influenciar negativamente na nutrição mineral da planta. Em estudos já publicados, observa-se que o uso do herbicida glifosato em pós-emergência afeta o teor de

micronutrientes nas plantas de soja resistentes ao herbicida glifosato (*Roundup Ready-RR*) (EKER et al., 2006; NEUMANN et al., 2006). Resultado semelhante foi verificado por Cakmak et al. (2009) em soja convencional, cujo estudo mostrou que o glifosato interfere na absorção e translocação de Ca, Mg, Fe e Mn. Barbosa (2013) avaliou as vias de absorção e as doses de glifosato na cultura do café e concluiu que o herbicida não alterou o desempenho do K nas plantas jovens de café em condições hidropônicas, mas comprometeu o comportamento do N, P, Ca e Mg, reduzindo, assim, o crescimento dessas plantas.

Considerando que o glifosato apresenta baixo custo relativo e excelente eficiência agrônômica (RIZZARDI et al., 2004), a introdução de variedades tolerantes provavelmente resultará no aumento das taxas de aplicação deste composto numa mesma área. Assim, vários fatores podem ser considerados com a aplicabilidade do herbicida glifosato em plantas geneticamente modificadas. Um desses fatores é a interferência na absorção e translocação dos nutrientes, podendo influenciar no crescimento da planta e por consequência em menor produtividade da cultura. Entretanto, há poucos estudos sobre a influência da utilização do herbicida no plantio de milho transgênico.

Neste cenário, o vegetal que foi escolhido para ser estudado neste trabalho foi o milho, um cereal de grande importância para o Brasil (CONAB, 2018), porém o milho geneticamente modificado, milho RR, o transgênico. Esse cereal, transgênico e não transgênico (convencional), é plantado nas mais diversas regiões, com diferentes tipos de clima e de solo, e amplamente utilizado tanto na alimentação animal como na humana. Deste modo, esta pesquisa buscou contribuir com informações sobre o efeito do herbicida glifosato na absorção e translocação do micronutriente zinco no milho tolerante ao produto.

A técnica analítica utilizada para verificar a presença do zinco foi a ativação neutrônica, técnica disponível no Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, CDTN, onde foi realizada a pesquisa.

## **1.2 Justificativa**

A agricultura é uma das atividades mais importantes no Brasil, tanto do ponto de vista da produção interna quanto voltada à exportação, gerando divisas significativas para o País. Evidentemente, a melhora na produtividade depende não apenas de fatores climáticos, mas também do uso de tecnologias adequadas que contribui, cada vez mais, para o desenvolvimento de uma agricultura melhor sob o ponto de vista econômico, social e ambiental.

Um desses exemplos é o cultivo de milho transgênico (WAQUIL et al., 2011). No Brasil foram plantados 50,2 milhões de hectares de produtos transgênicos em 2017, destes, 15,6 milhões de hectares na cultura do milho (ISAAA, 2017). O uso desse tipo de milho pelos agricultores é devido ao fato de ser resistente a pragas, doenças e, também, a tolerância ao herbicida glifosato.

O uso do herbicida glifosato é cada vez mais frequente nas lavouras pois, mesmo sendo eficiente no controle de ervas daninhas no cultivo de milho transgênico, tem sido necessário se fazer duas aplicações de glifosato nessas lavouras, aumentando assim a quantidade consumida deste herbicida (DUARTE et al., 2009). Portanto, sendo um produto (insumo), que é de aplicação quase universal na agricultura moderna com o objetivo de produzir com segurança e sustentabilidade, é preciso conhecer a influência que o herbicida exerce na absorção dos nutrientes pelas plantas. Por exemplo, no caso o micronutriente zinco, esse conhecimento é essencial para que ajustem as dosagens do herbicida para que se alcance uma produtividade maior deste importante cereal.

Há poucos relatos na literatura abordando a influência do herbicida glifosato no milho tolerante ao produto. Pesquisadores como (YAMADA; ABDALLA, 2007; CAKMAK et al., 2009; FIGUEIREDO, 2009) relatam os efeitos envolvendo outras culturas, permanecendo a dúvida sobre sua interferência na cultura do milho transgênico.

Aliado a isso, podemos utilizar vários métodos quantitativos para determinar os elementos em material vegetal e uma das técnicas analíticas empregadas nesta pesquisa foi a Análise por Ativação Neutrônica (AAN). Diversos trabalhos têm sido publicados onde os autores utilizaram esta técnica analítica (OLIVEIRA et al., 2013; FERRARI, 2008; SANTOS et al., 2006)s.

É importante identificar e caracterizar tecnologias que busquem maior eficácia nos processos de produção agrícola, principalmente porque o Brasil é um dos grandes produtores de milho (CONAB, 2018). Ressalta-se que é urgente o desenvolvimento de mais pesquisas com o propósito de eliminar o uso de herbicidas na agricultura, aplicado, muitas vezes, de forma indiscriminada e sem controle nas lavouras. Enquanto o uso continua, pelo menos verificar o comportamento da planta em relação a nutrientes em presença de herbicidas é de suma importância.

## 1.3 Objetivos

### 1.3.1 Objetivo Geral

Verificar se o glifosato interfere na absorção e translocação do nutriente zinco na cultura do milho transgênico.

### 1.3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito do herbicida glifosato no crescimento das plantas de milho;
- Quantificar o zinco nas amostras do substrato, nas sementes de milho, nas raízes, caule e nas folhas centrais, medianas e baixas aplicando a técnica de análise por ativação neutrônica, método  $k_0$ ;
- Determinar a absorção e translocação de  $^{65}\text{Zn}$  (como traçador radioativo) em plantas de milho, sob efeito do herbicida glifosato.

## 1.4 Estrutura do Estudo

Este trabalho foi dividido em 7 capítulos, e cada um foi composto da seguinte forma:

- 1) O Capítulo 1 versa sobre a contextualidade do problema, a justificativa, os objetivos e a estrutura do trabalho;
- 2) No Capítulo 2 é apresentada a revisão bibliográfica sobre os aspectos gerais da cultura do milho, características do cultivo em ambiente protegido, os principais nutrientes essenciais para o desenvolvimento deste cereal e o comportamento do herbicida glifosato e os seus efeitos na nutrição mineral das plantas;
- 3) No Capítulo 3, são descritas as técnicas analíticas utilizadas no trabalho: Análise por Ativação Neutrônica e Análise por Espectrometria Gama.
- 4) No Capítulo 4 são descritos os materiais e métodos, dos três experimentos: 1) Ensaio em Solução Nutritiva, 2) Ensaio em Solo, 3) Ensaio em Solução Nutritiva com Traçador Radioativo, assim como, as características agrônômicas, o controle de qualidade do método, as análises químicas e testes estatísticos utilizados;
- 5) No Capítulo 5 é apresentado, estatisticamente, o desempenho da Análise por Ativação Neutrônica. Em seguida, os resultados e discussões das características agrônômicas das plantas e das avaliações químicas dos experimentos 1: Ensaio em Solução Nutritiva e do experimento 2: Ensaio em Solo são apresentados. Também estão os resultados da atividade total do  $^{65}\text{Zn}$  do experimento 3: Ensaio em Solução Nutritiva com Traçador Radioativo.

- 6) No Capítulo 6 são apresentadas as conclusões gerais da pesquisa;
- 7) No Capítulo 7, trabalhos futuros e perspectivas;
- 8) Finalmente, as referências bibliográficas que ajudaram na sustentação deste trabalho são listadas;
- 9) É apresentado um anexo com um exemplo das análises de variância dos experimentos.



## CAPÍTULO 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesse capítulo são apresentados os aspectos gerais da cultura do milho, características do cultivo em ambiente protegido, os principais nutrientes essenciais e benéficos para o desenvolvimento deste cereal e o comportamento do herbicida glifosato.

### 2.1 Cultura do Milho – Aspectos Gerais

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta da família Poaceae, originária da América Central, sendo cultivado em praticamente todas as regiões do mundo, nos hemisférios norte e sul, em climas úmidos e regiões secas. Apresenta uma qualidade nutricional alta, rico em carboidratos, considerado como energético; é também fonte de óleo, fibras, vitaminas E, B1, B2 e além de alguns minerais, como fósforo e potássio (ALVES et al., 2015).

Atualmente, os Estados Unidos são os maiores produtores deste cereal, seguido pela China, sendo o Brasil o terceiro maior produtor mundial. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a produção brasileira de milho na safra 2016/2017 foi de 83,8 milhões de toneladas. A CONAB tem uma estimativa para a safra 2017/2018 de um ligeiro aumento, para uma produção de 87,3 milhões de toneladas, em relação à safra passada (CONAB, 2018).

A cadeia produtiva do milho é uma das mais importantes do agronegócio brasileiro, considerando que apenas a produção primária corresponde à aproximadamente 37% da produção nacional de grãos. O milho é cultivado em praticamente todo o território brasileiro, sendo que 90% da produção se concentra nas regiões sul, sudeste e centro-oeste, representando um importante papel socioeconômico para a produção agropecuária do País (CONAB, 2018).

As demandas crescentes interna e externa são justificadas pelo fato do milho ser insumo básico para avicultura e suinocultura, sendo o principal macro ingrediente para a produção de rações (CALDARELLI e BACCHI, 2012). É utilizado tanto para o consumo animal e também o humano, como fonte de matéria prima na confecção de produtos industrializados, e é evidente a sua importância na obtenção de bioenergia (CARVALHO et al., 2015).

Nos últimos anos, a cultura do milho no Brasil vem passando por importantes mudanças no manejo e nos tratamentos culturais, o que tem resultado em aumentos significativos na produtividade de grãos. Entre essas mudanças, destacam-se a adoção de sementes de cultivares com maior potencial de produção, adequada nutrição mineral, alterações no

espaçamento e na densidade de semeadura de acordo com as características das cultivares e, principalmente, a adoção da biotecnologia. O uso de biotecnologia no milho já é uma realidade e o uso de cultivares transgênicos tem sido de extrema importância para o acréscimo de produtividade da cultura (FARINELLI e JÚNIOR, 2014).

## 2.2 Fases Fenológicas do Milho

O milho é uma planta de ciclo variado, o que se evidencia desde cultivares extremamente precoces, cuja polinização pode ocorrer em 30 dias após a emergência, até aquelas que demoram 300 dias para serem polinizadas (FIORINI et al., 2012). Nas condições brasileiras, o milho apresenta um ciclo variável de 110 a 180 dias, a partir do qual, os híbridos e cultivares são classificados como super-precoce, precoce, normal ou tardio, com base no período entre a emergência e o florescimento (FIORINI et al., 2012).

Segundo Fancelli (2002), o ciclo de vida da planta de milho pode ser dividido em uma série de estádios fenológicos. De acordo com Ritchie et al. (1993), Quadro 1, os estádios fenológicos da cultura do milho se dividem em dois grandes grupos: Vegetativos e Reprodutivos, ambos com subdivisões. Os mesmos autores efetuaram as subdivisões dos estádios vegetativos e reprodutivos do milho através das designações “V” e “R”. A letra (V) representaria o número de folhas totalmente expandidas e a letra (R), o desenvolvimento dos grãos desde a polinização à maturação.

**Quadro 1.** Estádios fenológicos da cultura do milho.

<b>Estádios Vegetativos</b>	<b>Estádios Reprodutivos</b>
<b>VE</b> – Emergência	<b>A</b> – Antese
<b>V1</b> – Primeira folha	<b>R1</b> – Florescimento e Fecundação
<b>V2</b> – Segunda folha	<b>R2</b> – Grãos Leitosos
<b>V3</b> – Terceira folha	<b>R3</b> – Grãos pastosos
<b>V6</b> – Sexta folha	<b>R4</b> – Grãos farináceos
<b>V9</b> – Nona folha	<b>R5</b> – Grãos Farináceos duro
<b>V12</b> – Décima segunda folha	<b>R6</b> – Maturidade Fisiológica
<b>V15</b> – Décima quinta folha	-
<b>V18</b> – Décima oitava folha	-
<b>VT</b> - Pendoamento	-

**Fonte:** adaptado de (Ritchie et al., 1993).

Ritchie e colaboradores (1993) relatam que todas as plantas normais de milho seguem esse padrão geral de desenvolvimento, mas os intervalos de tempo específicos entre os estádios e os números totais de folhas desenvolvidas podem variar entre diferentes híbridos, estações do ano, datas de plantio e locais. Segundo Bergamaschi et al. (2004) o milho

pertence ao grupo de plantas com metabolismo fotossintético do tipo C4, que se caracteriza pelo elevado potencial produtivo. Sua elevada produtividade ocorre quando a máxima área foliar coincidir com a maior disponibilidade de radiação solar.

### **2.3 Cultivo em Ambiente Protegido**

O cultivo em ambiente protegido pode permitir um maior controle dos elementos que influenciam no desenvolvimento dos vegetais: temperatura do ar, radiação solar, velocidade do vento, precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar. O estudo das variáveis meteorológicas em ambientes protegidos é de fundamental importância, visto que o cultivo em casas de vegetação com coberturas plásticas proporciona condições diferentes das encontradas a céu aberto (FARIAS e SADD, 2003). Este sistema também auxilia na redução das necessidades hídricas (irrigação), através de uso mais eficiente da água pelas plantas. Um outro motivo para produzir em ambiente protegido, é o melhor aproveitamento dos recursos de produção (nutrientes, luz solar e CO<sub>2</sub>), resultando em precocidade de produção (redução do ciclo da cultura) e redução do uso de insumos, como fertilizantes (fertirrigação) e defensivos. Sendo assim, este sistema possibilita a realização do cultivo, até em condições normais de campo que não seriam possíveis (PURQUERIO e TIVELLI, 2006).

### **2.4 Nutrientes Vegetais**

O solo (substrato) e a solução nutritiva são os meios dos quais as plantas, através da absorção radicular, obtêm os nutrientes essenciais. Quando o meio não apresentar esses nutrientes e/ou, não fornecer as quantidades adequadas dos nutrientes, as plantas não terão suas exigências nutricionais atendidas. Haverá, portanto, a redução do crescimento e redução da produção das culturas devido à deficiência nutricional (FAQUIN, 2002).

As plantas são capazes de sintetizar todas as moléculas orgânicas de que necessitam a partir da água, do dióxido de carbono atmosférico e de elementos minerais, utilizando a radiação solar como fonte de energia. Sintetizam também outros elementos que estão presentes na solução do solo, mesmo que deles não necessitam. Assim, na natureza, estão à disposição das plantas, quase todos os elementos da tabela periódica. Nas plantas os elementos químicos obtidos principalmente na forma de íons inorgânicos do solo podem ser classificados de acordo com critérios fisiológicos ou quantitativos (EPSTEIN, 1999; VARENNE, 2003; TAIZ e ZEIGER, 2004).

Segundo Dechen e Nachtigall (2007), existem três critérios que devem ser preenchidos para um elemento ser considerado essencial: o primeiro critério é que na ausência do

elemento, a planta não cresce normalmente, nem completa o seu ciclo de vida, ou seja, não se desenvolve corretamente e não se reproduz. O segundo, é que nenhum outro elemento consegue substituí-lo completamente, ou seja, a deficiência de um dado elemento só pode ser corrigida através do seu fornecimento e não de algum outro. O terceiro, é que o elemento em questão deve ser importante para todas as plantas. Segundo esses critérios, existem apenas 17 nutrientes ditos essenciais. Contudo, autores de fisiologia vegetal discutem se os três critérios devem ser adotados simultaneamente ou não para considerar um elemento como nutriente essencial. Demonstrar que um elemento é essencial exige que as plantas sejam cultivadas sob condições experimentais nas quais apenas o elemento sob investigação encontra-se ausente (TAIZ e ZEIGER, 2004).

Além disso, as quantidades demandadas de cada nutriente são variáveis, mas todos eles são igualmente importantes. Entretanto, para fins didáticos, os elementos essenciais podem ser ainda classificados em macronutrientes, micronutrientes e benéficos. Os macronutrientes são elementos básicos necessários em maior volume para as plantas. Carbono, oxigênio, hidrogênio (retirados do ar e da água), nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre (retirados do solo, sob condições naturais) são exemplos de macronutrientes. Já os elementos boro, cloro, cobre, ferro, manganês, molibdênio, níquel e zinco são requeridos em pequenas quantidades, de miligramas a microgramas e são exemplos de micronutrientes. O sódio, o silício e o cobalto são designados como elementos benéficos, porque estimulam o crescimento de algumas plantas, não sendo essenciais, ou são essenciais apenas para algumas espécies vegetais (EPSTEIN, 1999; VARENNE, 2003; TAIZ e ZEIGER, 2004). No Quadro 2 pode-se observar a mobilidade dos principais nutrientes essenciais e os locais dos sintomas de deficiência.

**Quadro 2.** Redistribuição dos nutrientes em plantas e os órgãos onde os sintomas de deficiência ocorrem primeiro.

Nutrientes	Redistribuição	Órgãos onde sintomas visuais de deficiência ocorrem
N, P, K e Mg S, Cu, Fe, Mn, Zn e Mo B e Ca	móveis pouco móveis imóveis	folhas velhas folhas novas folhas novas e meristemas

**Fonte:** (FAQUIN, 2002).

## 2.5 Micronutrientes na Agricultura

A importância dos micronutrientes na agricultura vem sendo objeto de consideração e pesquisa de longa data. As pesquisas com micronutrientes vêm se multiplicando ano após ano, sendo realizada uma série de comprovações de interesse real para a agricultura (MALAVOLTA et al., 2006). Uma vez comprovada a essencialidade dos elementos, os pesquisadores começaram a investigar quais as funções de cada nutriente na planta e em que processo cada um deles interfere. De posse do conhecimento das funções dos nutrientes nas plantas, torna-se mais fácil a interpretação das reações das culturas à aplicação de determinado nutriente (TAIZ et al., 2017). Apesar dos micronutrientes serem necessários em baixos teores, seus efeitos no crescimento, desenvolvimento e produção são expressivos, pois a deficiência de qualquer um destes nutrientes pode resultar em perdas significativas de rendimento (BARBOSA FILHO, 2001; GONÇALVES Jr. et al., 2007).

### 2.5.1 Zinco na Cultura do Milho

Com a necessidade dos agricultores de alcançarem elevados patamares de produtividade, tem-se observado uma crescente preocupação com a adubação com micronutrientes. A sensibilidade à deficiência de micronutrientes varia conforme a espécie de planta, e o milho apresenta alta sensibilidade à deficiência de zinco (BROADLEY et al., 2012).

O zinco é essencial para sistemas enzimáticos da planta, controlando a produção de importantes reguladores de crescimento. A função básica está relacionada ao metabolismo de carboidratos e proteínas, de fosfatos e também na formação de auxinas, RNA e ribossomos (CHERIF et al., 2011; KABATA-PENDIAS, 2011). No Brasil, o zinco é o micronutriente mais limitante à produção do milho, sendo a sua deficiência muito comum na região central do país, onde predominam os solos sob vegetação de cerrado, os quais geralmente apresentam baixo teor de zinco no material de origem (ABREU, 2001). De acordo com Kabata-Pendias (2011), o Zn possui efeitos positivos perante a cultura do milho, proporcionando o aumento da altura das plantas, número de folhas, produção de forragem e grãos, além de conteúdo de proteína total nos grãos.

Os principais sintomas de deficiência deste elemento em plantas de milho são caracterizados por internódios curtos e faixas brancas ou amarelas entre a nervura principal e as bordas das folhas novas (TIECHER, 2014). Souza et al. (1998) relataram que em condições de campo, a aplicação de zinco na forma de sulfato elevou os teores foliares e a produtividade de grãos com dose de 5,0 kg ha<sup>-1</sup>. Já Resende et al. (1997) descrevem que adubações

nitrogenadas e potássicas proporcionam maiores acúmulos de zinco na parte aérea de plantas de milho. Galvão (1994) estudando a cultura do milho em solo de cerrado, em Latossolo Vermelho-Escuro, com teor inicial de  $0,3 \text{ g dm}^{-3}$  de zinco e extraído pela solução de Mehlich (HCl 0,05 N e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,025 N), concluiu que a aplicação de  $1,2 \text{ kg ha}^{-1}$  de Zn, como sulfato de zinco aplicado a lanço, foi suficiente para se obter maior rendimento de grãos. Para Barbosa Filho (2001), a deficiência de zinco condicionou o mau crescimento de plantas devido à formação de internódios curtos e folhas pequenas.

De acordo com Rosolem e Franco (2000), os níveis ideais de Zn nas folhas de plantas de milho estão entre 20 e  $70 \text{ mg kg}^{-1}$ . Para Galvão (1995), o teor de  $18,5 \text{ mg kg}^{-1}$  é o nível crítico de Zn nas folhas de milho. Já para Furlani e Furlani (1996) e Bataglia e Dechen (1986), o nível crítico de Zn para a cultura do milho é de  $17 \text{ mg kg}^{-1}$  na matéria seca das folhas maduras recém expandidas. De acordo com Rosolem e Franco (2000), os níveis iguais ou maiores que  $12 \text{ mg kg}^{-1}$  são suficientes para proporcionar crescimento normal às raízes de milho.

O excesso de Zn na planta pode causar alterações no crescimento, interferindo nos processos de fotossíntese, biossíntese de clorofila e integridade da membrana. Os sintomas de toxidez podem ser descritos como clorose nas folhas e diminuição da área foliar (STOYANOVA e DONCHEVA, 2002). Segundo Jones Jr. (1972), níveis de Zn na matéria seca de folhas de milho acima de  $400 \text{ mg kg}^{-1}$  causam toxidez.

Segundo Furlani et al (2005), solos ácidos de baixa fertilidade e solos de alta fertilidade com excesso de calagem, frequentemente apresentam deficiências de micronutrientes nas culturas anuais e perenes, em destaque a deficiência de Zn no milho.

### *2.5.2 Técnicas Analíticas na Determinação de Nutrientes*

A utilização da energia nuclear na agricultura vem sendo desenvolvida no Brasil através do uso de isótopos estáveis e dos radioisótopos artificiais. O objetivo tem sido conhecer os processos físicos, químicos e biológicos, para serem relacionados com o desenvolvimento das plantas e a obtenção de ganhos de produtividade das culturas (FERRAZ, 1972). Resultados de pesquisas nesta área até o momento se revelaram promissores quanto à possibilidade de se estudar a bioquímica vegetal, os insetos, as doenças em plantas, a conservação de sementes e alimentos, e principalmente o estudo da fertilidade do solo e nutrição mineral de plantas (MALAVOLTA, 2006). Além disso, a importância de se avaliar os nutrientes em uma determinada cultura é devido ao seguinte: 1) avaliação do estado nutricional da probabilidade de resposta as adubações; 2) na verificação do equilíbrio nutricional; 3) na constatação da

ocorrência de deficiências ou toxidez de nutrientes; 4) no acompanhamento, avaliação e ajuda no ajuste do programa de adubações; 5) na ocorrência de salinidade elevada em áreas irrigadas ou cultivos hidropônicos (MARTINEZ et al., 1999).

O uso das técnicas nucleares proporciona vantagens sobre as técnicas clássicas, principalmente no que diz respeito à sensibilidade e rapidez. De um modo geral, a agricultura tem se beneficiado com as aplicações das técnicas nucleares, possibilitando soluções simples, rápidas e mais exatas (FERRAZ, 1972).

Contudo, várias técnicas analíticas podem ser aplicadas na determinação da composição quantitativa dos elementos como, por exemplo, espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), a espectrometria de emissão atômica (ICP-AES) (MILAGRES et al., 2007) e a espectrofotometria de absorção atômica (AAS) (WINDMÖLLER et al., 2007). Entre essas, está a análise por ativação neutrônica (AAN) (DE SOETE et al., 1972; MENEZES et al., 2006b; SEEPRASERT et al., 2017; YAMUSA et al., 2013).

A Análise por Ativação Neutrônica (AAN) fornece resultados confiáveis, rastreáveis e com exatidão, tendo sido reconhecida como técnica primária por ser rastreável (BODE et al., 1990). Devido às suas características, vem sendo empregada com sucesso na determinação de elementos químicos em diversas matrizes em todo o mundo. Neste contexto, esta técnica tem sido aplicada na análise de vários elementos químicos responsáveis pelo desenvolvimento de um sistema integrado de nutrição mineral de plantas.

Portanto, é importante a necessidade de se conhecer o comportamento dos nutrientes no solo e em planta. Com isso, a ativação neutrônica é uma ferramenta poderosa para avaliar a absorção e a translocação de nutrientes em vegetais a partir de várias fontes de fertilizantes aplicados (OLIVEIRA et al. 2011, 2012, 2013).

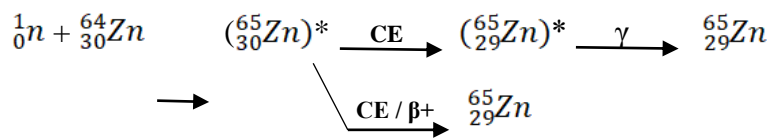
### 2.5.3 Radioisótopo de Zinco ( $^{65}\text{Zn}$ )

O uso de isótopo como traçadores é uma das técnicas nucleares mais difundidas em todo o mundo, em diversas áreas como biomédica (NISSIN et al., 1996), biológica (XU e KOWARD, 1997), bioquímica (SINGN et al., 1996) e microbiológica (BATEMAN et al., 1995), assim como em pesquisa na área agrônômica, no sistema solo-planta-atmosfera (TRIVELIN et al., 1996). Os isótopos são elementos químicos que apresentam mesmo número atômico, mas número de massa diferente e que se encontram dispostos na natureza em proporções diferentes (TAVARES, 2005). O zinco é um metal de transição de número atômico 30 sendo o 23º elemento mais abundante no planeta terra. Existem cinco isótopos

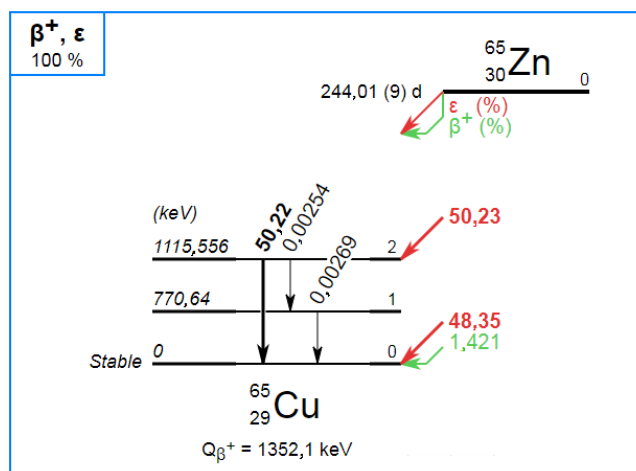
estáveis do zinco:  $^{64}\text{Zn}$  (48,63%),  $^{66}\text{Zn}$  (27,90%),  $^{67}\text{Zn}$  (4,90%),  $^{68}\text{Zn}$  (18,75%) e  $^{70}\text{Zn}$  (0,62%) (WEISS et al., 2005; GUEDES, 2012). Aproximadamente 30 radioisótopos de Zn têm vida curta e possuem massa atômica que varia de 54 a 83.

Entre os isótopos, existem aqueles que não emitem radiação, e são chamados de estáveis e aqueles que emitem radiação (alfa, beta e gama), e são chamados de radioativos ou radioisótopos. O estudo da diferença de concentração desses elementos em meios distintos permite que se avalie o destino de cada um deles, razão pela qual eles são denominados traçadores (TAVARES, 2005).

O zinco, ao ser submetido à fluxo de nêutrons, por reação de captura por nêutrons térmicos ( $n, \gamma$ ) (DE SOETE et al., 1972) produz dois radioisótopos, o  $^{69\text{m}}\text{Zn}$ , meia vida de 13,76 horas, emissão gama de 438,64 keV e o  $^{65}\text{Zn}$ , de meia vida mais longa (244,26 dias) e emissão de radiação gama com energia de 1115,56 keV, como consta na reação abaixo e na Figura 1.



O radioisótopo  $^{65}\text{Zn}$  é frequentemente utilizado como marcador Zn nas plantas devido a sua meia vida longa e emissão gama. Enriquecimentos elevados isotópicos de Zn em raízes e baixos em caules de plantas têm sido relatados por Weiss et al. (2005).



**Figura 1.** Esquema de decaimento do  $^{65}\text{Zn}$ .  
**Fonte:** (SANTOS et al., 2017).



A absorção de radiozinc ( $^{65}\text{Zn}$ ) pelas folhas do cafeeiro jovem foi de 2,8 a 4,0 vezes superior do que a radicular, quando pulverizado na folha superior, inferior e em ambas as superfícies, mostrando maior eficiência no aproveitamento do Zn (MALAVOLTA, 1976).

Zhang (1993) pesquisou em trigo diferentes formas de zinco, sulfato e Zn-EDTA, no apoplasto radicular em solução nutritiva. Observou que o  $\text{ZnSO}_4$  apresentou alta adsorção à parede celular, em relação ao Zn-EDTA, justificando esse fato com a alta afinidade que o  $\text{Zn}^{2+}$  dissociado do  $\text{ZnSO}_4$  tem pelas cargas existentes na parede celular, o que não acontece com o Zn do Zn-EDTA, o qual se apresenta quelatizado e, portanto, praticamente sem cargas livres.

Outro experimento foi conduzido em solução nutritiva para avaliar o efeito do suprimento de N na absorção, translocação, raiz – parte aérea e retranslocação do  $^{65}\text{Zn}$  aplicado via foliar em trigo. Resultados mostraram um aumento em até 3 vezes a absorção do zinco no fornecimento do N via radicular; em 8 vezes a translocação do zinco da raiz para parte aérea do trigo e retranslocação do zinco das folhas velhas para as folhas novas, e para os grãos se mostraram ligados positivamente ao suprimento de N, principalmente quando aumentada a dose de N (ERENOGLU et al., 2011).

Wu et al. (2010) pesquisando a translocação de Zn em arroz a partir da aplicação foliar com  $^{68}\text{ZnSO}_4$  concluíram que a remobilização do Zn para os grãos de arroz é pequena. No entanto, Zhang (1995) investigando absorção e translocação do  $^{68}\text{Zn}$  aplicado em folhas de pistache e nozes, observou que o máximo de absorção de Zn aconteceu depois de 3 dias da aplicação em folhas maduras e imaturas e constatou maior teor Zn nas folhas imaturas.

## **2.6 Comportamento do Herbicida Glifosato**

Na cultura do milho, o grupo de herbicidas pós-emergentes tem sido muito utilizado devido sua eficácia, conveniência e viabilidade de custos. Sua aplicação tem como objetivo eliminar plantas daninhas presentes nas lavouras, mas os efeitos sobre as culturas muitas vezes não são perceptíveis ou não são amplamente considerados. Ao aplicar o herbicida, uma porção deste atinge a cultura presente na área ou em áreas próximas, podendo causar efeitos colaterais, incluindo alterações no metabolismo de nitrogênio, nos níveis hormonais e no metabolismo secundário da planta (RIZZARDI et al., 2003).

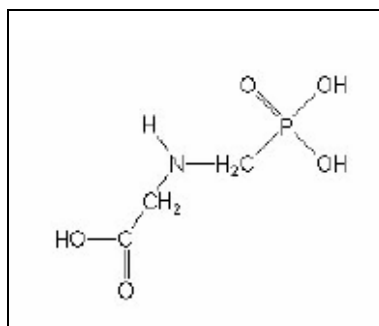
### *2.6.1 Características e Propriedades*

O glifosato é um herbicida sistêmico, pós-emergente e não seletivo, largamente utilizado na agricultura. Controla plantas mono e dicotiledôneas anuais e perenes, de folhas

largas e estreitas, sendo, portanto, uma das melhores opções para o manejo dessas plantas. Este herbicida é utilizado extensivamente, sendo aplicado após a emergência das plantas daninhas, antes da semeadura ou emergência das culturas de interesse econômico (TREZZI et al., 2001). Em geral é recomendado a aplicação de 1 a 3 L ha<sup>-1</sup> para capins anuais e 4 a 6 L ha<sup>-1</sup> para perenes (RODRIGUES e ALMEIDA, 1998). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA (1999) dispõe a ficha técnica da molécula, Figura 2.

**Nome químico:** N-(phosphonomethyl)glycine

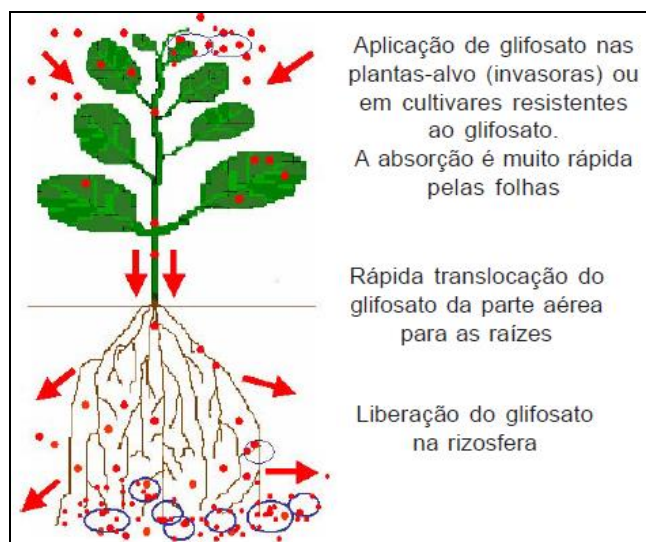
**Fórmula bruta:** C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>5</sub>P



**Figura 2.** Fórmula estrutural da molécula de glifosato.

**Fonte:** ANVISA (1999).

O processo de absorção do herbicida glifosato inicialmente ocorre de forma rápida, seguida por uma longa fase de lenta penetração (GRAVENA, 2006), sendo que a duração dessas fases depende de numerosos fatores, incluindo espécie, idade, condições ambientais e concentração do glifosato. O glifosato é móvel no floema e é rapidamente translocado por todas as partes da planta, mas tende a se acumular nas regiões meristemáticas, como é mostrado na Figura 3. Sugeriu-se que as cargas negativas da parede celular e do plasmalema repelem o glifosato, fortemente aniônico. Essa falta de uma forte ligação pode contribuir para o movimento do glifosato no apoplasto, ou seja, ele apresenta movimentação tanto simplástica como apoplástica. Essa distribuição está associada às velocidades de transporte de açúcares no floema. Isso ocorre porque o glifosato segue a mesma rota dos produtos da fotossíntese (açúcares), se direcionando das folhas fotossinteticamente ativas às partes das plantas que utilizam esses açúcares, com tendência de se acumular em folhas jovens, raízes e meristemas (MONQUERO et al., 2004).



**Figura 3.** Translocação do glifosato aplicado na parte aérea da planta até a rizosfera.

**Fonte:** (YAMADA e ABDALLA, 2007).

O glifosato permanece no solo durante um tempo variável, dependendo da textura e conteúdo de matéria orgânica, não apresentando nenhuma atividade no solo. A meia vida do glifosato tem uma faixa de 3 - 130 dias e podem ser degradados pelos microrganismos do solo (AMARANTE JUNIOR et al., 2002; PLINE-SRNIC, 2006). Na água, a sua meia vida é de 35 a 63 dias (USDA, 2003).

### 2.6.2 *Modo de Ação*

O modo de ação do glifosato consiste na alteração de diferentes processos bioquímicos vitais nas plantas, como a biossíntese de aminoácidos, proteínas e ácidos nucléicos. O herbicida glifosato faz parte do grupo de herbicidas inibidores da enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) que agem inibindo esta enzima na rota de síntese dos aminoácidos aromáticos essenciais, o fenilalanina, flavonóides e ácidos benzóicos. Essas moléculas inibem a EPSPs por competição com o substrato PEP (fosfoenolpiruvato), impedindo a transformação do shiquimato em corismato (RIZZARDI et al., 2004).

Com a inibição desta enzima, a planta não produz os aminoácidos para a síntese de proteínas (PADGETTE et al., 1995) e alguns metabólitos secundários, acumulando um composto intermediário, o shiquimato (VIDAL, 1997), o qual provoca um colapso no metabolismo intermediário dos tecidos vegetais.

Inicialmente, a enzima EPSPs liga-se ao shiquimato-3-fosfato (S3P), formando o complexo EPSPs-S3P, na sequência o fosfoenolpiruvato (PEP) é encaixado nesse complexo, produzindo 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato (EPSP). Em plantas suscetíveis tratadas com

glifosato, a molécula do herbicida não se liga à enzima livre, mas o complexo EPSPs-S3P, impedindo a ligação do PEP, formando o complexo inativo EPSPs-S3P-glifosato (TREZZI et al., 2001; MONQUERO, 2003). Nas plantas, a EPSPs é sintetizada no citoplasma sendo transportada ao cloroplasto em forma de pré-enzima (pEPSPs). A ligação e inibição do glifosato a enzima também acontece no citoplasma, formando o complexo glifosato-pEPSPs-S3P (KRUSE et al., 2000). Portanto, há redução na eficiência fotossintética e menor produção de aminoácidos aromáticos (TREZZI et al., 2001). O ponto final da rota do ácido chiquímico é a formação do corismato, a partir do qual muitos metabólitos secundários são formados.

As plantas tratadas com glifosato morrem lentamente, em poucos dias ou semanas. Logo, quanto mais glifosato a planta recebe, mais ácido chiquímico ela acumula, devido ao transporte por todo o sistema, causando assim a sua morte (GRUYS e SIKORSKI, 1999).

### 2.6.3 Seletividade

Os herbicidas inibidores da enzima EPSPs apresentam amplo espectro de controle, praticamente não há seletividade, com exceção das culturas modificadas geneticamente. Os inibidores da EPSPs são aplicados em pós-emergência, por não apresentarem atividade no solo, devido à adsorção aos colóides do solo e degradação microbiana (RIZZARDI et al., 2004).

A seletividade do herbicida é a base para o sucesso do controle químico de plantas daninhas na produção agrícola. Para Anderson (1993), a seletividade de um herbicida é a capacidade agrônômica de matar ou inibir o crescimento de algumas plantas sem injuriar outras. A seletividade também pode ser definida como o uso de um herbicida ou uma mistura deles, para um controle satisfatório de determinadas plantas daninhas sem danificar a cultura (OLIVEIRA, 2001; VELINI et al., 2000). Assim, o herbicida a ser empregado deve ser preferencialmente seletivo para a cultura não causando injúrias às plantas de milho, tanto à parte aérea quanto ao sistema radicular, visto que inúmeras condições de uso podem causar distintos efeitos fitotóxicos. Por essa razão, é fundamental a avaliação da influência do herbicida aplicados em pré e pós-emergência sobre o desempenho da cultura, independente da sua eficácia no controle de plantas daninhas. Para isso, é de importância fundamental conhecer a fenologia da cultura e os momentos de definição do potencial de produção (NICOLAI, 2004).

Para a cultura do milho, o rendimento de grãos depende da população, prolificidade, número médio de fileiras de grãos por espiga, número médio de grãos por fileira e da massa média por unidade de grão (ou semente). A população e prolificidade devem ser otimizadas

considerando-se a arquitetura da planta, condições edafoclimáticas e tecnologia empregada. Por ocasião da plena expansão da quarta a sexta folha, o meristema apical finaliza sua fase vegetativa e inicia seu processo de diferenciação floral, o qual origina os primórdios da(s) espiga(s) e da panícula, culminando na definição do potencial de produção da planta (FANCELLI e DOURADO NETO, 2001).

Após o início de diferenciação da panícula, quando a planta se encontra com sete a nove folhas definitivas e plenamente expandidas, começa o processo de diferenciação floral da gema que dará origem à espiga; sendo que, logo após esta diferenciação, rapidamente (8 e 12 folhas), a planta determina o número de fileiras por espiga e o número de grãos por fileira que irão compor a futura espiga (ANDRADE, 2000).

O número médio de grãos por fileira é afetado pelo tamanho da espiga, a qual é definida a partir das 12 folhas até o florescimento da planta. A massa média por unidade de grãos ou semente é marcadamente afetada a partir do estágio fenológico 6 (grãos leitosos), principalmente pela disponibilidade de água (FANCELLI e DOURADO NETO, 2001). Portanto, o número de grãos por unidade de área constitui-se em um dos mais importantes componentes determinantes do rendimento, o qual é influenciado por eventos ocorridos entre a emissão da 4ª e 10ª folha definitiva da planta, além daqueles evidenciados no florescimento (fecundação) (FANCELLI e DOURADO NETO, 2001). Esses conhecimentos são de suma importância, principalmente quando o controle de plantas daninhas vai ser realizado com herbicidas aplicados na pós-emergência da cultura.

#### *2.6.4 Milho tolerante ao glifosato*

Com o aumento da área plantada no Brasil e a adoção das tecnologias disponíveis, a utilização de herbicidas em pós-emergência na cultura do milho tem se tornado cada vez mais frequente entre os agricultores (SILVA et al., 1998). No entanto, esses herbicidas utilizados não totalmente seletivos podem causar injúrias às plantas de milho. Como esses agentes químicos são basicamente bloqueadores de processos metabólicos, entre os quais a fotossíntese, a questão que surge é relacionada aos efeitos dessas injúrias na produtividade. A área foliar verde do milho é tida como a principal fonte de fotoassimilados para a planta (MAGALHÃES e DURÃES, 2008) e, segundo Fancelli et al. (1998), uma perda nessa fonte poderá refletir no desenvolvimento da planta e na produção de grãos.

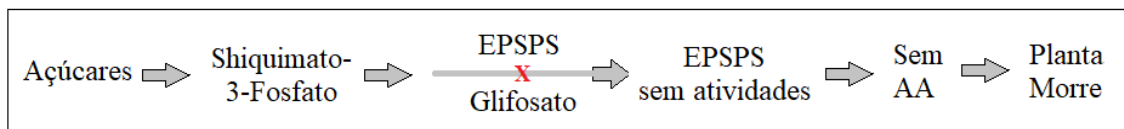
Nas suas primeiras fases de desenvolvimento (3-12 folhas) o milho é muito sensível à concorrência das plantas daninhas pela luz, água e nutrientes. O controle de infestantes em

agricultura convencional ocorre geralmente antes e pouco depois da emergência da cultura, para eliminar as invasoras em seu estágio inicial de desenvolvimento (MONSANTO, 2018).

As culturas tolerantes a herbicidas estão sendo desenvolvidas desde 1980, respondendo à procura dos agricultores, que buscam sistemas mais simples e eficazes, que permitam uma agricultura mais compatível com o meio ambiente. As características de tolerância a herbicidas permitem maior flexibilidade no controle de infestantes, usando um menor número de substâncias ativas (MONSANTO, 2018).

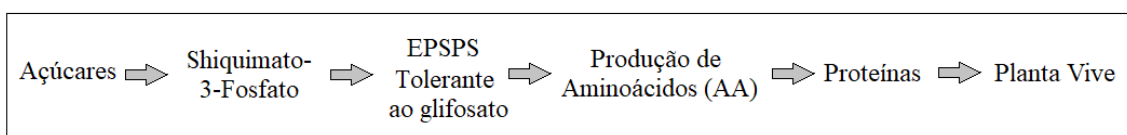
Atualmente, as principais variedades de milho geneticamente modificadas tolerantes a herbicidas (GMHT) disponíveis no mercado, que oferecem tolerância aos herbicidas glifosato, são conhecidas comercialmente como *Ready*<sup>®</sup> e *Agrisure Viptera 3*<sup>®</sup> (MONSANTO, 2018; SYNGENTA, 2018).

Como comentado no item 2.6.2, o glifosato inibe a enzima EPSPs. Esta enzima catalisa (acelera) um passo fundamental na rota do ácido chiquímico, na biossíntese de aminoácidos aromáticos, em plantas e microrganismos. A inibição desta enzima pelo glifosato causa uma deficiência no crescimento das plantas, causando a sua morte, conforme apresentado pela Figura 4 (PIONNER, 2018).



**Figura 4.** Morte da planta após a aplicação com glifosato, sem produção de aminoácidos.

A proteína CP4 EPSPs (proveniente de *Agrobacterium sp* cepa CP4) tem baixa afinidade pelo glifosato em comparação com outras enzimas EPSPs. Assim, quando se trata as plantas de milho tolerantes ao herbicida à base de glifosato, estas continuam crescendo graças à ação contínua da enzima CP4 EPSPs tolerante, que proporciona a planta os aminoácidos aromáticos necessários para continuar o seu desenvolvimento, conforme Figura 5 (PIONEER, 2018).



**Figura 5.** Planta com tolerância ao glifosato, há produção de aminoácidos.

### 2.6.5 Efeito do glifosato na Nutrição Mineral das Plantas

O primeiro mecanismo de ação reportado para o glifosato foi como um agente quelante de metais e a molécula foi inicialmente patenteada com esse propósito (JAWORSKI, 1972; BROMILOW et al., 1993). Como resultado desse modo de ação, questionou-se o fato de que a aplicação do glifosato poderia ter um efeito negativo para o desenvolvimento e o crescimento das plantas. Segundo a literatura (FRANÇA, 2009; CAKMAK et al., 2009), o glifosato pode influenciar na nutrição mineral das culturas agrícolas, interferindo negativamente na concentração de macro e micronutrientes nos tecidos de algumas plantas. Porém, resultados demonstram que em algumas circunstâncias o glifosato pode favorecer a absorção de determinados nutrientes (GODOY, 2007).

Em observações em campo no Brasil e nos EUA, pesquisadores reportaram que a frequente aplicação do glifosato induz direta e indiretamente deficiências de ferro, zinco e manganês (FRANZEN et al., 2003; JOHAL e HUBER, 2009; HUBER, 2006; JOLLEY et al., 2004). Após a aspersão de soluções contendo cálcio e outros micronutrientes catiônicos, já foi observada a perda de atividade do glifosato devido à formação dos complexos glifosato-metal (BERNARDS et al., 2005a; BAILEY et al., 2002). Soluções de ferro e manganês são conhecidas por inibir a atividade do herbicida através da limitação da absorção e translocação do complexo, mas pouco se sabe a respeito do efeito desses complexos sobre a enzima alvo do glifosato, a EPSP sintase (BERNARDS et al., 2005b).

Está bem documentado que alguns cátions, incluindo o Mn, podem reduzir a eficiência de ação do glifosato quando está presente na água usada como solvente na aplicação do herbicida. Os complexos formados entre glifosato e o cátion podem ser absorvidos, reduzindo o controle das plantas daninhas (YAMADA e BORK, 2009).

Para os micronutrientes catiônicos, o antagonismo com o glifosato possivelmente está relacionado à formação de complexos insolúveis entre o glifosato e esses elementos minerais (HALL et al., 2000; BERNARDS et al., 2005b). Sabe-se que em solução, o glifosato, forma complexos com cátions metálicos, o que reduz a sua efetividade. No entanto, De Ruiten et al. (1996) também demonstraram que o herbicida reage com Mn, Fe e outros cátions presentes na seiva do xilema de gramíneas.

Segundo Eker e colaboradores (2006) após a absorção de glifosato pela planta, a absorção e o transporte de micronutrientes podem ser limitados devido à formação de complexos nos tecidos. Para esses autores a formação de compostos insolúveis em partes jovens de raízes, onde particularmente o produto é acumulado, pode ser responsável pela inativação fisiológica do Fe e Mn. Cakmak e colaboradores (2009) explicaram o efeito do

glifosato sobre o Ca e Mg, e também postularam que esse efeito pode ter ocorrido devido à formação de complexos estáveis insolúveis entre o glifosato e esses cátions.

Yamada e Abdalla (2007) mencionam que nas regiões com uso extensivo de glifosato aumentaram os relatos sobre a redução no crescimento e na produtividade das culturas e apareceram sintomas de deficiências de micronutrientes. Em outro experimento realizado com soja convencional sobre o efeito de doses equivalentes a 0,3%, 0,6% e 0,9% da dose recomendada de glifosato pulverizadas na parte aérea, três vezes antes do florescimento, foi constatado principalmente na concentração de 0,9% da dose recomendada redução nos teores de Ca e Mn nos grãos, redução nos teores foliares de Mg, Ca e Mn e redução no peso seco de grãos, da palha e da planta inteira, constatando que o glifosato é antagonista na absorção, transporte e acúmulo de Ca, Mg, Mn e Fe, possivelmente pela formação de complexos pouco solúveis com estes cátions.

No estudo feito por Cakmak e colaboradores (2009) em soja convencional, constataram que o glifosato influenciou a nutrição mineral desta cultura. Esses autores observaram que subdoses de 0,864; 2,88; 8,64 g ha<sup>-1</sup> do herbicida reduziram os teores de Ca em folhas novas e de Mg e Mn em folhas novas e maduras da soja convencional. Os autores não observaram o efeito sobre os teores de K, Zn em folhas novas e de P, K, Ca, Cu, Zn e Fe, em folhas maduras, mas encontraram maiores teores de P, Fe e Cu em folhas novas da soja após a aplicação do produto.

Um comparativo de absorção de nutrientes entre soja convencional e transgênica sob aplicação do herbicida glifosato foi desenvolvido por Figueiredo (2009), que verificou uma redução de macro e micronutrientes para a soja convencional com as doses do glifosato aplicadas em solução, por outro lado a soja transgênica foi afetada na absorção de Cu e Zn nas mesmas condições tratadas com o herbicida em solução.

Segundo Tuffi e coautores (2007), áreas de cultivo de eucalipto em que o uso do glifosato é frequente, apareceram alterações morfológicas e sintomas semelhantes aos distúrbios nutricionais, como deficiência de cálcio, zinco e boro. Contudo, esses autores observaram que o herbicida nas subdoses de 43,2; 86,4; 172,8; 345,6 e 691,2 g ha<sup>-1</sup> não reduziu o teor da maioria dos nutrientes analisados. Ao contrário, observaram-se maiores teores de Ca, Mg, Fe, Mn e B, sobretudo nas maiores subdoses utilizadas. Porém, os próprios autores discutem que esse comportamento pode ser caracterizado como um efeito de concentração motivado pela redução do crescimento. Contudo, França (2009) observou que o glifosato reduziu os teores de N, P, K, Cu e Zn das cultivares de café arábica Topázio, Oeiras e Catuaí Amarelo aos 45 dias após a aplicação. Por outro lado, Godoy (2007) verificou que



subdoses de glifosato entre 1,8 e 36 g ha<sup>-1</sup> estimularam a absorção e o transporte de fósforo na soja convencional quando esta foi cultivada submetida a dois níveis de fósforo. Segundo esses autores este efeito possivelmente está associado a um aumento na expressão do gene que codifica uma proteína de transporte de fosfato em plantas de soja. Cakmak e colaboradores (2009) também obtiveram incrementos no teor de P após aplicação do glifosato.

De acordo com Bott et al. (2008), observações de deficiências de micronutrientes em plantas geneticamente modificadas sugerem efeitos prejudiciais do glifosato independente da toxidez direta. Segundo os autores esses efeitos incluem: (1) redução na disponibilidade de micronutrientes catiônicos nos solos devido à complexação interna e externa com glifosato, ou devido aos efeitos tóxicos secundários em certos microrganismos da rizosfera, com funções (particularmente Mn) de mobilização (HUBER, 2006; NEUMANN et al., 2006); e (2) acumulação intracelular de metabólitos tóxicos do glifosato, como o ácido aminometilfosfônico (AMPA) em plantas geneticamente modificadas (REDDY et al., 2001; NANDULA et al., 2007).

No girassol, o herbicida glifosato também atuou reduzindo a absorção, translocação e distribuição de Fe e Mn (EKER et al., 2006) e diminuindo a disponibilidade de Fe (III) para a enzima redutase férrica, o que promoveu a neutralização desta enzima (OZTURK et al., 2008). Quando aplicado exclusivamente em folhas de soja geneticamente modificada também reduziu a absorção de Mn em mudas de girassol cultivadas simultaneamente no mesmo recipiente, sugerindo a inibição da absorção de nutrientes pelas raízes por transferência do glifosato pela raiz (NEUMANN et al., 2006).

Há indícios também que o glifosato afetou os teores foliares de nutrientes das plantas, como soja resistente (PERIM et al., 2011), soja convencional (SERRA et al., 2011), e café (FRANÇA et al., 2010). Entretanto, são escassos os trabalhos que avaliam os efeitos na absorção e translocação dos nutrientes na cultura do milho tolerante ao herbicida glifosato, que foi a fonte de estudo deste trabalho.

## CAPÍTULO 3. TÉCNICAS ANALÍTICAS NUCLEARES EMPREGADAS

Duas técnicas nucleares serão abordadas neste capítulo: a técnica de análise por ativação neutrônica, método  $k_0$ , utilizado na determinação da concentração elementar do zinco no milho tolerante ao herbicida glifosato, e a técnica de espectrometria gama, na análise do radiotraçador  $^{65}\text{Zn}$ .

### 3.1 Análise por Ativação Neutrônica (AAN)

#### 3.1.1 Princípio Fundamental da AAN

O princípio da análise por ativação consiste em submeter uma amostra a um fluxo de nêutrons, com o intuito de produzir isótopos radioativos dos núcleos presentes na amostra original (IAEA, 1990).

A reação nuclear que ocorre é do tipo captura radioativa ( $n, \gamma$ ) que produz o radionuclídeo de interesse para a realização de uma análise por meio do método de ativação com nêutrons. Quando um feixe de nêutrons interage com o núcleo alvo, origina um núcleo composto de alta energia de excitação. Rapidamente este núcleo instável passa para uma configuração mais estável, emitindo raio gama “prontos” e transformando-se em um núcleo radioativo. Esse núcleo radioativo emite raios gama e partículas beta, com uma meia vida característica, formando por fim um núcleo estável. Por meio da energia da radiação gama de decaimento e da meia vida, o radioisótopo formado na reação nuclear pode ser identificado, permitindo assim, realizar análises qualitativas e quantitativas do elemento contido na amostra (DE SOETE et al., 1972). A probabilidade de ocorrência dessa reação nuclear depende das características do nuclídeo alvo como a secção de choque a determinada energia de nêutrons, abundância isotópica, além da meia vida do radionuclídeo formado.

Aproximadamente 70% dos elementos químicos têm nuclídeos com propriedades adequadas para a análise por ativação neutrônica, mostrando que este método radioquímico é um dos mais importantes para este tipo de análise (BODE et al., 1990).

Para a execução da técnica, é melhor proceder as irradiações em um reator nuclear, onde a taxa de fluxo de nêutrons térmico é maior para as análises, proporcionando maior quantidade de reações, a maior probabilidade de geração de radionuclídeos, pela reação de captura neutrônica ( $n, \gamma$ ) (IAEA, 1990; KNOLL, 2000).

Para uma análise multielementar, sob o ponto de vista experimental, os elementos são classificados em três grupos dependendo da meia vida de seus produtos da irradiação com nêutrons:

- a) curta, de 2 minutos a 15 horas,
- b) intermediária, de 0,5 a 5 dias e
- c) longa, meias vidas maiores do que 5 dias.

Portanto, pelas características apontadas e por ser um método multielementar, a AAN tem se mostrada adequada à aplicação de métodos quimiométricos para a discriminação em várias áreas do conhecimento. Dados da literatura indicam que muitas pesquisas, ligadas às áreas de agricultura, pecuária e meio ambiente, utilizam a análise por ativação com nêutrons para determinar a concentração de minerais em matrizes, tais como, solos, plantas e fertilizantes (OLIVEIRA et al., 2013).

Vários trabalhos têm sido publicados, inclusive na área agronômica, e alguns podem ser citados como os dos autores Othman e colaboradores (1995) que usaram a AAN para determinar 17 elementos traço em diferentes variedades de tabaco cultivados em diferentes tipos de solos e de condições climáticas. Os autores verificaram que ligeiras diferenças nas condições de cultivo possibilitaram variações nas concentrações dos elementos presentes nas folhas.

Oliveira e colaboradores (2013) utilizaram a AAN empregando o método  $k_0$  padronizado em amostras de solos do cerrado (argiloso e arenoso) e em amostras de fosfogesso. A mesma técnica foi utilizada também por Oliveira et al. (2011) em estudos com fosfogesso para identificar os elementos de terras raras Ce, La, Nd, Sm, Eu, Tb e Yb.

A técnica analítica também foi utilizada para determinar Cr em amostras de solo coletadas em um campo agrícola de 5000 m<sup>2</sup>. Os resultados obtidos permitiram estudar a distribuição espacial do Cr ao longo desta área de campo (CRUVINEL et al., 1996). Os autores Piasentin e coautores (1998) utilizaram a mesma técnica para verificar a influência do tipo de solo (latossolo vermelho-amarelo e latossolo vermelho-escuro) na extração de K, Ca, Mg, Na, Zn, Fe, Mn, Mo, Co, Cr, La, Eu e Th, por várias espécies de leguminosas e gramíneas.

Para verificar a transferência de elementos tóxicos presentes em fertilizantes para o solo, a AAN e a ED-XRF (fluorescência de raio X com energia dispersiva) foram aplicadas para determinação de elementos essenciais e tóxicos em amostras de solo natural e solo que recebeu fertilizantes (EL-GHAWI et al., 1999). Em um programa de controle ambiental para sistemas intensivos de produção de bovinos de leite, a AAN foi aplicada para fazer a

caracterização mineral dos insumos agrícolas utilizados no sistema. O método permitiu a determinação de 26 elementos, sendo que a maioria se encontrava na faixa de concentração de  $\text{mg kg}^{-1}$  (PRIMAVESI et al., 2000).

Com relação ao material vegetal, Mannan e colaboradores (1990) usaram a análise por ativação com nêutrons para determinar a concentração de 10 elementos traço - Hg, Cd, Pb, Cs, As, Ni, Se, Br e Al - em 5 variedades de arroz e casca de arroz no Paquistão. Com exceção do Se, as concentrações dos elementos foram menores no arroz do que na casca.

Jimba e Ige (1990) usaram a técnica para determinar elementos traço (Co, Cr, Fe e Zn) em alguns grãos como: arroz, soja, milho e amendoim. Os resultados sugeriram que uma dieta desses grãos proporciona uma concentração adequada desses elementos essenciais.

A AAN foi aplicada para determinar Hg, Co, Cr, Zn e Fe em folhas de três espécies de plantas (*Sapinkus mukorossis*, *Alstonia scholaris* e *Diospyros embryopteris*), localizadas na área urbana de Punjab, no Paquistão. Essas plantas foram usadas como um meio de avaliar o efeito da poluição de elementos tóxicos no ambiente, decorrente da produção industrial de pesticidas que contém Hg nas suas composições e de fungicidas que contém Zn (ZAFAR IQBAL e ABDUL QADIR, 1990).

Através da análise por ativação com nêutrons, Al Jobori et al. (1992) determinaram elementos menores, maiores e traços em algumas amostras de beterraba e rabanete coletadas de diferentes regiões do Iraque. Plantas medicinais também foram analisadas por AAN por Wang (1996) que determinou elementos como Ca, Cr, Co, Cu e Fe. O mesmo autor comenta a importância do conhecimento de elementos traço em plantas medicinais, pois pode influenciar no constituinte ativo e na sua ação farmacológica.

Fernandes e colaboradores (1998) através da mesma técnica nuclear, determinaram a concentração de 18 elementos, essenciais e tóxicos, em amostras de diferentes fases da fermentação da cana-de-açúcar. Amostras de duas variedades de feijão guandu foram analisadas pelo mesmo método, quando os autores determinaram as concentrações de Fe, Mn, Mo e Zn, que foram adubadas com fertilizantes contendo cada um desses minerais. Os resultados permitiram verificar o efeito da adubação na absorção desses elementos para plantas, cujas folhas foram coletadas em duas épocas diferentes, espaçadas por 4 meses (PIASENTIN et al., 2000).

Francisconi (2014) também utilizou a técnica de análise de ativação neutrônica para determinar os constituintes inorgânicos e avaliar a concentração dos elementos As, Ba, Br, Ca, Co, Cr, Cs, Fe, Hf, K, Mg, Mn, Na, Rb, Sb, Sc, Se, Ta, Th, Ti, U, V, Zn e Zr em plantas medicinais e seus extratos. A relevância dessas análises é justificada pela necessidade de

contribuir para a recomendação destas plantas como fontes desses minerais na dieta. Guizado Vidal et al. (2015) também utilizaram a técnica para otimizar a deconvolução espectral para determinar Zn em folhas de várias espécies vegetais.

Várias pesquisas também foram realizadas em sistemas de cultivo de diversos produtos vegetais como café (FERNANDES et al., 2004), batata (BACCHI et al., 2004), feijão (SANTOS et al., 2006), suco de laranja (TURRA et al., 2006), cogumelos (MARZANO et al., 2001), plantas frutíferas (CID, 2011), tomates (FERRARI, 2008; MARTINS et al., 2009), polpa de pequi (ESTEVES et al., 2009), folhas de couve (MENEZES et al., 2006b) e em tomate, milho e soja (OLIVEIRA et al., 2012) mostrando assim, a importância desta técnica analítica no estudo da identificação e concentração dos elementos em diversas espécies vegetais.

### 3.1.2 Reator Nuclear TRIGA MARK I IPR-R1

O reator nuclear é uma fonte importante de fluxos de nêutrons com os quais se realizam importantes experimentos. No CDTN/CNEN em Belo Horizonte, Minas Gerais, a técnica de AAN é aplicada utilizando como instrumento de irradiação de amostras, o reator nuclear de pesquisa Triga (*Training, Research, Isotope, General Atomics*) Mark I IPR-R1 (Figura 6), fabricado pela Gulf General Atomic. Atualmente, o reator está licenciado para operar a uma potência de 100 kW, mas já está configurado para operar a 250 kW. Esse reator apresenta três dispositivos de irradiação: mesa giratória, terminal pneumático e tubo central. O fluxo térmico médio na mesa giratória é de  $6,30 \times 10^{11}$  nêutrons  $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$  e o epitérmico de  $2,91 \times 10^{10}$  nêutrons  $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$  (MENEZES e JACIMOVIC, 2006).



**Figura 6.** Reator Nuclear TRIGA MARK I IPR – R1 do CDTN/CNEN.  
**Fonte:** Mesquita e Rezende, (2007).

As principais funções deste reator de pesquisa são:

- Servir como fonte de nêutrons em experiências científicas de Física, Química, Engenharia e Biologia;
- Servir de instrumento de treinamento para engenheiros e cientistas em problemas de física de reatores, projetos, instrumentação nuclear e de processos e prática de operações de reatores;
- Irradiar amostras com a finalidade de efetuar análises por ativação neutrônica e para a produção de radioisótopos.

### *3.1.3 Vantagens e Limitações*

Como foi comentado anteriormente, a técnica de análise por ativação pode ser aplicada a diversas matrizes, incluindo amostras biomédicas, ambientais, geológicas, além de uma grande variedade de aplicações industriais e agrônômicas. A extensa aplicabilidade da técnica é devido a, entre outros fatores (DE CORTE, 1986; DE SOETE et al., 1972; IAEA, 1990; PARRY, 2003):

- (a) é uma análise multielementar, pois permite a identificação e quantificação de diversos elementos simultaneamente;
- (b) análise de muitos elementos químicos, pois cerca de 70% dos elementos químicos naturais tem propriedades nucleares adequadas (meia vida, secção de choque e energia gama) para serem determinados por ativação neutrônica;
- (c) é uma técnica versátil, apresentando seletividade e especificidade, sensibilidade e precisão;
- (d) a contaminação após a irradiação é praticamente nula, pois depois de irradiados os componentes da amostra estão nuclearmente marcados, não havendo possibilidade de contaminação posterior;
- (e) determina elementos em larga faixa de concentração, de parte por trilhão (ppt) a percentagem.

As vantagens citadas acima, fazem da AAN uma técnica versátil na determinação dos constituintes de uma matriz. Porém, como as demais técnicas analíticas, apresenta algumas desvantagens ou limitações (DE CORTE, 1986; GLASCOCK, 1996; IAEA, 1990; PARRY, 2003).

- (a) necessidade de uma fonte de fluxo elevado de nêutrons, ou seja, um reator nuclear para aplicação de toda a sua potencialidade. Isso influencia no custo da análise - devido instalação e manutenção do reator - quanto na formação de pessoal;

- (b) não identifica a forma química dos elementos presentes na matriz, por ser uma técnica que se baseia nas propriedades nucleares dos átomos;
- (c) nem todos os elementos presentes na matriz são analisáveis, elementos bastante abundantes na natureza como o oxigênio, nitrogênio e hidrogênio são de difícil identificação, pois não oferecem propriedades nucleares favoráveis para a ativação nas condições usuais de irradiação, como é também o caso do chumbo;
- (d) outro efeito que pode ocasionar erros é a ocorrência de reações nucleares paralelas à reação principal, que são chamadas de reações de interferência;
- (e) custo elevado da análise por exigir instalações especiais e pessoal com formação adequada e treinamento em proteção radiológica.

#### 3.1.4 Método $k_0$ de Análise por Ativação Neutrônica

A técnica de ativação neutrônica é um procedimento não destrutivo, pois o preparo das amostras a serem analisadas se restringe à obtenção de um material seco, fino e homogêneo, sem exigir tratamento químico prévio. Essa é uma vantagem em relação às outras técnicas analíticas usualmente empregadas pois elas requerem que a amostra seja solubilizada para ser analisada. A ausência de procedimentos como separações químicas ou de dissolução de amostras torna a ativação neutrônica uma técnica mais versátil, reduzindo a possibilidade de contaminação e evitando a ocorrência de fracionamentos ou recuperações parciais de elementos (GREENBERG, 2008).

O método  $k_0$  ( $k_0$ -INAA) foi desenvolvido é um dos métodos de aplicação da técnica no final dos anos setenta e início dos anos oitenta, pelos professores Frans De Corte (Universidade de Gent, Bélgica) e Andras Simonits (KFKI-AEKI, Budapeste, Hungria) (DE CORTE, 2000; SIMONITS et al., 1975; KOLOTOV e DE CORTE, 2004).

Para aplicar o método de  $k_0$  padronizado, não são necessários padrões dos elementos de interesse, uma vez que se baseia no conhecimento dos parâmetros espectrais na posição de irradiação no reator nuclear que são  $f$  (razão entre os fluxos nêutrons térmicos e epitérmicos) e  $\alpha$  (medida do afastamento do perfil de fluxo de nêutrons epitérmicos na posição de irradiação do valor ideal), em um sistema de espectrometria gama absolutamente calibrado e de constantes nucleares obtidas da literatura (DE CORTE, 1987 e 2001; SMODIS et al., 1990, MENEZES, 2002).

O procedimento para a aplicação do método de  $k_0$  padronizado consiste em irradiar com a amostra um monitor de fluxo de nêutrons que é usualmente o ouro (Au) na mesma posição de irradiação. Várias amostras podem ser irradiadas simultaneamente quando empilhadas

dentro do recipiente de irradiação e intercaladas com monitores de fluxo de nêutrons (na forma de sanduíche). Esses monitores de fluxos são necessários para o cálculo dos Fatores de Comparação utilizados no cálculo da concentração elementar das amostras. A escolha do ouro como monitor de fluxo de nêutrons se deve a sua alta secção de choque para nêutrons ( $98,65 \pm 0,09$  barns) (HOLDEN, 1981), sua abundância isotópica (100%) (SIMONITS et al., 2003) e o seu tempo de meia vida (2,69 dias) que não apresenta inconvenientes de mediação.

Mesmo apresentando cálculos muito mais complexos do que os de um método comparativo, o método  $k_0$  oferece a vantagem de eliminar a aquisição e preparo de diversos padrões dos elementos de interesse. Isso diminui o custo da análise e a quantidade de operações realizadas em laboratório. A utilização de software adequado e dos microcomputadores disponíveis no mercado, os cálculos envolvidos na determinação das concentrações elementares de uma amostra (DE CORTE, 2001) são acessíveis.

A partir de 1992, mais de 50 laboratórios de todo o mundo passaram a utilizar o método  $k_0$ -INAA e centenas de trabalhos sobre o tema já foram publicados (IAEA). No Brasil, o método  $k_0$ -INAA tem sido aplicado com sucesso no CDTN/CNEN, Belo Horizonte, Minas Gerais) (MENEZES e JACIMOVIC, 2008; MENEZES et al., 2003) e no CENA (Centro de Energia Nuclear e Agricultura, Piracicaba, São Paulo (BACCHI e FERNANDES, 2003; BACCHI et al., 2003; BACCHI et al., 2004). Nas duas últimas décadas houve um significativo desenvolvimento na determinação das constantes físicas envolvidas, assim, como na melhoria de programas de computação utilizados nos cálculos necessários, possibilitando a obtenção de resultados confiáveis.

Em 1995, a análise por ativação com nêutrons instrumental  $k_0$ -INAA, foi introduzida no CDTN. Testes confirmaram que o reator TRIGA MARK I IPR-R1 apresentava as características adequadas para aplicação do método, principalmente devido à sua estabilidade dos fluxos de nêutrons (MENEZES et al., 2003; MENEZES e JACIMOVIC, 2008).

No CDTN, o método  $k_0$  (MENEZES e JACIMOVIC, 2006) vem sendo aplicado determinando vários elementos (Ag, Al, Au, As, Ba, Br, Ca, Cd, Ce, Cl, Co, Cr, Cs, Cu, Dy, Eu, Fe, Ga, Hf, Hg, Ho, I, K, La, Mg, Mn, Mo, Na, Nd, Rb, Sb, Sc, Se, Sm, Sr, Ta, Tb, Th, Ti, U, V, W, Yb, Zn e Zr) em uma larga faixa de concentração em várias matrizes como plantas, sedimentos, solos, resíduos, biomateriais, tecido animal, material particulado, plástico, etc. Neste método, as concentrações elementares são calculadas utilizando-se constantes como  $k_0$  já determinado para cada radionuclídeo, parâmetros espectrais do reator e equações específicas.



### 3.1.5 Programas Computacionais

Diversos programas computacionais são usados na aplicação do método  $k_0$ . Os programas utilizados no CDTN para a aquisição e análise dos espectros estão descritos a seguir:

#### a) Genie 2K CANBERRA

É um programa desenvolvido por “CANBERRA” (CANBERRA, 2008) para coletar, analisar e armazenar os espectros gama das amostras radioativas em computadores. A arquitetura do programa permite adquirir espectros múltiplos e independentes para vários detectores de maneira simultânea devido à sua capacidade de conexão mediante rede Ethernet como Analisador Multi-Canal do detector e uma interface gráfica fácil de empregar. Nenhum procedimento de aquisição se interrompe devido à ativação do outro ou devido à sobrecarga de processamento de dados por parte do computador.

#### b) HyperLab<sup>®</sup> 2009.1

É um programa desenvolvido por “HyperLabs Software” (HYPERLAB, 2009) para o desenvolvimento e avaliação dos fotopicos encontrados nos espectros de raios gama. Utiliza uma base de dados para armazenar e manejar eficientemente qualquer informação referente aos espectros. A arquitetura do programa permite, mediante uma interface gráfica fácil, utilizar a determinação das áreas (com suas incertezas) de fotopicos normais e/ou distorcidos, com grande precisão mediante algoritmos otimizados (SIMONITS et al., 2003). E ainda permite o armazenamento (e exportação) dos dados obtidos.

#### c) Kayzero for Windows<sup>®</sup> v. 2.46

É um programa utilizado para o cálculo da eficiência geométrica da amostra para diferentes distâncias detector-amostra. Possui correções por fenômenos de coincidência e o cálculo de concentração elementares (e suas incertezas associadas) mediante o método de padronização  $k_0$ . Para isso dispõe de várias bibliotecas com toda a informação nuclear necessária (fatores  $k_0$ , correções, etc.) para 144 radioisótopos (Kayzero for Windows<sup>®</sup> 2011).

## 3.2 Análise por Espectrometria Gama

Como visto em seções anteriores, a AAN se baseia na produção de radioisótopos mediante a submissão da amostra a um fluxo de nêutrons e posterior medida de emissão gama. A detecção da radiação gama emitida após a ativação da amostra, é denominada de

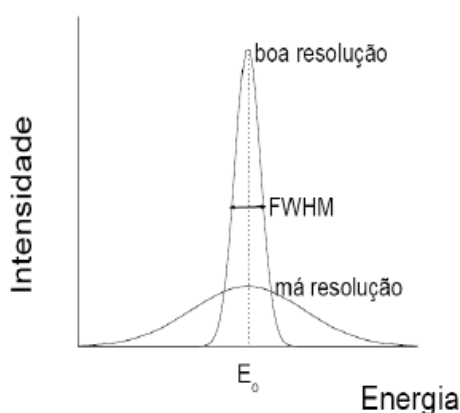
espectrometria gama, e constitui o método mais adequado para a determinação da composição elementar da matriz (PARRY, 2003).

A caracterização é possível pois o radioisótopo pai produzido via reação  $(n, \gamma)$  não apresenta diferenciação quanto ao número atômico, e assim guarda a identidade química do núcleo alvo original. As emissões gama de decaimento do radioisótopo produzido são detectadas por meio da interação com o material que constitui o detector. Detectores do tipo HPGe (*High Pure Germanium*) são os mais indicados para a detecção gama, pois apresentam alta resolução, o que possibilita a separação dos picos de energias muito próximos, proporcionando assim, uma menor incerteza na medida (COSTA, 2007; JÚNIOR et al., 2009).

A energia do raio gama emitido é característica para cada radioisótopo, que aliada à meia vida, possibilita a identificação e quantificação dos elementos. Essas características nucleares são listadas em tabelas que são encontradas em específicas publicações como (DE SOETE et al., 1972) e (IAEA, 1974).

O espectro gama de uma amostra ativada é bastante complexo, apresentando diversos picos gama correspondentes aos radionuclídeos dos elementos constituintes dessa amostra. Um único radionuclídeo pode apresentar diversos picos gama característicos, porém apenas aqueles com maiores intensidades são utilizados nos cálculos.

A Figura 7 ilustra um espectro de uma fonte monoenergética para um detector com boa e outro com má resolução. As áreas sob as curvas são iguais (se as condições de aquisição são as mesmas). Ambas as distribuições possuem o mesmo valor médio, embora as larguras sejam diferentes.



**Figura 7.** Espectros esquemáticos onde são demonstrados como seria um com boa resolução e outro com má resolução. **Fonte:** (KNOLL, 2000).

É importante ressaltar que a área sob o pico gama do radionuclídeo é proporcional à concentração do elemento alvo na amostra (BOUÇAS, 2009; DE SOETE et al., 1972).

### 3.2.1 Radiotraçador ( $^{65}\text{Zn}$ )

Uma forma de acompanhar o trajeto dos nutrientes na planta é se aplicar traçadores radioativos. As medidas do traçador são realizadas por espectrometria gama (LUCCONI et al., 2013; WALLBRINK et al., 2007).

Na seção 3.1.3 *Espectrometria Gama*, já foi discorrido sobre a técnica, que é aplicada em uma etapa da AAN. Estudos com traçadores são úteis, fornecendo informações de atividade via medida da contagem gama no pico de energia de interesse.

O cálculo da atividade do emissor gama é de acordo com a fórmula abaixo (EVANS, 1972):

$$A = A_0 e^{-\lambda t}$$

onde:

A é a atividade do material a um tempo qualquer, dada em unidades de desintegrações por segundo (dps);

$A_0$  é a atividade em dps ao tempo inicial ( $t=0$ );

t (segundos) é tempo decorrido para que a atividade da amostra se reduza de  $A_0$  a A;

$\lambda$  é a constante de desintegração, característica de cada radionuclídeo.

A meia vida (t) de cada espécie radioativa é relacionada à constante de desintegração ( $\lambda$ ) por meio da expressão:  $t = 0,693/\lambda$ .

## CAPÍTULO 4. MATERIAL E MÉTODOS

Este capítulo conta de duas partes: Parte 1, experimentos e Parte 2, análises.

A Parte 1, experimentos, foi conduzido em três etapas: o experimento 1 foi realizado em cultivo em solução nutritiva na casa de vegetação, o experimento 2 foi em cultivo em solo (vaso com solo) também em casa de vegetação e o experimento 3 foi em cultivo em solução nutritiva com traçador radioativo, em laboratório em uma área controlada.

O método para avaliar as características agronômicas dos experimentos (1 e 2) também se encontram neste capítulo.

A Parte 2, análises, compreendeu toda a execução das análises por ativação neutrônica determinando as concentrações do zinco, análise 1, e de atividade do traçador radioativo, análise 2.

### *Cultivar de Milho*

Este estudo foi desenvolvido com híbrido de milho “SX 7341 VIP 3”, que tem como características importantes o ciclo médio precoce, altura média das plantas 2,54 m, altura da inserção da espiga 1,46 m, textura dos grãos são duros com coloração laranja, excelente qualidade foliar, ótima qualidade de grãos, níveis tolerância às principais doenças, resistente às lagartas do cartucho, da espiga, rosca, lagarta *Europea* e à broca colmo do milho. A cultivar apresenta a tecnologia *Agrisure Viptera 3*, tolerante ao herbicida glifosato.

### *Casa de vegetação*

O experimento 1, em solução nutritiva, e o experimento 2, em vaso no solo, foram conduzidos ambos em casa de vegetação instalada no CDTN, Campus UFMG, Belo Horizonte, com as seguintes coordenadas geográficas: 19° 52'23'' de latitude sul; 43° 58'03'' de longitude oeste e aproximadamente 829 m de altitude. A casa de vegetação foi construída em uma área de 15 m<sup>2</sup>. O material utilizado para a construção foram tubos de PCV de 40 mm de espessura, sombrite de 50% de luminosidade e cobertura com plástico transparente de 100 micra de espessura. A instalação da casa de vegetação tem como finalidade de promover condições ambientais propícias para o cultivo e desenvolvimento das plantas. A Figura 8 mostra a casa de vegetação.



**Figura 8.** (a) localização; (b) casa de vegetação; (c) ensaio em solução nutritiva; (d) ensaio em solo; (e) ensaio com  $^{65}\text{Zn}$ . **Fonte:** Silva, 2019.

## 4.1 Parte 1: Experimentos

### 4.1.1 Etapa 1, Experimento 1 – Ensaio em Solução Nutritiva

Este Experimento 1 abrangeu os estudos realizados em casa de vegetação em que o milho foi desenvolvido em Solução Nutritiva. O objetivo foi verificar o efeito do herbicida glifosato na absorção e translocação do zinco na cultura do milho em solução nutritiva.

O experimento foi implantado em vasos de 3 L cada. O delineamento experimental utilizado foi em esquema fatorial com 2 doses de Zn ( $0, 0,22 \text{ g L}^{-1}$ ) x 3 doses do glifosato ( $0, 370 \text{ e } 1480 \text{ g L}^{-1}$ ) com três repetições, totalizando 18 unidades experimentais, com duas plantas por tratamento. O Quadro 3 mostra os seis tratamentos aplicados que consistiram de 3 doses diferentes do glifosato, ou seja, nenhuma dose, a dose recomendada e 4 vezes a dose recomendada. Quanto ao zinco, foram dois tipos de aplicação, sendo nenhuma aplicação de zinco e a dose recomendada. As doses recomendadas do herbicida glifosato aplicadas foram de acordo com as instruções de uso na bula do herbicida produzido pela empresa Monsanto® e as do micronutriente zinco foram de acordo com as doses descritas por Hoagland e Arnon (1950).

**Quadro 3.** Tratamentos e doses utilizadas de zinco e glifosato, no Experimento 1- em solução nutritiva.

<b>Tratamentos</b>	<b>Concentração de Zn (g L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Concentração de Glifosato (g L<sup>-1</sup>)</b>
<b>TH1</b>	0	0
<b>TH2</b>	0	370*
<b>TH3</b>	0	1480**
<b>TH4</b>	0,22***	0
<b>TH5</b>	0,22***	370*
<b>TH6</b>	0,22***	1480**

TH – tratamento solução nutritiva; \*, dose recomendada de glifosato; \*\*, 4 vezes a dose recomendada de glifosato; \*\*\*, concentração recomendada de zinco.

Os vasos foram pintados externamente com tinta metálica e internamente por tinta branca, para evitar a entrada de luz e o aquecimento excessivo da solução nutritiva.

A semeadura foi realizada em bandejas de isopor com 128 células, preenchidos com substrato comercial Bioplant<sup>®</sup> à base de casca de pinus e vermiculita, na proporção 1:1 (v/v).

As plantas foram irrigadas até a emergência, no estágio de crescimento vegetativo (V2), da fase de crescimento inicial até 15 dias após semeadura. Em seguida as mudas de milho foram retiradas da bandeja de isopor, lavadas em água corrente para retirada do substrato aderente.

As mudas foram, então, transferidas para um vaso com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), a 20% preparada da seguinte forma: foram pipetados 0,6 mL de cada solução nutritiva estoque, descrita no Quadro 4, para um vaso de 3 L, em seguida o vaso foi completado com água deionizada para 3 L, ficando a solução a 20%.

As mudas foram apoiadas em bandeja de isopor sobre o vaso. Passados 7 dias em solução nutritiva a 20%, o vaso teve a sua solução trocada pela mesma solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), sem diluição, para uma melhor climatização (estágio de desenvolvimento – V3) por 7 dias. Isto significa que 3 mL de cada solução nutritiva foi pipetada e a solução completada para 3 L de água deionizada.

Após esse período, no estágio de crescimento (V4), duas plantas, previamente selecionadas quanto à sanidade e uniformidade, foram transferidas para cada vaso, contendo 3 L de solução nutritiva para cada tratamento, em um total de 6 vasos com 2 mudas cada um. A partir deste momento, as plantas foram cultivadas nas soluções nutritivas de Hoagland e Arnon (1950), a 100%, tendo sido ajustado o pH entre 5,0 e 6,0.

O Quadro 4 mostra a composição química de cada solução nutritiva que compôs a solução nutritiva final de Hoagland e Arnon (1950). Foi preparado 1 L de cada solução estoque. Todos os reagentes eram de pureza p.a.

**Quadro 4.** Composição química das soluções nutritivas estoque que compõem a solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950).

<b>Solução Estoque</b>	<b>g L<sup>-1</sup></b>
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 1M	115,03
KNO <sub>3</sub> 1M	101,11
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O 1M	236,16
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O 1M	246,9
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,5 1M	87,13
Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O 0,05 M	12,6
CaSO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O 0,01 M	1,72
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .7H <sub>2</sub> O 1M	256
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> 1M	80,04
Solução 'a'	(1)
Solução de Fe-EDTA	(2)

**Fonte:** Hoagland e Arnon (1950).

(1) Solução 'a': Composição química da solução de micronutrientes: 2,86g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 2,43g MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O; 0,22g ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,08g CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O; 0,02g (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O. Os compostos foram solubilizados separadamente, transferidos para um balão completando-se a 1 L com água deionizada.

(2) Solução de Fe-EDTA: (Sol. 1): A solução foi preparada com 26,1g de EDTA dissolvida em 500 mL de água aquecida. Após resfriada, foi adicionado 89,2 mL de solução de NaOH 0,1N sob agitação constante. (Sol. 2): 24,9g de FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O dissolvido em 150 mL de água deionizada. Misturar Sol. 1 e 2 e completar para 1 L (HOAGLAND; ARNON, 1950).

Os vasos com as soluções nutritivas e plantas foram mantidos sob aeração por um compressor de ar, modelo ACQ-001. Uma vez por semana foi conferido o pH, ajustando para 5,0/6,0, quando necessário, usando-se, respectivamente, HCl e NaOH a 0,5 mol L<sup>-1</sup>. O nível da solução nutritiva, em cada vaso, foi de 1,5 cm da borda superior, acrescentando-se, diariamente, água deionizada. A cada 15 dias, a solução nutritiva foi substituída por uma nova.

Passados 7 dias da data do transplante, as plântulas receberam dose de 370 g L<sup>-1</sup> e 1480 g L<sup>-1</sup> do princípio ativo do equivalente ácido de glifosato, (TH2, 3, 5 e 6). Aplicou-se o herbicida Roundup Original DI<sup>®</sup> em três épocas distintas após a semeadura. As aplicações

foram realizadas em intervalos de 8 dias com dosagem recomendada do herbicida a 1,5 L/100 L de água. Utilizou-se um pulverizador costal linha alta pressão SS Brudden®, com capacidade de 5 litros, bico cone regulável, ajustado para aplicação tipo leque. Foram esperados 10 minutos após a aplicação do produto para que o produto nas plantas secasse antes de os vasos voltarem para o seu local original. Após 60 dias da sementeira, quando as plantas apresentavam em média oito folhas completamente expandidas (V8) e 28 dias em solução nutritiva, procedeu-se à colheita das plantas.

#### 4.1.2 Etapa 2, Experimento 2: Ensaio em Solo

Neste Experimento 2, os ensaios também foram realizados em casa de vegetação, em que o milho foi desenvolvido em solo para verificar o efeito do herbicida glifosato na absorção e translocação do zinco na cultura do milho.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial 3 x 3 utilizando-se o delineamento inteiramente casualizados (DIC) com duas repetições, totalizando 18 unidades experimentais, com duas plantas por tratamento. Os tratamentos consistiram de 3 doses do herbicida glifosato (0 g L<sup>-1</sup>, 370 g L<sup>-1</sup> – dose recomendada – D.R e 1480 g L<sup>-1</sup> do equivalente ácido de glifosato) e 3 doses de zinco (0 mg kg<sup>-1</sup>, 5 mg kg<sup>-1</sup> e 10 mg kg<sup>-1</sup> de ZnSO<sub>4</sub>) (Quadro 5).

**Quadro 5.** Tratamentos e doses utilizadas de zinco e glifosato, no Experimento 2 - Ensaio em solo.

Tratamentos	Concentração de Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	Concentração de Glifosato (g L <sup>-1</sup> )
TS1	0	0
TS2	5 <sup>#</sup>	0
TS3	10 <sup>##</sup>	0
TS4	0	370*
TS5	5 <sup>#</sup>	370*
TS6	10 <sup>##</sup>	370*
TS7	0	1480**
TS8	5 <sup>#</sup>	1480**
TS9	10 <sup>##</sup>	1480**

TS – tratamento em solo; \*, dose recomendada de glifosato; \*\*, 4 vezes a dose recomendada de glifosato; #, concentração recomendada de zinco; ##, 2 vezes a dose recomendada de zinco.

As plantas foram cultivadas em vasos com capacidade de 5 dm<sup>3</sup> de solo. Utilizou-se um solo classificado como Oxisol (EMBRAPA, 2013), coletado a uma profundidade de



0-20 cm. Em seguida foi colocado para secar, passando em peneira de 5 mm e homogeneizado para ser analisado em termos das composições químicas.

O solo utilizado já havia sido caracterizado segundo Raij (2001): pH na água (1: 2,5) = 5,2; nível de matéria orgânica (MO) = 1,42 (dag kg<sup>-1</sup>); P e K por Mehlich I extrator = 3,69 e 30,41 (mg dm<sup>-3</sup>); Mg, Ca e Al extraídos por solução de KCl 1 M = 7,59, 1,12 e 0,20 (cmol dm<sup>-3</sup>); Si = 3,29 (mg dm<sup>-3</sup>); Zn = 1,05 (mg dm<sup>-3</sup>); Cu = 1,38 (mg dm<sup>-3</sup>); S = 13,24 (mg dm<sup>-3</sup>); B = 0,07 (mg dm<sup>-3</sup>); Fe = 53,62 (mg dm<sup>-3</sup>); T = capacidade de troca de cátions em pH 7,0 (3,62%); capacidade de troca efetiva = 5,02%; m = índice de saturação de alumínio (12,50%); V = índice de saturação da base (27,85%). A granulometria do solo foi determinada pelo método da pipeta (areia, silte e argila = 60%, 11% e 29%) (PAULA e DUARTE, 1997).

Após a incubação do calcário por um período de 20 dias, a fertilização foi realizada para macro e micronutrientes (Quadro 6), seguindo a recomendação de Novais et al. (1991) adaptado para experimentos realizados em vasos para a cultura de milho. Após esse período, foi realizada a semeadura, com o plantio de quatro sementes de milho da cultivar “SX 7341 VIP 3” por vaso, sendo posteriormente realizado o desbaste das plântulas, mantendo-se duas plantas por vaso. O manejo da irrigação foi realizado com base na umidade da capacidade de campo, conforme recomendado por Guerra (1994).

**Quadro 6.** Nutrientes, concentrações requeridas, compostos químicos e fonte dos nutrientes utilizados para a adubação do solo.

Nutrientes	Quantidade (mg de Nutriente/kg de solo)	Fonte
N	300	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
P	300	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
K	200	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
S	40	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Mg	46	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O
B	2,5	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>
Cu	7,5	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O
Mo	0,5	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O
Zn	5	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O

**Fonte:** Novais et al., (1991).

A aplicação do glifosato foi realizada quando as plantas estavam no estágio V4 (fase vegetativa em que a quarta folha estava totalmente expandida) 21 dias após a semeadura

(DAS). Para a aplicação do glifosato utilizou-se um pulverizador costal linha alta pressão SS Brudden<sup>®</sup>, com capacidade de 5 litros, bico cone regulável, ajustado para aplicação tipo leque. Aplicou-se o herbicida Roundup Original DI<sup>®</sup> em três épocas distintas após a semeadura. As aplicações foram realizadas em intervalos de 8 dias com dosagem recomendada do herbicida a 1,5 L/100 L de água. Após a aplicação do produto, esperou-se 10 minutos para as plantas secarem antes de voltar ao seu local original. As doses recomendadas do herbicida glifosato foram estabelecidas de acordo com a empresa Monsanto<sup>®</sup>.

Após 40 dias da semeadura, quando as plantas apresentavam em média oito folhas completamente expandidas (V8) procedeu-se à colheita das plantas.

#### 4.1.3 Características Agronômicas

Todas as 36 plantas estudadas no total dos Experimentos 1 e 2 foram avaliadas de acordo com os seguintes parâmetros biométricos do Quadro 7.

**Quadro 7.** Procedimento de Avaliação dos Parâmetros Biométricos

Parâmetro Biométrico	Experimento 1	Experimento 2	Execução da medição
	Quando foi executada a medição		
	35, 45 e 60 dias após plantio	20, 30 e 40 dias após plantio	
<i>Altura das plantas (ALP)</i>	X	X	Auxílio de régua milimétrica, medindo do nível inicial do caule até o ponto de inserção da última folha
<i>Comprimento do Caule (CC)</i>	X	X	Auxílio de régua milimétrica, da interseção do caule com a raiz até a formação da última folha totalmente expandida
<i>Diâmetro do caule (DIC)</i>	X	X	Auxílio de paquímetro, avaliando o diâmetro do caule a 2,0 cm do colo
<i>Comprimento da raiz (CR)</i>	X (60 dias)	-	Auxílio de régua milimétrica

#### *Peso seco das plantas de milho (PSPM)*

O peso seco do caule (PSC), peso seco das folhas centrais (PSFC), das folhas medianas (PSFM), das folhas baixas (PSFB) e o peso seco das raízes foram determinados no final do experimento. As partes das plantas foram separadas, lavadas em água deionizada e colocadas para secar em temperatura ambiente, até atingir peso constante, quando, então, foi obtido o seu peso seco.

#### *4.1.4 Etapa 3, Experimento 3 – Ensaio em Solução Nutritiva com Traçador Radioativo*

O objetivo deste experimento foi verificar, utilizando a metodologia de traçador radioativo (BOARETTO et al., 2004), a interação da planta de milho transgênica com o micronutriente zinco, quanto a absorção e translocação do elemento sob efeito do herbicida glifosato.

Este experimento constou de duas partes: preparo da solução com o traçador radioativo, ( $^{65}\text{Zn}$ ) e do ensaio em Solução Nutritiva com o traçador.

Todo o experimento foi realizado no Laboratório de Radioquímica da Unidade de Química Nuclear e Radioquímica na Área Controlada 1, AC-1, no CDTN. A bancada onde foram realizados os experimentos foi forrada com plástico e papel toalha e devidamente sinalizada. Durante esse procedimento, luvas descartáveis foram utilizadas.

Todo o material utilizado foi descartado em local apropriado e as soluções acondicionadas em bombonas para posterior recolhimento pela equipe de tratamento de rejeito.

##### *Preparo da solução com o traçador radioativo – $^{65}\text{Zn}$*

Na Solução ‘a’ da solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) umas das soluções de micronutrientes é formada por 0,22 g de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e diluída para 1 litro. Para o preparo desta mesma solução com  $^{65}\text{Zn}$ , foram pesados 0,22 g de  $\text{ZnSO}_4$  em um porta-amostras de polietileno, adequado para a irradiação. O  $\text{ZnSO}_4$  foi irradiado por um período de 8 horas na mesa giratória, estando o reator TRIGA MARK I IPR-R1 operando a 100 kW.

Após uma semana, tempo necessário para o decaimento de radionuclídeos de meias vidas mais curtas como o  $^{24}\text{Na}$ , o sal de zinco foi solubilizado, tendo o volume completado para 1 litro com água deionizada, atividade de 211 Bq  $\text{mL}^{-1}$ . Para cada vaso, foram adicionados 3 mL da solução, correspondendo a atividade de  $^{65}\text{Zn}$  de 0,64 kBq.

##### *Experimento em Solução Nutritiva com Traçador Radioativo*

Este experimento seguiu os mesmos procedimentos realizados no Experimento 1, item 4.1.1, Ensaio em Solução Nutritiva, como o preparo dos vasos e a formação das mudas de milho. O local do plantio das sementes e o início da emergência até estágio vegetativo (V3) foram realizados em casa de vegetação. Para melhor climatização das plantas, as mesmas foram colocadas em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) diluídas a 20%, durante a fase de crescimento inicial até 7 dias após semeadura.

O experimento foi implantando em vasos de 3 L cada, dispostos no delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial (3 x 1), com uma repetição, totalizando 3 unidades experimentais, com três plantas por tratamento. Os tratamentos consistiram de 3 doses do herbicida glifosato (0 g L<sup>-1</sup>, 370 g L<sup>-1</sup> – dose recomendada – D.R e 1480 g L<sup>-1</sup> do equivalente ácido de glifosato) e 1 doses de zinco (0,22 g L<sup>-1</sup> – dose recomendada), ou seja, executando apenas os tratamentos em presença de zinco. O Quadro 8 mostra os tratamentos e doses utilizadas.

**Quadro 8.** Tratamentos e doses utilizadas de zinco e glifosato, no Experimento 3 - Ensaio em Solução Nutritiva com Traçador Radioativo.

<b>Tratamentos</b>	<b>Concentração de Zn (g L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Concentração de Glifosato (g L<sup>-1</sup>)</b>
<b>D1</b>	0,22	0
<b>D2</b>	0,22	370*
<b>D3</b>	0,22	1480**

DD – Tratamento com Traçador Radioativo; \*, Dose Recomendada de Glifosato; \*\*, 4 vezes a Dose Recomendada de Glifosato.

Após esse período, no estágio de crescimento (V4), três plantas, previamente selecionadas quanto à sanidade e uniformidade, foram transferidas para cada vaso que já continha 3 L de solução nutritiva Hoagland e Arnon (1950), a 100% (Quadro 4). A esta solução foi adicionada a solução de zinco radioativo, <sup>65</sup>Zn, correspondendo a concentração de 0,22 g L<sup>-1</sup> para cada tratamento. Esta etapa do experimento foi realizada no Laboratório de Radioquímica, Área Controlada 1, AC-1.

Na data do transplante, as plantas receberam dose de 370 g L<sup>-1</sup> e 1480 g L<sup>-1</sup> do princípio ativo do equivalente ácido de glifosato. Foi aplicado o herbicida Roundup Original DI® em três datas distintas após a semeadura. As aplicações foram realizadas em intervalos de 8 dias com dosagem recomendada do herbicida a 1,5 L/100 L de água. Utilizou-se um borrifador de gota fina com capacidade de 500 mL. Essa dose foi aplicada em uma vazão correspondente a, aproximadamente, 0,04 litro/min.

O intervalo de coleta das plantas foi a cada 7 dias, coletando uma planta por tratamento. No final de 25 dias em solução nutritiva com traçador radiativo, foi feita a última coleta das plantas. As plantas apresentavam em média seis folhas completamente expandidas (V6).

Cada planta foi acondicionada em porta-amostras de polietileno com capacidade de 5 mL.

## 4.2 Parte 2: Análises Químicas

Esta Parte 2, Análises Químicas, compreendeu do controle de qualidade do método  $k_0$ , de toda a execução das análises por ativação neutrônica, determinando as concentrações do zinco – Análise 1, e de atividade de radioisótopo  $^{65}\text{Zn}$  – Análise 2.

### 4.2.1 Controle de Qualidade do Método $k_0$

Para verificar a eficiência do método  $k_0$  em determinar a concentração elementar em diversas matrizes, foram analisadas duas amostras de referência utilizando a mesma metodologia empregada nas amostras de milho tolerante ao glifosato. Foi aplicado o teste  $E_n$  – score (ISO 13528, 2005), que considera, nos cálculos, a incerteza expandida dos valores experimentais e dos certificados com um fator de cobertura  $k=2$ . Isso significa que os resultados verdadeiros têm 95% de probabilidade de estarem dentro do intervalo de confiança (ISO 13528, 2005; SALLES et al., 2016).

As seguintes equações foram utilizadas no cálculo do  $E_n$  – score:

$$E_n = \frac{\text{Valor}_{\text{exp}} - \text{Valor}_{\text{certificado}}}{\sqrt{U_{\text{exp}}^2 + U_{\text{certificado}}^2}} \quad (1)$$

onde,  $exp$  significa experimental e  $U_{exp}$  e  $U_{certificado}$  são as incertezas expandidas, com  $k=1$ , dos resultados experimentais e valores certificados,  $k=2$ , respectivamente.

$$U_{\text{exp}} = 2 \cdot U_{\text{exp\_Comb}} \quad \text{onde: } U_{\text{exp\_Comb}} = \sqrt{u_{\text{AREA}}^2 + u_{\text{método}}^2} \quad (2)$$

$u_{\text{AREA}}$  é a incerteza da área líquida do pico gama em estudo e  $u_{\text{método}}$  é a incerteza total do método  $k_0$  estabelecido no CDTN como sendo de 3,5%.

A avaliação do desempenho do método é realizada pelo critério  $|E_n| \leq 1$ , significando que o desempenho foi satisfatório, ou seja, os resultados produzidos pelo método estão dentro do intervalo de confiança de 95% de probabilidade. Se  $|E_n| > 1$ , indica que o desempenho do método foi insatisfatório.

#### 4.2.2 Análise 1 – Por Ativação Neutrônica

Por esta técnica, para determinação da concentração de zinco, foram analisadas todas as partes da planta milho, incluído as sementes de milho e o substrato Bioplant<sup>®</sup>.

##### 4.2.2.1 Preparo das Plantas de Milho

Para determinar as concentrações de zinco nas plantas de milho foi feita uma subdivisão da planta em folhas centrais, medianas e baixas, pois estudos na área mostram que são feitas apenas a coleta do terço central da base da espiga (MALAVOLTA et al., 1997).

Assim, as plantas dos dois experimentos com seus respectivos tratamentos foram separadas em raiz, caule, folhas centrais, medianas e baixas, juntamente com as amostras de sementes milho que foram acondicionadas em sacos plásticos identificados e encaminhados ao laboratório de preparação das amostras do CDTN/CNEN.

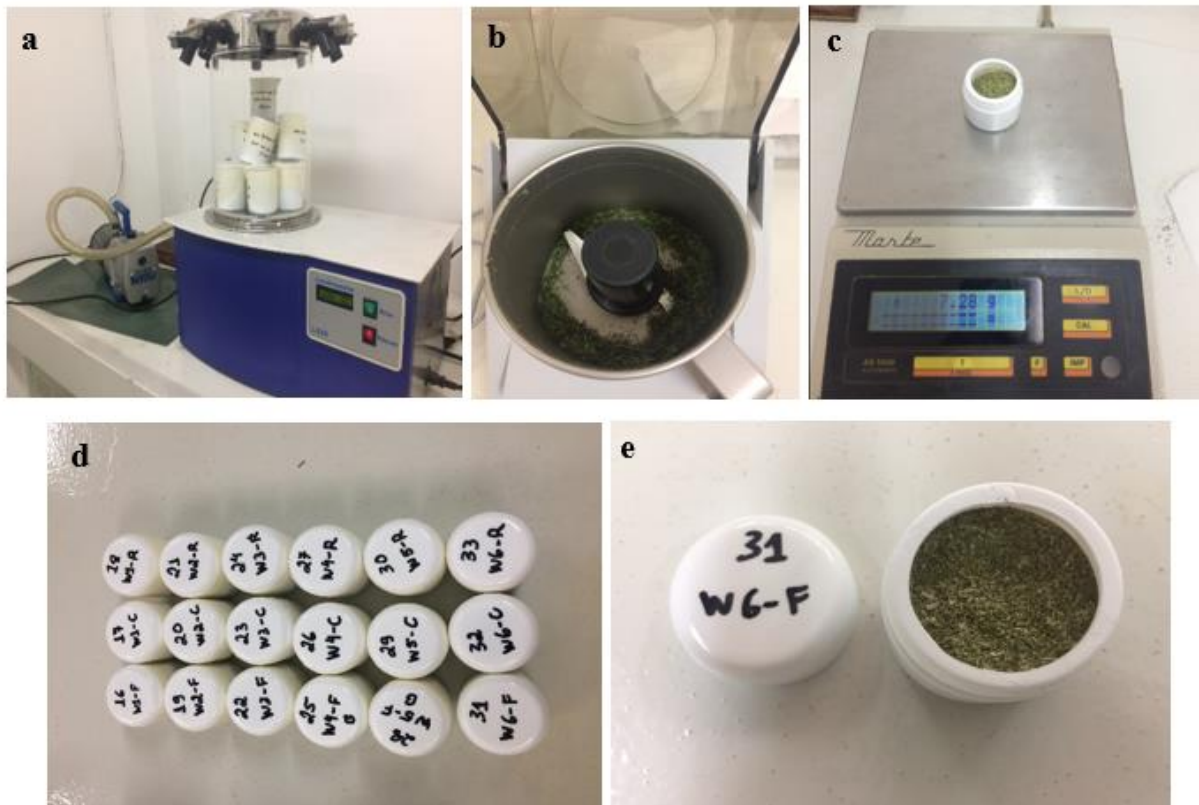
##### *Raiz, caule e folhas*

As amostras foram lavadas em água corrente e em água deionizada para retirada de qualquer partícula aderida, secadas, pesadas e, sem seguida, acondicionadas em béquer de teflon e levadas ao freezer (Figura 9).



**Figura 9.** Amostras sendo: (a) secas; (b) pesadas; (c) acondicionadas em béquer de Teflon.  
**Fonte:** Silva, 2019.

Após as amostras estarem no freezer (mínimo de 12 horas a  $-10^{\circ}\text{C}$ ), elas foram liofilizadas e pesadas para se obter o percentual de umidade. As amostras de raiz, caule e folhas foram trituradas em moinho do tipo Grindomix GM 200 e acondicionadas em frasco com tampa (Figura 10).



**Figura 10.** Amostras sendo: (a) liofilizadas; (b) trituradas; (c) pesadas; (d) acondicionadas em frasco com tampa; (e) amostra de folhas medianas do tratamento 6 – Experimento: Ensaio em Solução Nutritiva. **Fonte:** Silva, 2019.

### *Sementes de milho*

As sementes de milho foram lavadas em água corrente e em água deionizada e, em seguida, colocadas para secar em temperatura ambiente até atingir peso constantes, pesadas e acondicionadas em frasco com tampa.



**Figura 11.** Sementes de milho.  
**Fonte:** Silva, 2019.

#### 4.2.2.2 Preparo do Substrato Bioplant®

O substrato Bioplant® foi colocado para secar em temperatura ambiente, até atingir peso constante, sendo, então, pesado e acondicionado em frasco com tampa.



**Figura 12.** Substrato Bioplant®. **Fonte:** Silva, 2019.

#### 4.2.2.3 Preparação das Amostras para a Análise por Ativação Neutrônica

Alíquotas, de aproximadamente 200 mg de cada (raiz, caule e folhas), foram pesadas e transferidas para porta-amostras de polietileno adequados. Esses porta-amostras possuem alta resistência térmica e são de elevada pureza química.

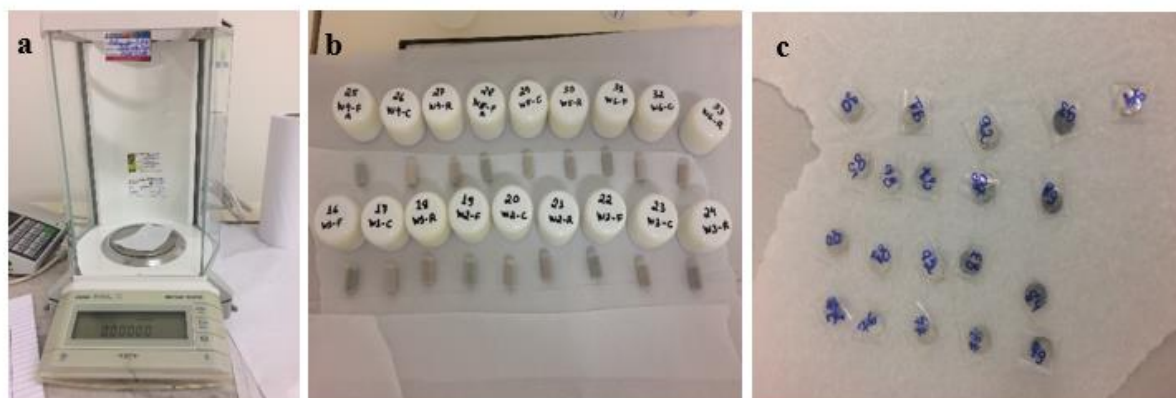
As amostras de sementes de milho foram pesadas e acondicionadas nos porta-amostras, com massas em torno de 4 g. Esta massa da amostra foi de acordo com o previsto para a aplicação da metodologia de análise de amostras grandes, recém-estabelecida no CDTN (MENEZES e JACÍMOVIĆ, 2014).

Para as amostras de substrato Bioplant® foram pesadas alíquotas de aproximadamente 600 mg, as quais também foram transferidas para porta-amostras de polietileno.

Acompanhando as amostras em estudo foram utilizados monitores de fluxos de nêutrons, de liga certificada de Al-Au (0,1%), IRMM-530RA, provenientes do Instituto de Materiais de Referência e Medidas (IRMM, *Institute for Reference Materials and Measurements*), Bélgica. Os monitores têm forma de disco com 0,6 mm de diâmetro e 1 mm de espessura (MENEZES et al., 2006 a, b).

A Figura 13 mostra as diversas etapas realizadas no preparo das amostras para a análise.





**Figura 13.** Amostras sendo: (a) pesadas; (b) acondicionadas em tubos menores para irradiação; (c) monitores de ouro sendo pesados para irradiação. **Fonte:** Silva, 2019.

Na determinação da concentração do micronutriente zinco na cultura do milho pela técnica de análise por ativação neutrônica (método  $k_0$ ), amostras de cada parte do vegetal (folhas centrais, medianas e baixas, caule e raiz), amostras de sementes de milho e amostra do substrato Bioplant<sup>®</sup> foram irradiadas na mesa giratória do reator nuclear de pesquisa TRIGA MARK-I IPR-R1, localizado no CDTN/CNEN, totalizando 77 amostras.

As amostras acondicionadas em porta-amostras de polietileno foram colocadas em outro tipo de recipiente de polietileno, os chamados “coelhos”, os quais têm uma capacidade máxima de 3 porta-amostras e 4 monitores IRMM-530R.

As amostras foram irradiadas por um período de 8 horas na mesa giratória em diversas posições de irradiação, estando o reator operando a 100 kW. Para os cálculos de concentração, foram usados os valores dos parâmetros espectrais  $f$  e  $\alpha$ , 22,32 e - 0,0022 respectivamente, e o fluxo de nêutrons térmicos é  $6,35 \times 10^{11}$  nêutrons  $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$  (MENEZES e JACIMOVIC, 2014).

Após a irradiação foi esperado um tempo de decaimento de 1 dia a 1 semana para elementos de radionuclídeos de meias vidas médias (12 e 72 horas) e 20 dias para radionuclídeos de meias vidas longas e, em seguida, foi executada a espectrometria gama em um detector coaxial HPGe, com 50% de eficiência nominal, modelo GC 5019 CANBERRA, associado a eletrônica apropriada e ao programa de aquisição de espectros Genie 2K, CANBERRA. As contagens foram realizadas nas energias gama características dos radioisótopos produzidos. Para a análise dos espectros gama, foi usado o programa HyperLab 2009.1 (Hyperlabs, 2009) e para o cálculo da concentração elementar, foi usado o programa Kayzero for Windows<sup>®</sup> v. 2.46 (2011), programas comentados anteriormente no item 3.1.6.

#### 4.2.3 Análise 2 – Atividade Total do Radioisótopo $^{65}\text{Zn}$

Para a determinação da atividade total do  $^{65}\text{Zn}$ , a planta foi subdividida em (folhas centrais, medianas, baixeras, caule e raiz) e acondicionadas em porta-amostras com capacidade de 5 mL. Em seguida foram levadas ao espectrômetro gama composto de detector coaxial HPGe, com 50% de eficiência nominal, modelo GC 5019, CANBERRA, associado a eletrônica apropriada e ao programa de aquisição de espectros Geni 2K, CANBERRA.

Para alcançar uma estatística de contagem adequada, menor do que 5%, cada amostra foi submetida à espectrometria gama por 4000 s a uma distância de 2 cm amostra-detector.

A análise dos espectros gama foi realizada utilizando o programa HyperLab 2009.1 (Hyperlabs, 2009).

### 4.3 Análises Estatísticas

#### *Avaliação estatística do experimento*

Para análise estatística dos resultados obtidos neste trabalho foi utilizado o software SISVAR (FERREIRA, 2011). Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste Scott knott ao nível de 5% de probabilidade.

## CAPÍTULO 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo, inicialmente é apresentada a verificação da eficiência do método analítico aplicado na determinação do zinco. Em seguida, serão apresentados os resultados obtidos dos ensaios, como as características agronômicas verificadas e valores da concentração elementar de zinco e da atividade do  $^{65}\text{Zn}$ , quando for o caso, assim como as avaliações estatísticas e discussões.

Para análise estatística dos resultados obtidos neste trabalho foi utilizado o software SISVAR (FERREIRA, 2011). No Anexo 1 se encontra um exemplo de todo o desenvolvimento dessa análise estatística.

### 5.1 Controle de Qualidade do Método $k_0$

Para verificar a eficiência do método  $k_0$ , foram analisadas duas amostras de referência, sendo uma amostra vegetal de folhas de tomate (SRM 1573a, *Tomato Leaves*) e outra de sedimento (BCR – 320R, *Channel Sediment*). As Tabelas 1 e 2 trazem os resultados experimentais obtidos, os valores certificados e o resultado do teste estatístico aplicado,  $E_n$  – score.

Observou-se que todos os valores obtidos para  $E_n$  são menores do que 1, indicando que o método apresentou desempenho satisfatório. Isso significa que os resultados produzidos pelo método estão dentro do intervalo de confiança de 95% de probabilidade.

**Tabela 1.** Resultados experimentais e os valores certificados para SRM 1573a, *Tomato Leaves*, e avaliação estatística,  $E_n$ -score.

Elementos	SRM 1573a		$E_n$ -score
	Resultados Experimentais	Valores Certificados	
	$k=1$	$k=2$	
	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	
Ca	47180 ± 1922	50500 ± 900	0,84
Co	0,55 ± 0,02	0,57 ± 0,02	0,43
Fe	378 ± 12	368 ± 7	0,41
K	27190 ± 492	27000 ± 500	0,17
Na	133 ± 2	136 ± 4	0,49
Rb	15 ± 1	14,89 ± 0,27	0,22
Sb	0,063 ± 0,003	0,063 ± 0,006	0,03

**Tabela 2.** Resultados experimentais e valores certificados para BCR-320R, *Channel Sediment*, e avaliação estatística,  $E_n$ -score

Elementos	BCR-320R		$E_n$ -score
	Resultados Experimentais	Valores Certificados	
	$k=1$	$k=2$	
	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	
As	24 ± 1	21,7 ± 2	0,94
Co	11 ± 1	9,7 ± 0,6	0,61
Cr	67 ± 6	59 ± 4	0,58
Fe	27825 ± 6833	25700 ± 1300	0,28
Hg	1,01 ± 0,07	0,85 ± 0,09	0,95
Sc	6 ± 1	5,2 ± 0,4	0,21
Th	6 ± 2	5,3 ± 0,4	0,08
U	1,6 ± 0,5	1,56 ± 0,2	0,00
Zn	352 ± 124	319 ± 20	0,13

## 5.2 Experimento 1: Ensaio em Solução Nutritiva

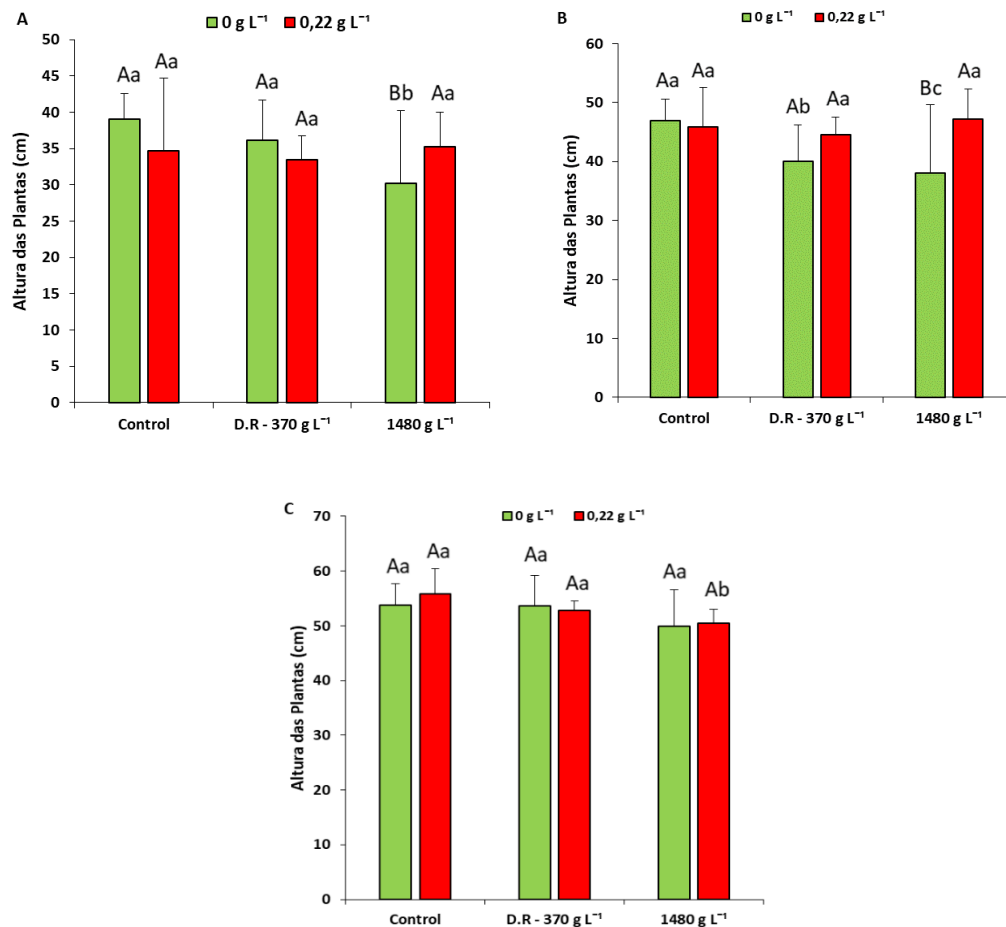
### 5.2.1 Características Agronômicas

#### *Altura das plantas (ALP)*

Aos 35 dias após o plantio (Figura 14A) executou-se a primeira medição, contudo nesse período não foi realizado nenhuma aplicação do herbicida glifosato. Aos 45 dias após o plantio, (Figura 14B) houve uma diferença estatística para as doses de zinco em relação a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> de glifosato. Verificou-se um acréscimo de 20% na altura das plantas.

Em contrapartida, aos 60 dias após o plantio, (Figura 14C), para a dose recomendada de 0,22 g L<sup>-1</sup> de zinco obteve-se uma ligeira redução significativa no crescimento em relação a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> de glifosato. Ferreira et al (2006) observaram que doses de 72 g ha<sup>-1</sup> de glifosato foram suficientes para proporcionar redução no crescimento do arroz. Já na cultura do feijão, Lunkes et al (1998) notaram que no estádio V3 foi o mais sensível a subdoses de glifosato e nessa fase a subdose de 21,6 g ha<sup>-1</sup> reduziu o rendimento do feijoeiro. Por outro lado, na cultura da soja, Ellis e Griffin (2002) analisaram que subdoses de 9 a 140 g ha<sup>-1</sup> de glifosato não proporcionaram reduções significativas na produção desta cultura. De qualquer forma, tem havido prejuízo utilizando-se subdoses de glifosato em tomate (FIGUEIREDO et al., 2007), maracujá (WAGNER JÚNIOR et al., 2008), eucalipto (TUFFI et al., 2007),

pêssego (TUFFI et al., 2006) e algodão (YAMASHITA e GUIMARÃES, 2005) entre outras. Observou-se que com relação as doses de zinco não houve interação significativa nas alturas das plantas de milho. Os resultados obtidos neste experimento são discordantes de Souza et al (1985) que obtiveram plantas mais altas com a aplicação de zinco. Os mesmos autores pesquisaram diferentes doses de zinco e de fósforo, mostrando o sinergismo entre os nutrientes.



**Figura 14.** Altura das plantas com 35 dap (A), 45 dap (B) e 60 dap (C) em plantas de *Zea mays*. Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

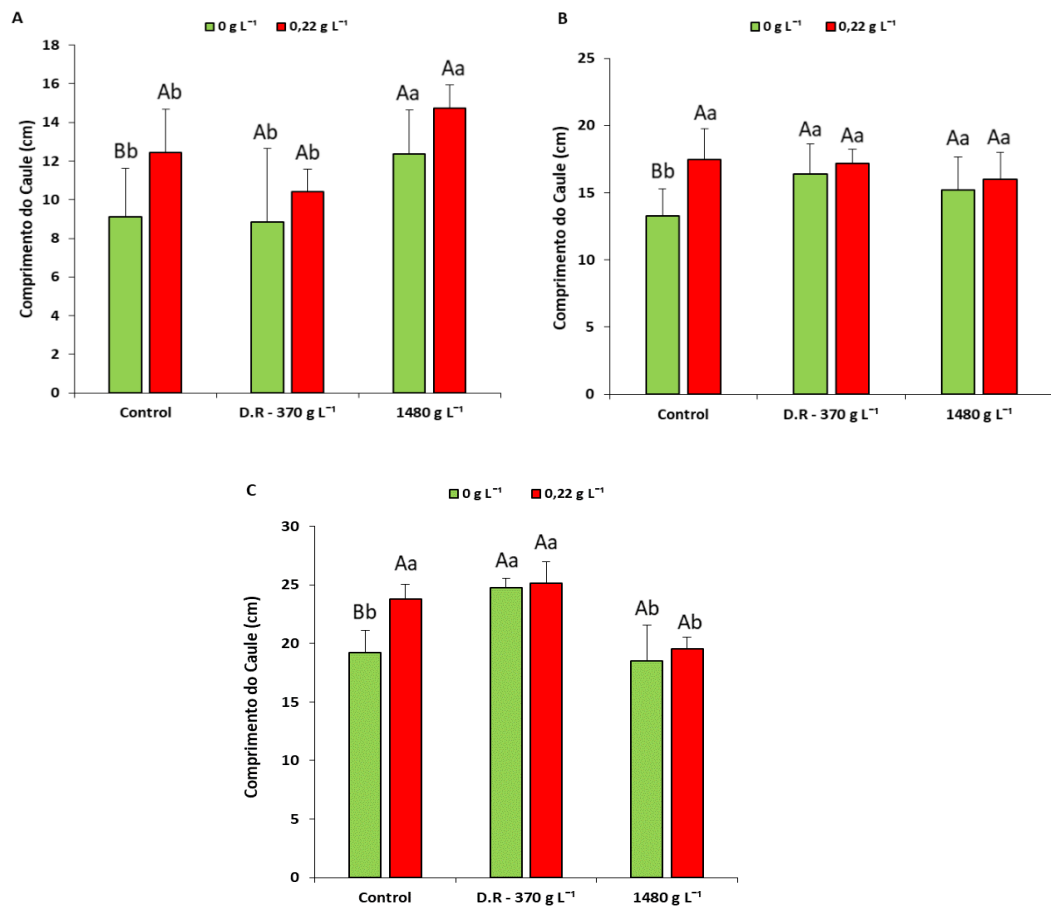
#### *Comprimento do caule (CC)*

Para o comprimento do caule das plantas de milho verificou-se que houve diferença significativa em relação as doses de zinco com o tratamento 0 g L<sup>-1</sup> do herbicida (Figura 15A). Notou-se que com o aumento das doses de zinco houve um aumento do comprimento do caule. Isso era de se esperar, pois o zinco interfere diretamente no crescimento do mesmo. Esses dados corroboram com os resultados obtidos por Igue et al. (1962). Resultados

semelhantes foram obtidos por Furlani e Furlani (1996), em solução nutritiva, que constataram comprimento do caule elevado com o uso de fontes de zinco. Os resultados obtidos neste experimento corroboram também com os de Barbosa Filho (2001) que verificaram maior comprimento de internódio devido ao zinco, e de Thorne, (1957) e Dechen et al (1991) que relacionaram o zinco com o desenvolvimento da planta, pelo controle da produção de importantes reguladores de crescimento.

Aos 45 dias após o plantio, (Figura 15B) verificou-se uma diferença significativa entre as doses do glifosato em relação a testemunha (0 g L<sup>-1</sup> zinco). Observou-se que com a aplicação do produto obteve-se um crescimento maior das plantas de milho, em relação a testemunha

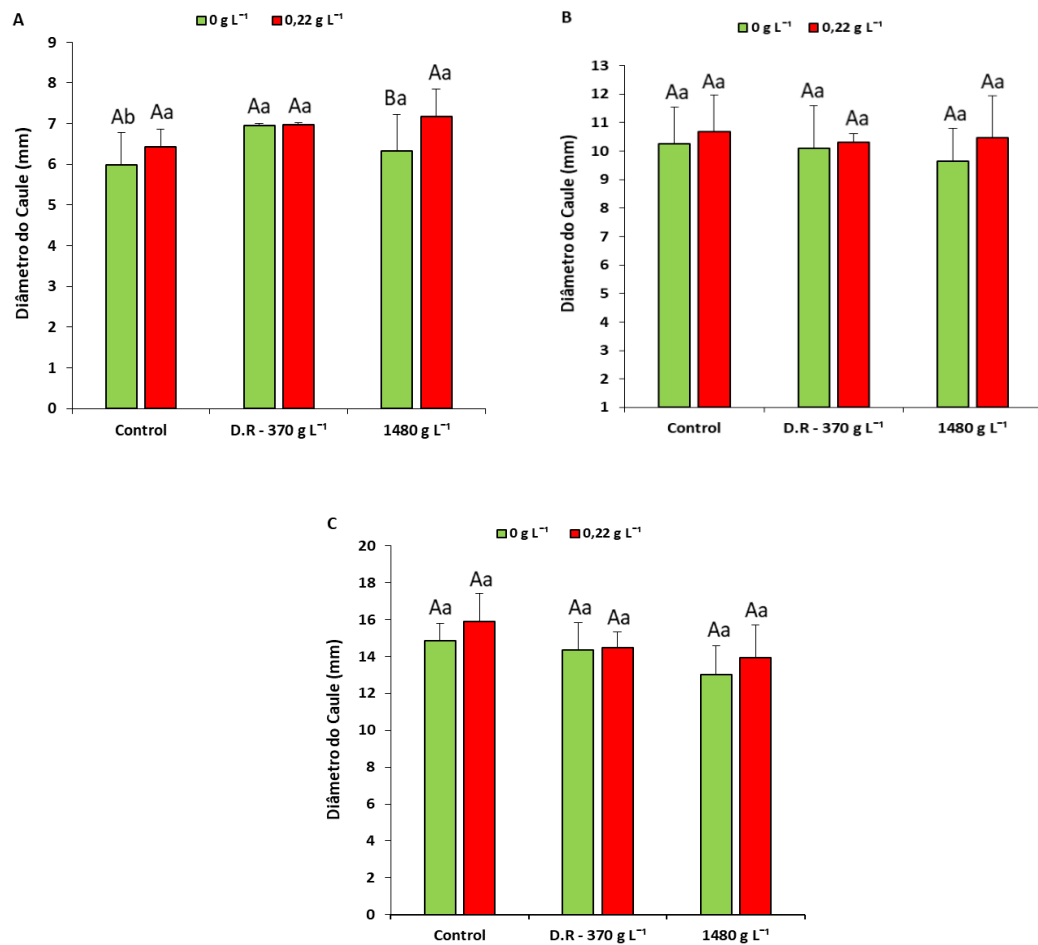
Entre os tratamentos com zinco, ocorreram diferenças para o comprimento da planta, sucedendo uma redução para a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> do herbicida, aos 60 dias após o plantio (Figura 15C). Isso mostra que o comprimento do caule foi afetado pelas doses de zinco e pelas doses de glifosato



**Figura 15.** Comprimento do caule com 35 dap (A), 45 dap (B) e 60 dap (C) em plantas de *Zea mays*. Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

#### *Diâmetro do caule (DC)*

Observou-se que nos primeiros 35 dias após o plantio, houve diferença significativa para o parâmetro biométrico avaliado (Figura 16A). Considere-se ainda que nessa primeira avaliação não foi realizada a aplicação do herbicida. Aos 45 e 60 dias, observou-se que, independentemente das doses de zinco e das concentrações do glifosato, não houve diferenças estatística entre os tratamentos (Figura 16A, 16B). Resultados discordantes foram obtidos por Prado et al. (2008) que observaram que o Zn promoveu maior diâmetro da cultura do milho cultivado em casa de vegetação.

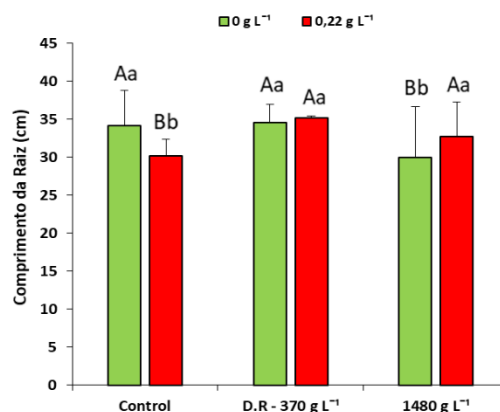


**Figura 16.** Diâmetro do caule com 35 dap (A), 45 dap (B) e 60 dap (C) em plantas de *Zea mays*. Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

#### *Comprimento da raiz (CR)*

A avaliação do comprimento das raízes das plantas de milho foi realizada no final do experimento, aos 60 dias após o plantio (Figura 17). A análise de variância revelou que ocorreu diferença significativa para a dose controle (0 g L<sup>-1</sup>) de zinco e para a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> de glifosato. Observou-se uma redução do crescimento da raiz na ausência de zinco, para a maior dose do herbicida glifosato. O crescimento também foi maior com a presença de zinco, na medida em que as doses de glifosato aumentaram. Portanto, houve uma importante e significativa interação entre os fatores.





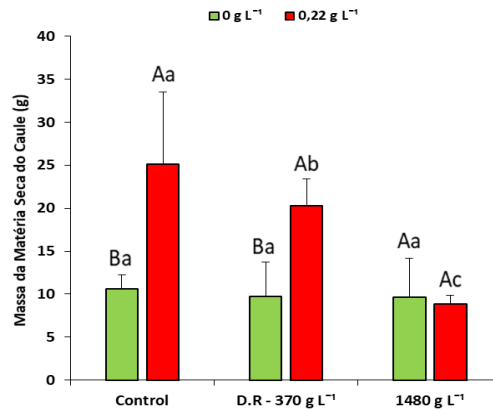
**Figura 17.** Comprimento da raiz das plantas de milho (cm). Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

Dentro desse contexto, a molécula de glifosato, por ser um derivado de glicina (um aminoácido essencial presente nas plantas), não é percebida pelas plantas como um agressor em potencial e, portanto, normalmente é muito pouco exsudada pelas raízes, o que foi demonstrado por Coupland e Peabody (1981) que avaliaram a quantidade de glifosato exsudado pelas raízes após aplicação sobre plântulas de gramínea. Mantendo-as em laboratório com as raízes em água deionizada, esses autores observaram que apenas 0,36% da dose aplicada sobre as mesmas foi exsudado pelas raízes. No caso da solução do solo, essa pequena concentração liberada seria adsorvida pelos colóides e íons metálicos presentes na solução e decomposta por microrganismos, ou seja, a concentração na solução do solo seria praticamente nula. Outro trabalho nessa linha de pesquisa foi conduzido por Rodrigues et al. (1982) que verificou em casa de vegetação, uma pequena interferência no desenvolvimento das plantas de milho e soja quando se empregou a dose de 5,04 kg ha<sup>-1</sup> de equivalente ácido. Em outro trabalho, Souza et al (1998), não foi observado qualquer prejuízo ao desenvolvimento das plântulas, avaliado através do comprimento de raiz e produção de biomassa.

#### *Massa da matéria seca do caule (MMSC)*

Verificou-se que a matéria seca do caule é maior com as concentrações de zinco nas doses controle e de 370 g L<sup>-1</sup> do glifosato, assim, a dosagem de 1480 g L<sup>-1</sup> do herbicida, interferiu significativamente nessa variável (Figura 18). Estes resultados evidenciam o efeito benéfico do zinco e as doses ideais recomendadas do produto glifosato para o desenvolvimento das plantas de milho. Vasconcellos et al. (1998) e Daynard et al. (1969)

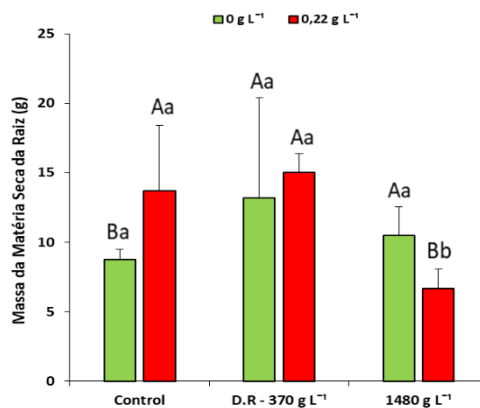
relatam que no caule das plantas de milho, o acúmulo de matéria seca é no início, apresentando considerável incremento a partir dos 30 dias após a emergência.



**Figura 18.** Massa da matéria seca do caule (g). Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

#### *Massa da matéria seca da raiz (MMSR)*

Com relação a massa da matéria seca da raiz observou-se uma redução significativa para a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> do herbicida glifosato, na presença de zinco. Assim, pode-se verificar que a alta dosagem do produto interferiu negativamente na produção da matéria seca da raiz. Resultados significativos também foram observados na ausência de zinco, com o aumento das doses do herbicida glifosato. Observou-se que na ausência de zinco, o herbicida glifosato estimulou o aumento na massa de matéria seca da raiz (Figura 19).

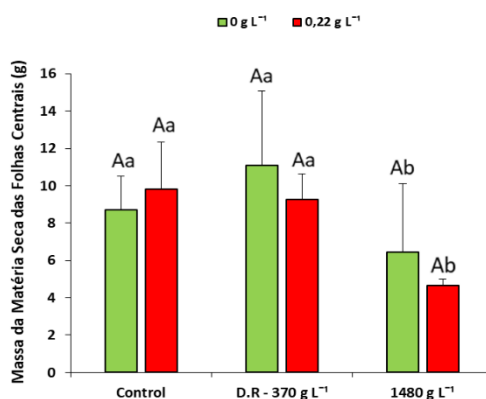


**Figura 19.** Massa da matéria seca da raiz (g). Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

### Massa da matéria seca das folhas (MMSF)

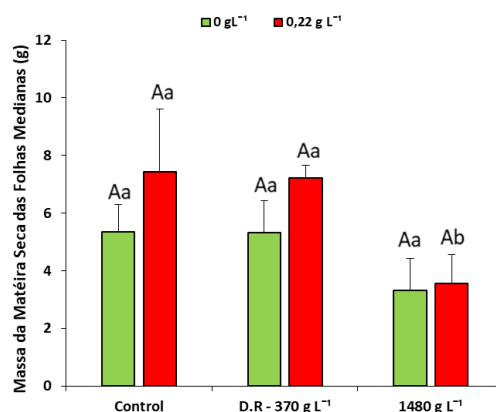
Para a avaliação da massa matéria seca das folhas de milho ocorreu uma subdivisão, separando as folhas centrais, medianas e baixeras. Após essa análise, obteve-se também a matéria seca das folhas totais e da parte aérea.

Na Figura 20, nota-se a produção de matéria seca das folhas centrais (MMSFC) de milho. A análise de variância mostrou que independente das concentrações de zinco, a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> glifosato interferiu negativamente nessa variável.



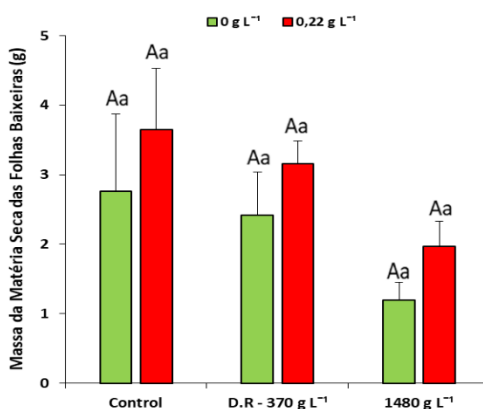
**Figura 20.** Massa da matéria seca das folhas centrais (g). Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

A produção da massa matéria seca das folhas medianas (MMSFM) das plantas de milho foi influenciada significativamente. Nota-se que para a dose controle e a dose recomendada do glifosato seus valores foram superiores, em relação a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> do produto, para o tratamento com zinco. O desdobramento dessa interação está representado na Figura 21.



**Figura 21.** Massa da matéria seca das folhas medianas (g). Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

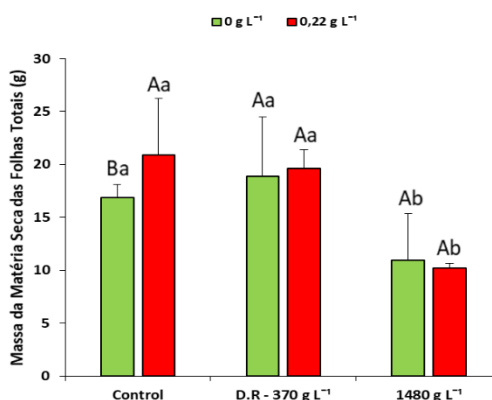
Na Figura 22 ressalta-se a produção da massa matéria seca das folhas baixas (MMSFB) do milho. A análise de variância mostrou que não houve diferença estatística entre as doses do produto e as concentrações de zinco. Vasconcelos et al. (1998) observaram que o período em que ocorreu considerável acúmulo de massa foliar foi dos 35 aos 56 dias após emergência.



**Figura 22.** Massa da matéria seca das folhas baixas (g). Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

Para a massa da matéria seca das folhas totais (MMSFT), verifica-se novamente que as altas concentrações do produto interferiram nessa variável. Mostrando que a dose elevada do produto compromete negativamente na matéria seca das folhas totais de milho (Figura 23). Estes dados não concordam com os de Vellini et al. (2008) que, trabalhando com eucalipto,

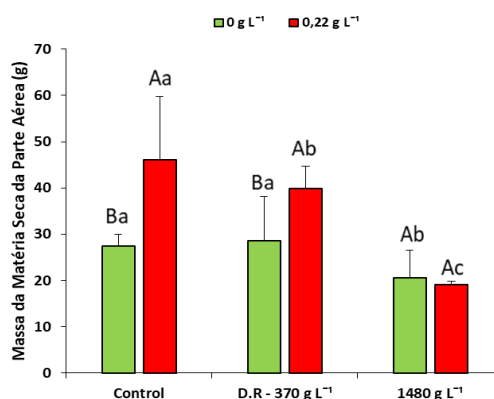
obtiveram incremento de 59% na produção de massa seca de folhas com a subdose de 3,1 g ha<sup>-1</sup> de glifosato.



**Figura 23.** Massa da matéria seca das folhas totais (g). Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

#### *Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA)*

Observou-se que o herbicida glifosato interfere negativamente na produção da matéria seca da parte aérea, independente das concentrações de zinco. Nota-se que, para a dose controle do herbicida, um aumento de 54% em relação a dose recomendada do produto e um aumento de 71% em relação a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> do herbicida, indicam que o glifosato prejudica na produção da matéria seca da parte aérea do milho, em solução nutritiva. Resultados semelhantes foram obtidos por Lunkes et al. (1998) e Ferreira et al. (2006), no feijoeiro e no arroz irrigado, respectivamente. Vellini et al. (2008) observaram em soja convencional um incremento da produção de matéria seca da parte aérea e massa seca total de 29% e 22% respectivamente, para a subdose de 18 g ha<sup>-1</sup> de glifosato.



**Figura 24.** Massa da matéria seca da parte aérea (g). Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

O glifosato é um composto inibidor da enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fofato síntese (EPSPs), que atua na via do ácido chiquímico. Aproximadamente 35% da massa seca de uma planta é representada por derivados da via do ácido chiquímico e 20% do carbono fixado pela fotossíntese segue essa rota metabólica (KRUSE et al., 2002). Assim, a interferência nessa importante via pode ter contribuído na diminuição das plantas, como foi visto nesta pesquisa para a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> do herbicida glifosato.

### 5.2.2 Avaliações químicas

A Tabela 3 mostra todos os resultados da concentração elementar do micronutriente zinco determinados nas amostras de folhas (centrais, medianas e baixeras), caule e raiz.

**Tabela 3.** Concentrações de zinco determinadas nas amostras de plantas de milho do Experimento 1: Ensaio em Solução Nutritiva.

Doses	Tratamentos (g L <sup>-1</sup> )					
	TH1	TH2	TH3	TH4	TH5	TH6
	0	0	0	0,22	0,22	0,22
Glifosato	-	-	-	0	370	1480
Amostras	Concentração de Zn (mg kg <sup>-1</sup> ), peso seco					
Folhas Centrais	14 ± 1	76 ± 3	21 ± 1	154 ± 6	95 ± 4	21 ± 1
Folhas Medianas	9 ± 1	14 ± 1	33 ± 1	10 ± 1	15 ± 1	24 ± 1
Folhas Baixeras	66 ± 3	17 ± 1	78 ± 3	11 ± 1	17 ± 1	25 ± 1
Caule	13 ± 1	13 ± 1	26 ± 1	133 ± 5	18 ± 1	93 ± 3
Raiz	43 ± 2	52 ± 2	43 ± 2	70 ± 3	78 ± 3	56 ± 2

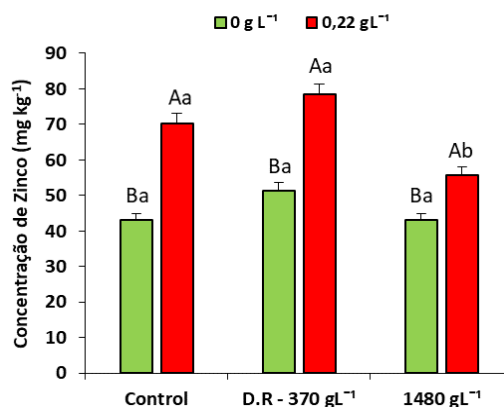
### *Concentração de Zn na raiz*

Quanto a concentração de zinco nas raízes, o seu teor foi mais elevado com a dose recomendada, o que já era de se esperar, mesmo que os valores obtidos neste experimento tenham sido mais elevados que o nível crítico de  $12 \text{ mg kg}^{-1}$  estabelecido por Rosolem e Franco (2000).

É interessante notar que os teores de Zn nas raízes foram menores nos tratamentos sem Zn na solução nutritiva, mas não são considerados deficientes de acordo com os autores citados acima. Sendo assim, o sistema radicular do milho parece ser pouco sensível a deficiência de Zn, uma vez que, mesmo nesta situação, o seu crescimento foi esperado.

Em relação as doses de glifosato, observou-se que houve uma redução de 58,4% em comparação as doses de 370 e 1480  $\text{g L}^{-1}$  do herbicida (Figura 25). Portanto, isso demonstra que a absorção de Zn foi negativamente influenciada pelo glifosato na dose de 1480  $\text{g L}^{-1}$ . Romheld (2007), que realizou uma pesquisa de campo no Brasil e nos Estados Unidos, mostra que frequentes aplicações de glifosato podem induzir a deficiência de Fe, Mn e Zn em diferentes espécies agrícolas. Esses efeitos têm sido atribuídos a formação de complexos insolúveis entre o glifosato e alguns cátions, como por exemplo, o zinco (NILSSON 1985; WILLS e MCWHORTER, 1985; THELEN et al., 1995).

Isto pode ocorrer, porque o glifosato possui grupos químicos com elevada afinidade por metais (BARJA et al., 2001; UNDABEYTIA et al., 1996), o que possibilita a formação desses complexos que também podem ser formados nos tecidos vegetais (DE RUITER et al., 1996). Assim, a acumulação do glifosato em raízes poderia limitar a translocação de nutrientes metálicos para a parte aérea, devido à formação desses complexos, imobilizando os nutrientes nesses tecidos.



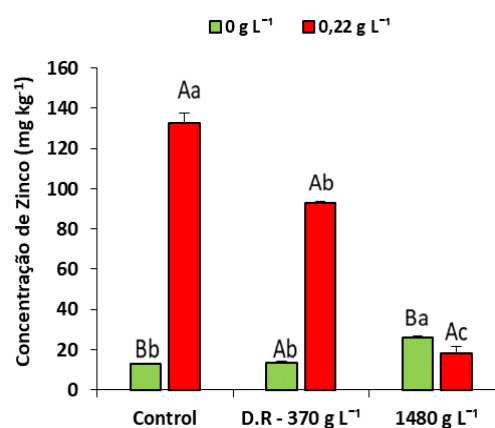
**Figura 25.** Concentração de zinco na matéria seca da raiz ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), em função das doses de glifosato e doses de Zn. Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

Todavia, a natureza desse antagonismo entre nutrientes e o glifosato ainda não é totalmente conhecida. Para os micronutrientes catiônicos, que é o caso do zinco, o antagonismo com o glifosato possivelmente está relacionado a formação de complexos insolúveis entre o glifosato e esse elemento mineral (HALL et al., 2000; BERNARDS et al., 2005).

#### *Concentração de Zn no caule*

Em relação ao teor de zinco no caule, verifica-se uma concentração elevada de zinco para os tratamentos controle e para a dose de 370 g L<sup>-1</sup> de glifosato (Figura 26). Esse elevado aumento no teor desse nutriente, possivelmente é devido ao fato da planta ter se desenvolvido mais, como consta na Figura 18. Os mesmos resultados mostraram que na dose de 1480 g L<sup>-1</sup> de glifosato, ocorre uma redução na massa de matéria seca do caule e uma diminuição da concentração de zinco, como mostra a Figura 26. O mesmo foi constatado por Tuffi et al. (2007) que discutiram que esse comportamento pode ser caracterizado como um efeito da concentração motivado pela redução do crescimento, concordando com os dados obtidos neste trabalho.





**Figura 26.** Concentração de zinco na matéria seca do caule ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), em função das doses de glifosato e doses de Zn. Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

#### *Concentração de Zn nas folhas*

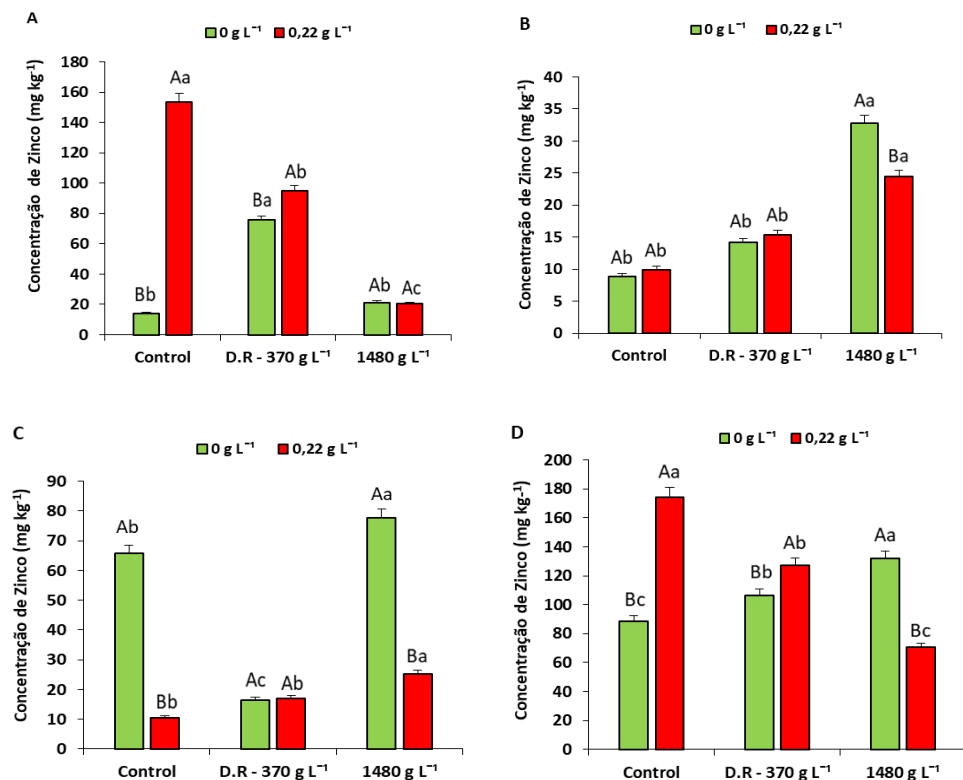
A Figura 27A apresenta o teor de zinco obtido no experimento nas folhas de milho. Observou-se uma concentração de  $154 \text{ mg kg}^{-1}$  de Zn nas folhas centrais de milho, para a dose controle do herbicida glifosato, essa concentração foi bem superior aos outros tratamentos que receberam a aplicação do produto. Isso mostra que o herbicida, independentemente das doses aplicadas, interferiu negativamente na translocação do nutriente para as folhas novas. Ainda considerando a avaliação das folhas centrais de milho, observa-se que com a aplicação do herbicida, houve uma redução de 62% e 88% para as doses de  $370 \text{ g L}^{-1}$  e  $1480 \text{ g L}^{-1}$ , de glifosato, respectivamente. Eker et al (2006) verificaram que a subdose de  $36 \text{ g ha}^{-1}$  de glifosato proporcionou redução de 5,55% no teor de zinco em folhas jovens de girassol.

Em relação as folhas medianas, foram obtidos valores contrários aos obtidos para as folhas centrais de milho. Nota-se uma redução do teor de zinco para a dose controle e para a dose de  $370 \text{ g L}^{-1}$  de glifosato, em comparação com a dose de  $1480 \text{ g L}^{-1}$  (Figura 27B). Parâmetros mostram uma redução de 57% entre as concentrações de zinco para a dose de  $1480 \text{ g L}^{-1}$  de glifosato.

Em relação ao teor de zinco determinado nas folhas baixas do experimento, verifica-se que o glifosato interferiu negativamente na translocação do zinco. Essa redução foi mais significativa para a dose recomendada do herbicida. Observou-se, também, uma concentração de zinco de  $65,9$  e  $77,78 \text{ mg kg}^{-1}$  para a dosagem de 0 e  $1480 \text{ g L}^{-1}$  do produto, em relação à dose controle do elemento. Esse aumento pode ser devido ao fato de ter ocorrido uma redistribuição de zinco através do substrato utilizado e pelas reservas nutricionais presentes

nas sementes de milho. Dados obtidos de Carvalho e Nakagawa (1988) revelam que os nutrientes armazenados na semente exercem função importante no crescimento e desenvolvimento da cultura. Outra hipótese que justifica a redução de Zn para o tratamento controle do herbicida, é o efeito de diluição do micronutriente, com o maior desenvolvimento da planta (Figura 27C).

Com a aplicação do glifosato nas doses estudadas, houve diferenças significativas para o teor de zinco na matéria seca das folhas totais (Figura 27D). Observou-se que a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> de glifosato reduziu o teor total de zinco. Essa redução possivelmente se deve a diminuição no crescimento da planta causada pela aplicação do produto. Para a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> do produto comparada com a dose recomendada, houve uma redução na produção da MMSC, MMSR e MMSFT (Figuras 18, 19, 23). Tal fato pode ser explicado pela possível redução da fotossíntese, quando da aplicação do herbicida.

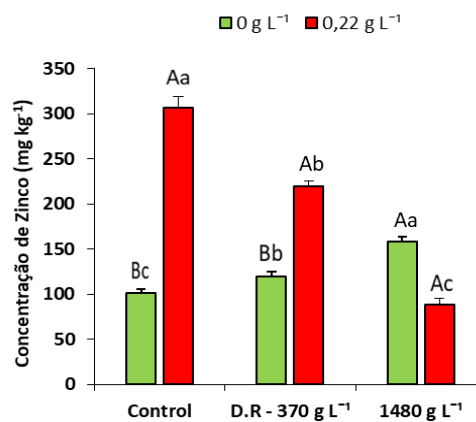


**Figura 27.** Concentração de zinco na matéria seca das folhas centrais (A), medianas (B), baixas (C) e totais (D) (mg kg<sup>-1</sup>), em função das doses de glifosato e doses de Zn. Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

### Concentração de Zn na parte aérea

Em relação à concentração de zinco na parte aérea, verificou-se um teor elevado de zinco para o tratamento controle (Figura 28). Neste sentido, Rosolem e Franco (2000) em experimento com milho cultivado em solução nutritiva, observaram maior teor de Zn na parte aérea das plantas comparado com àquelas que não receberam esse nutriente.

Nota-se que para a dose do produto, a concentração de Zn foi elevada na dose de 1480 g L<sup>-1</sup> do glifosato, devido ao fato de uma redução de crescimento, mostrando que o glifosato interfere negativamente na parte aérea das plantas de milho.



**Figura 28.** Concentração de zinco na matéria seca da parte aérea (mg kg<sup>-1</sup>), em função das doses de glifosato e doses de Zn. Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

### Concentração de zinco no substrato Bioplant<sup>®</sup> e nas sementes de milho

A Tabela 4 traz os resultados de concentração elementar determinados no substrato por meio da AAN, método  $k_0$ .

**Tabela 4.** Concentração dos elementos determinados na alíquota analisada do substrato Bioplant®.

Elementos	Concentração (mg kg <sup>-1</sup> )	Limite de Detecção (mg kg <sup>-1</sup> )	Elementos	Concentração (mg kg <sup>-1</sup> )	Limite de Detecção (mg kg <sup>-1</sup> )
Ag	< 0,3		K	2960 ±109	61
As	< 0,2		La	14 ± 1	0,03
Au	0,0020 ± 0,0004	0,002	Mo	< 1	
Ba	159 ± 29	17	Na	596 ± 21	1
Br	5,4 ± 0,2	0,2	Nd	13 ± 1	1
Ca	< 1400		Rb	9 ± 1	2
Cd	< 1		Sb	0,20 ± 0,01	0,03
Ce	31 ± 1	0,4	Sc	4,0 ± 0,1	0,003
Co	5,3 ± 0,2	0,03	Se	< 1	
Cr	174 ± 6	1	Sm	< 0,01	
Cs	0,40 ± 0,02	0,1	Sr	67 ± 8	29
Cu	< 2	2	Ta	1,00 ± 0,03	0,02
Eu	0,4 ± 0,2	0,01	Tb	0,20 ± 0,01	0,02
Fe	13060 ± 458	35	Th	3,2 ± 0,1	0,1
Ga	< 1		U	< 0,1	
Hf	2,3 ± 0,1	0,1	Zn	89 ± 3	1
Hg	< 17		Zr	105 ± 26	45

&lt;, menor do que

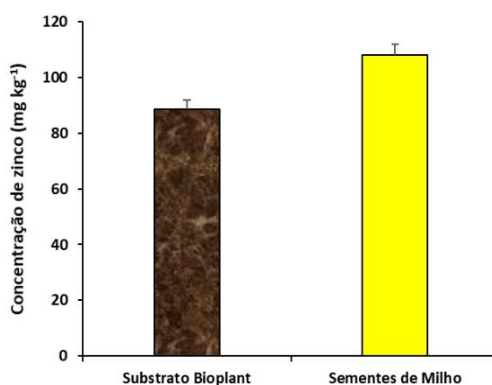
A Tabela 5 apresenta as concentrações elementares determinadas nas sementes de milho analisadas.

**Tabela 5.** Concentração dos elementos determinados nas sementes de milho analisadas.

Elementos	Concentração (mg kg <sup>-1</sup> )	Elementos	Concentração (mg kg <sup>-1</sup> )
Ag	< 0,04	K	3049 ± 107
As	< 0,01	La	< 0,004
Au	< 0,002	Mo	< 0,2
Ba	< 3	Na	14,5 ± 0,5
Br	0,30 ± 0,01	Nd	< 0,6
Ca	< 110	Rb	9,4 ± 0,4
Cd	< 0,2	Sb	< 0,004
Ce	< 0,2	Sc	< 0,001
Co	< 0,01	Se	< 0,1
Cr	< 0,2	Sm	< 0,001
Cs	0,030 ± 0,003	Sr	< 5
Cu	< 0,1	Ta	0,010 ± 0,002
Eu	< 0,004	Tb	< 0,006
Fe	25 ± 2	Th	< 0,01
Ga	< 0,04	U	< 0,01
Hf	< 0,01	Zn	108 ± 4
Hg	< 0,06	Zr	< 7

&lt;, menor do que

As concentrações de zinco de 89 e 108 mg kg<sup>-1</sup> foram determinadas nas amostras de substrato Bioplant<sup>®</sup> e sementes de milho, respectivamente, conforme está mostrado na Figura 29. Como comentado anteriormente, a importância de ter um acúmulo de zinco nas amostras avaliadas, auxilia no crescimento e desenvolvimento inicial das plantas de milho.



**Figura 29.** Concentração de zinco no substrato Bioplant<sup>®</sup> e nas sementes de milho (mg kg<sup>-1</sup>). As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

Sendo assim, as reservas contidas nas sementes são suficientes para as necessidades iniciais da planta, concordando com os resultados obtidos por Stipp e Yamada (1988). Esses mesmos autores comentam que os elementos contidos nas sementes são mobilizados e translocados para as raízes e parte aérea. Apesar da pequena quantidade de nutrientes absorvidos no início do ciclo, as concentrações destes na região do solo que circundam as raízes da planta, geralmente, apresentam serem altas. Após este período inicial, diferenças na absorção e acúmulo de nutrientes começam a surgir devido a fatores intrínsecos e extrínsecos à planta.

## 5.3 Experimento 2: Ensaio em Solo

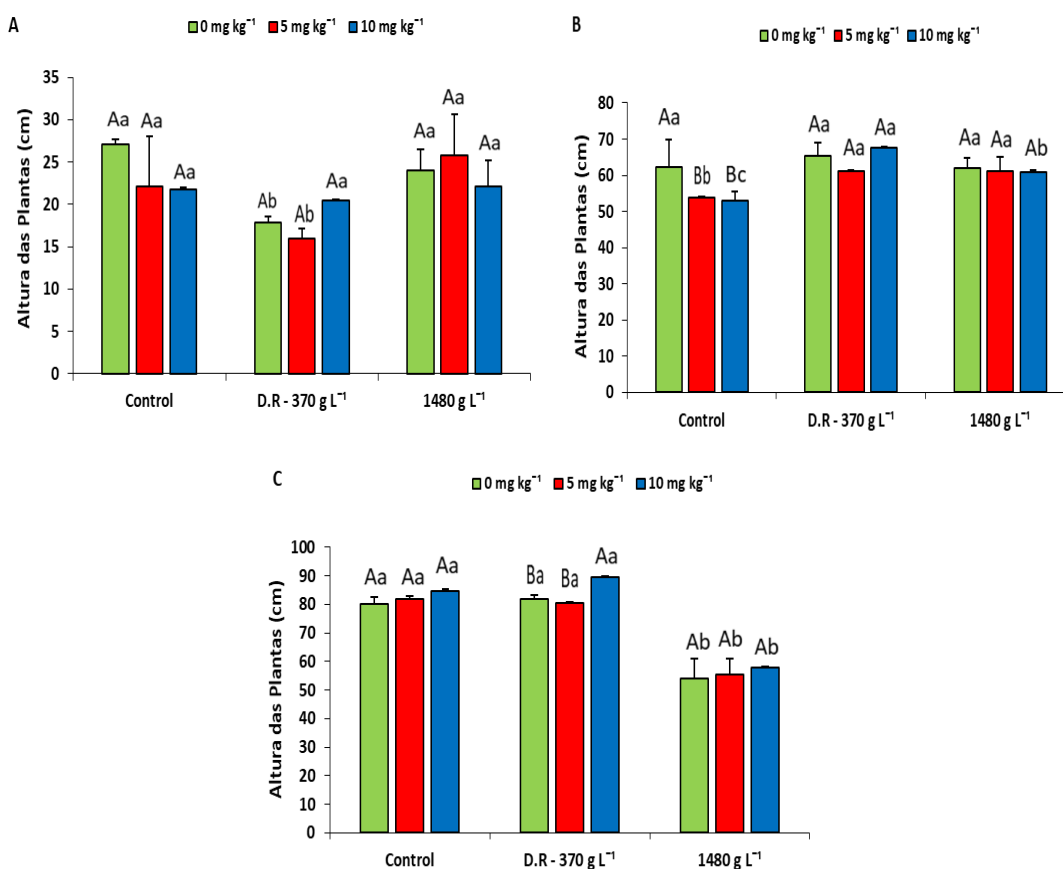
### 5.3.1 Características Agronômicas

#### *Altura das plantas (ALP)*

Aos 20 dias após o plantio, (Figura 30A) foi executada a primeira mediação, contudo nesse período não foi realizado nenhuma aplicação do herbicida. Aos 30 dias após o plantio (Figura 30B) houve uma diferença estatística para as doses de zinco no tratamento controle do herbicida. Aos 40 dias após o plantio (Figura 30C) houve um crescimento, mas não existindo diferenças significativas. Em relação a dose de 370 g L<sup>-1</sup> de glifosato, podemos observar uma

diferença de altura entre as doses zinco, havendo um maior crescimento para a concentração de  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  do micronutriente. Furlani et al. (2005) também observaram efeito significativo do Zn nas variáveis de crescimento em altura. De acordo com Malavolta et al. (1991) a aplicação do Zn nas plantas ocorre pelo fato do nutriente promover maior desenvolvimento, alongando o entre nó do caule com reflexo na altura. Resultados contrários foram analisados por Prado et al. (2008) na cultura do milho e Orioli Júnior et al. (2008) no cultivo de trigo que não verificaram influência destes micronutriente na altura das plantas, aos 42 e 52 dias após a emergência, respectivamente.

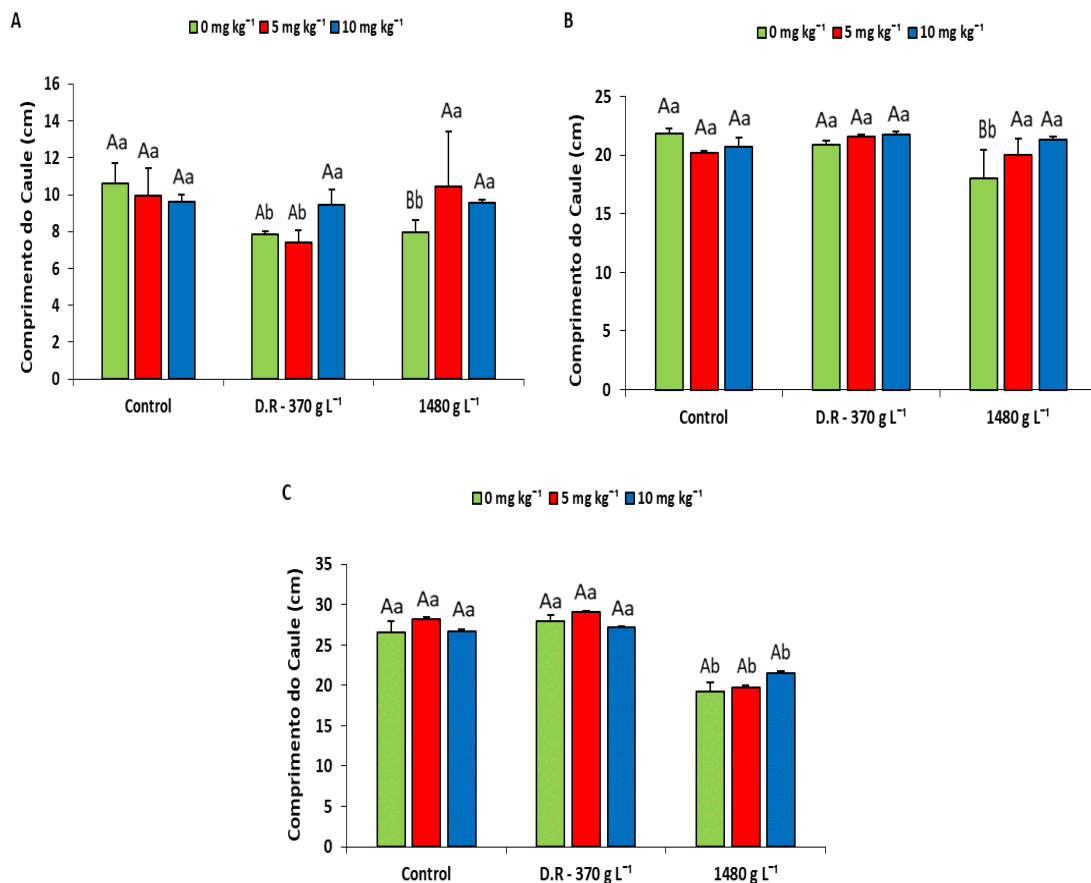
Em relação a dose de  $1480 \text{ g L}^{-1}$  do produto, houve uma redução significativa do crescimento das plantas de milho comparado com os outros tratamentos, mostrando que a alta dose do herbicida interferiu na altura das plantas aos 40 dias após o plantio. Segundo Silva (2000), a importância de se obter plantas mais altas na cultura do milho resulta em maiores alturas de inserção da espiga. Ainda, segundo Mello et al. (2004) a altura da planta possui forte ligação com a produtividade de massa seca sendo importante assim o seu estudo.



**Figura 30.** Altura das plantas com 20 dap (A), 30 dap (B) e 40 dap (C) em plantas de *Zea mays*. Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

### Comprimento do caule (CC)

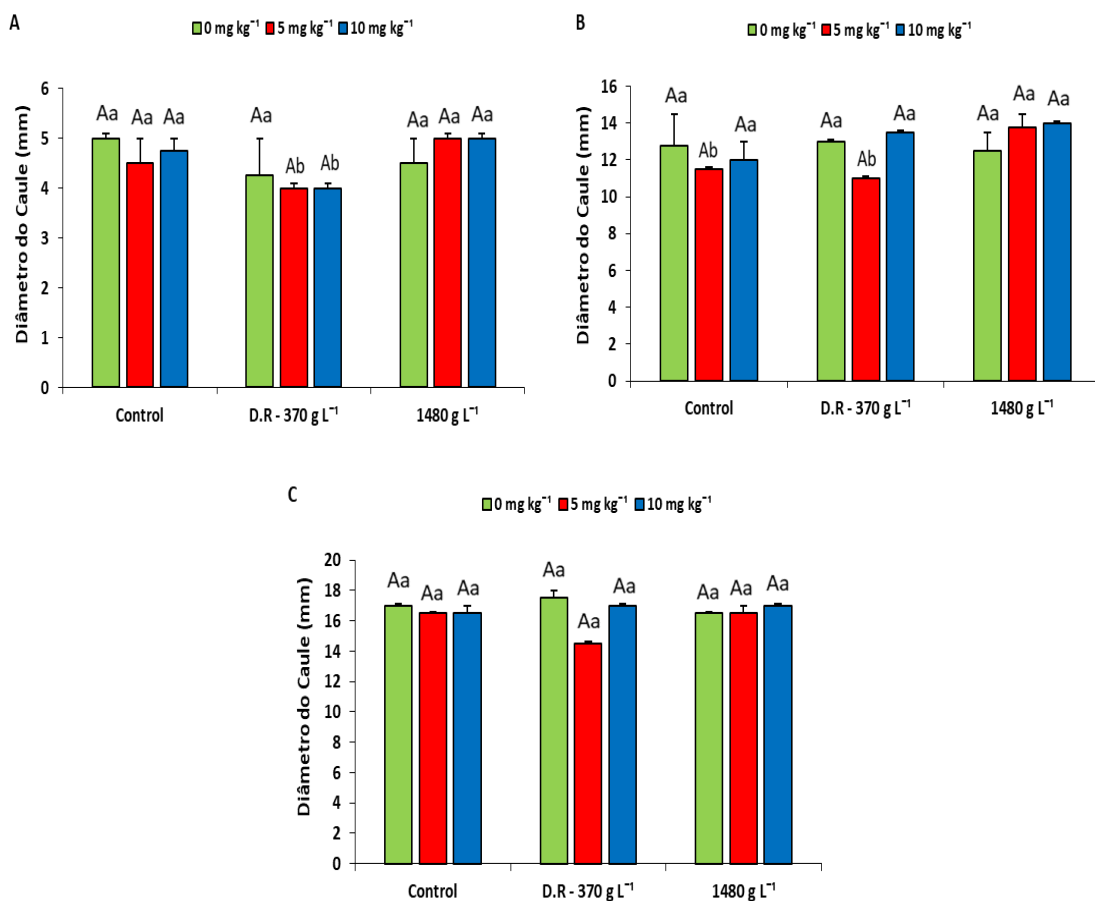
Para o comprimento do caule das plantas de milho aos 20 dias após o plantio verificou-se que houve diferença significativa em relação as doses de zinco com o tratamento 1480 g L<sup>-1</sup> do herbicida (Figura 31A). Contudo nesse período não foi realizado nenhuma aplicação do herbicida. Aos 30 dias após o plantio, observou-se a mesma diferença entre as doses de zinco em relação a dose elevada do herbicida, mostrando uma redução de crescimento para a ausência de zinco no solo (Figura 31B). Mas aos 40 dias após o plantio, (Figura 31C) ocorreu uma redução significativamente negativa para o comprimento do caule com a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> de glifosato. Mostrando que doses elevadas do herbicida interfere diretamente no comprimento do caule. Para o tratamento controle e para a dose de 370 g L<sup>-1</sup> do herbicida, ambos foram estatisticamente iguais.



**Figura 31.** Comprimento do caule com 20 dap (A), 30 dap (B) e 40 dap (C) em plantas de *Zea mays*. Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

### Diâmetro do caule (DC)

Observou-se que nos primeiros 20 dias após o plantio, houve diferença significativa para o parâmetro biométrico avaliado (Figura 32A). Considere-se ainda que nessa primeira avaliação não foi realizada a aplicação do herbicida. Aos 30 dias, (Figura 32B) houve diferenças estatísticas entre os tratamentos controle e a dose 370 g L<sup>-1</sup> de glifosato em relação a dose de 5 mg kg<sup>-1</sup> de zinco. Mas no decorrer do experimento, aos 40 dias após o plantio não houve diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 32C). Estudos realizados por Santos et al. (2009) sobre os efeitos de doses de Zn no solo da cultura do sorgo, em vasos, verificaram que não houve influência das doses no diâmetro do caule. Jamami et al. (2006) também realizaram estudo com doses de zinco no milho em condições de campo e não observaram resposta da altura e do diâmetro do caule das plantas nas avaliações realizadas.



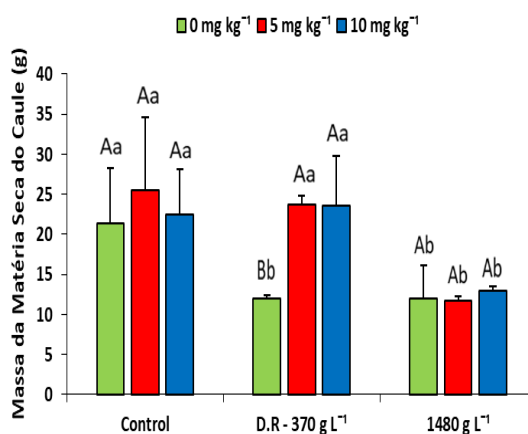
**Figura 32.** Diâmetro do caule com 20 dap (A), 30 dap (B) e 40 dap (C) em plantas de *Zea mays*. Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.



### *Massa da matéria seca do caule (MMSC)*

Verificou-se que a massa da matéria seca do caule para o tratamento controle do produto não se diferenciou em relação as doses de zinco, sendo estatisticamente iguais. Em contrapartida, no tratamento com dose de 370 g L<sup>-1</sup> de glifosato, pode-se verificar um aumento da matéria seca do caule para as doses 5 e 10 mg kg<sup>-1</sup> de zinco, em relação ao tratamento sem adição de zinco. Para a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> do herbicida, pode-se considerar que houve uma interferência negativa significativa nessa variável (Figura 33).

Estes dados são conclusivos e idênticos aos apresentados no experimento 1: Ensaio em Solução Nutritiva, evidenciando, novamente, que a alta dosagem do produto, o efeito benéfico do zinco e as doses ideais recomendadas do herbicida são primordiais para a produção de massa da matéria seca do caule das plantas de milho.



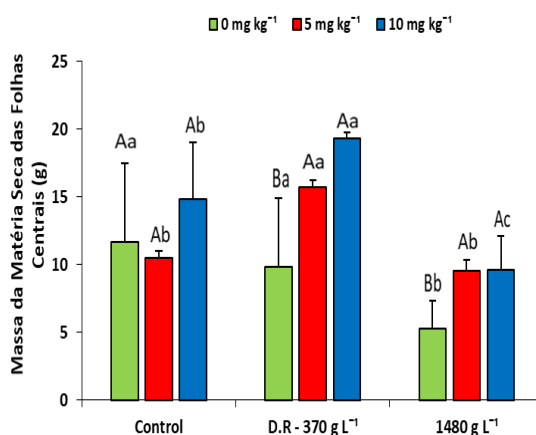
**Figura 33.** Massa da matéria seca do caule (g). Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

### *Massa da matéria seca das folhas (MMSF)*

Para a avaliação da massa matéria seca das folhas de milho, foi feita, novamente uma subdivisão, separando-se as folhas centrais, medianas e baixas. Após isso, obteve-se também a matéria seca das folhas totais e da parte aérea.

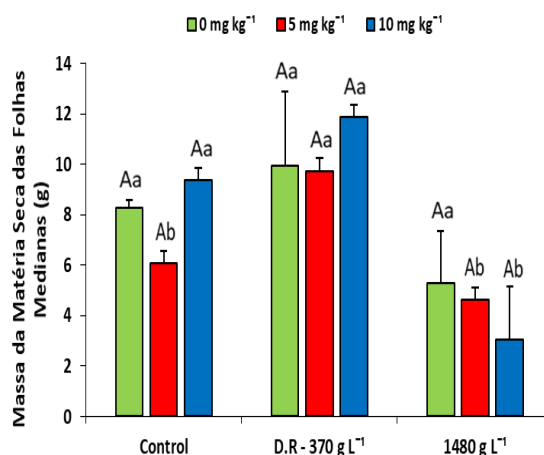
Na Figura 34, a análise de variância mostrou que houve diferenças estatísticas nas doses de glifosato em relação as doses de zinco, obtendo maior produção de matéria seca das folhas centrais com adição de zinco no solo. Em relação às doses do herbicida glifosato, pode-se observar um elevado aumento na produção na dose de 370 g L<sup>-1</sup> do produto comparado com a testemunha. Estes resultados concordam com o Experimento 1: Ensaio em Solução Nutritiva,

que independentemente das concentrações de zinco, a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> glifosato interferiu negativamente nessa variável.



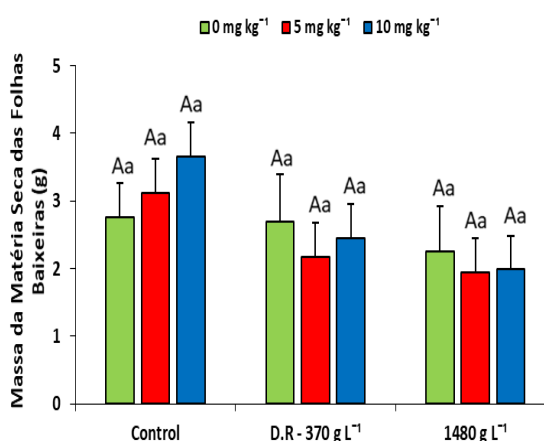
**Figura 34.** Massa da matéria seca das folhas centrais (g). Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

A produção da massa matéria seca das folhas medianas (MMSFM) das plantas de milho foi influenciada significativamente. Nota-se que para a dose controle e para a dose recomendada do glifosato, seus valores foram superiores em relação a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> do produto, independente das concentrações de zinco (Figura 35). Neste sentido, verifica-se que para a produção da matéria seca das folhas medianas não diferiu estatisticamente em ambos os ensaios experimentais para os tratamentos estudados.



**Figura 35.** Massa da matéria seca das folhas medianas (g). Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

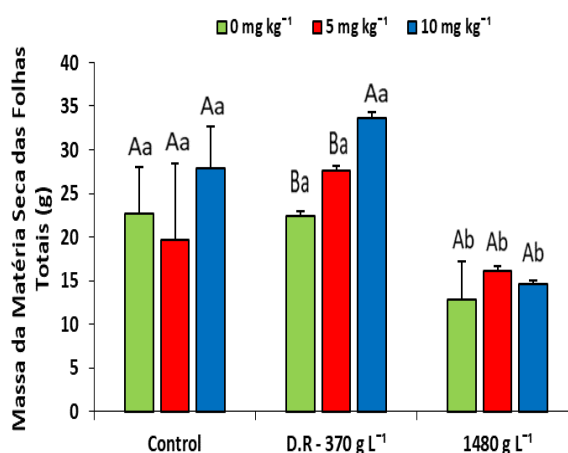
Na Figura 36, a produção da massa matéria seca das folhas baixas (MMSFB) do milho é ressaltada. A análise de variância mostrou que não houve diferença estatística entre as doses do produto e as concentrações de zinco. Todavia, tanto o sistema de cultivo hidropônico e o cultivo utilizado neste ensaio, demonstraram ser estatisticamente iguais em ambos os experimentos para os tratamentos estudados, não havendo interferência do glifosato na produção de matéria seca das folhas baixas.



**Figura 36.** Massa da matéria seca das folhas baixas (g). Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

Para a massa da matéria seca das folhas totais (MMSFT), verifica-se uma diferença estatística entre as doses de zinco para o tratamento de 370 g L<sup>-1</sup> de glifosato (Figura 37), mostrando a importância deste nutriente na produção de matéria seca das folhas totais de milho. Estes dados podem estar de acordo com Coutinho et al. (1992) que comenta que as plantas de milho respondem positivamente a aplicação de zinco no solo, com ganhos na produção de matéria seca. Igue et al. (1962) constataram, também, diferenças visuais em fase inicial de plantas de milho com a aplicação de zinco. Tratamentos sem aplicação de zinco resultaram em plantas com menor crescimento, indicando resposta positiva da cultura ao zinco.

Para a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> de glifosato pode-se notar uma interferência nessa variável, mostrando que a dose elevada do produto compromete negativamente na matéria seca das folhas totais de milho em ambos os experimentos estudados (Figura 23 e 37).



**Figura 37.** Massa da matéria seca das folhas totais (g). Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

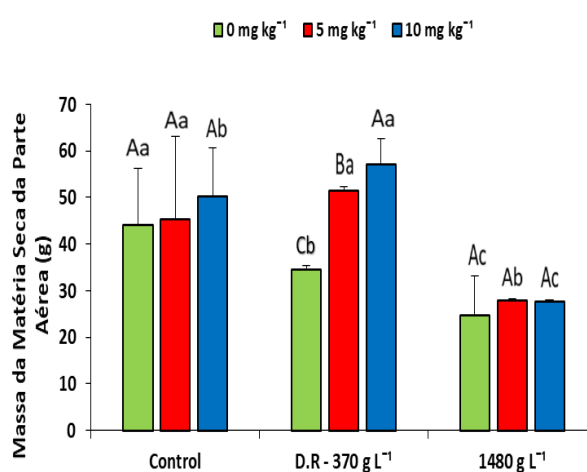
#### *Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA)*

Nota-se uma relação significativa entre a dose recomendada de 370 g L<sup>-1</sup> do herbicida com as doses zinco. Pode-se observar um aumento considerado de 57,14; 51,37 e 34,42 gramas para os tratamentos 10; 5 e 0 de zinco respectivamente. Esses dados concordam com os de Couto et al. (1992). Estes autores relataram aumento na produção de matéria seca da parte aérea de plantas de milho com o aumento das doses de zinco. Existem outros trabalhos com milho cultivado em condições de vasos (plantas jovens), no qual os autores observaram efeitos benéficos do zinco na produção de matéria seca da parte aérea (FAGERIA, 2000; COUTINHO et al., 2001; LEITE et al., 2003; JAMAMI et al., 2006; PRADO et al., 2008). Contudo, Leal et al. (2007) estudando os efeitos da aplicação de zinco em casa de vegetação, não constataram aumento significativo na produção da massa seca das plantas de milho. Andreotti et al. (2001) fazendo experimentos em casa de vegetação com aplicação de calcário e zinco, puderam observar que a produção de matéria seca das folhas das plantas de milho não foram afetadas por este micronutriente nos dois cultivos realizados, corroborando com os dados obtidos para o tratamento controle deste experimento.

Os resultados mostram que o herbicida glifosato não afetou o crescimento da planta na dose de 370 g L<sup>-1</sup>. Na Figura 38, é possível observar na concentração de 370 g L<sup>-1</sup> existem variações de crescimento para as doses de zinco e praticamente o produto não estaria afetando o desenvolvimento da parte aérea, discordando com os dados obtidos no Experimento 1 deste estudo. Trabalhos reportados (SCHABENBERGER et al., 1999; DUKE et al., 2006; CEDERGREEN, 2008) têm demonstrado que doses de glifosato também podem estimular o

crescimento de algumas plantas. Esse fenômeno que algumas substâncias apresentam, de ser benéfica em baixas doses e letal em doses elevadas, foi descrito por Southan e Erlich (1943).

Notou-se que para a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> do herbicida, independentemente das concentrações de zinco, o glifosato prejudicou significativamente a produção da matéria seca da parte aérea do milho. Devido às concentrações mais altas do produto, houve um declínio da matéria seca da parte aérea produzindo fito toxidez por excesso de glifosato. Isto foi confirmado nos Experimentos 1 e 2 deste trabalho em todos os parâmetros que foram medidos.



**Figura 38.** Massa da matéria seca da parte aérea (g). Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

O milho, por ser uma planta C4, apresenta elevada eficiência no aproveitamento da luz e na fixação do carbono, o que é dependente da fotossíntese realizada principalmente pelas folhas. A produtividade de grãos de milho está diretamente relacionada com a capacidade de translocação de nutrientes para os grãos, como também a qualidade da massa ensilada está diretamente relacionada com a participação percentual dos grãos na matéria seca total da planta. Desse modo, saber como ocorre o acúmulo de matéria seca em cada parte vegetativa da planta de milho pode subsidiar decisões quanto à melhor alternativa de manejo da fertilização da cultura (BORGES, 2006).

### 5.3.2 Avaliações químicas

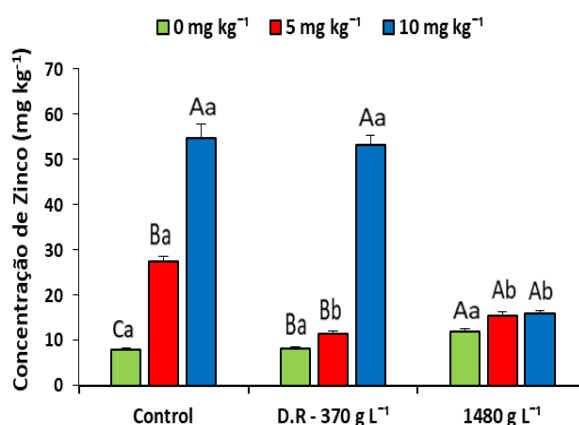
A Tabela 6 mostra os resultados das concentrações elementares do micronutriente zinco determinados nas amostras de folhas (centrais, medianas e baixas), caule e raiz, das plantas submetidas ao Experimento 2, Ensaio em Solo.

**Tabela 6.** Concentração de zinco encontrada nas amostras de plantas de milho do Experimento 2: Ensaio em Solo.

Tratamentos									
Doses	TS1	TS2	TS3	TS4	TS5	TS6	TS7	TS8	TS9
<b>Zn</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>10</b>
<b>Glifosato</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>370</b>	<b>370</b>	<b>370</b>	<b>1480</b>	<b>1480</b>	<b>1480</b>
Amostras	Concentração de Zn (mg kg <sup>-1</sup> ), peso seco								
<b>Folhas Centrais</b>	11 ± 1	19 ± 1	23 ± 1	16 ± 1	64 ± 3	111 ± 5	17 ± 1	23 ± 1	93 ± 4
<b>Folhas Medianas</b>	10 ± 1	87 ± 3	86 ± 3	25 ± 3	72 ± 3	74 ± 1	23 ± 1	47 ± 2	36 ± 1
<b>Folhas Baixas</b>	8 ± 1	15 ± 1	29 ± 1	23 ± 1	35 ± 1	30 ± 1	37 ± 1	33 ± 1	107 ± 4
<b>Caule</b>	8 ± 1	28 ± 1	55 ± 3	8 ± 1	11 ± 1	53 ± 2	12 ± 1	16 ± 1	16 ± 1

#### Concentração de Zn no caule

Em relação a concentração de zinco no caule, pode-se observar na Figura 39, um teor elevado para o tratamento aplicado de 10 mg kg<sup>-1</sup> de zinco na solução do solo, (54,85 e 53,13 mg kg<sup>-1</sup>) para os tratamentos controle e para a dose recomendada do produto, respectivamente. Pode-se inferir que a planta de milho exerce importante função na translocação de zinco no caule, sendo que esse acúmulo de Zn acontece até os estádios finais de desenvolvimento da cultura (VASCONCELLOS et al., 1998). Em relação a interação das doses de zinco x com as doses de glifosato podemos considerar que houve interação entre os fatores. Para a dose recomendada do produto mostrou-se estatisticamente igual ao tratamento controle e superior a dose de 1480 g L<sup>-1</sup> de glifosato, para a dose de 10 mg kg<sup>-1</sup> de zinco. Com isso, a relação entre a produção de massa da matéria seca e o teor do nutriente reduziu-se devido ao efeito da dose de 1480 g L<sup>-1</sup> e das aplicações sequenciais realizadas.



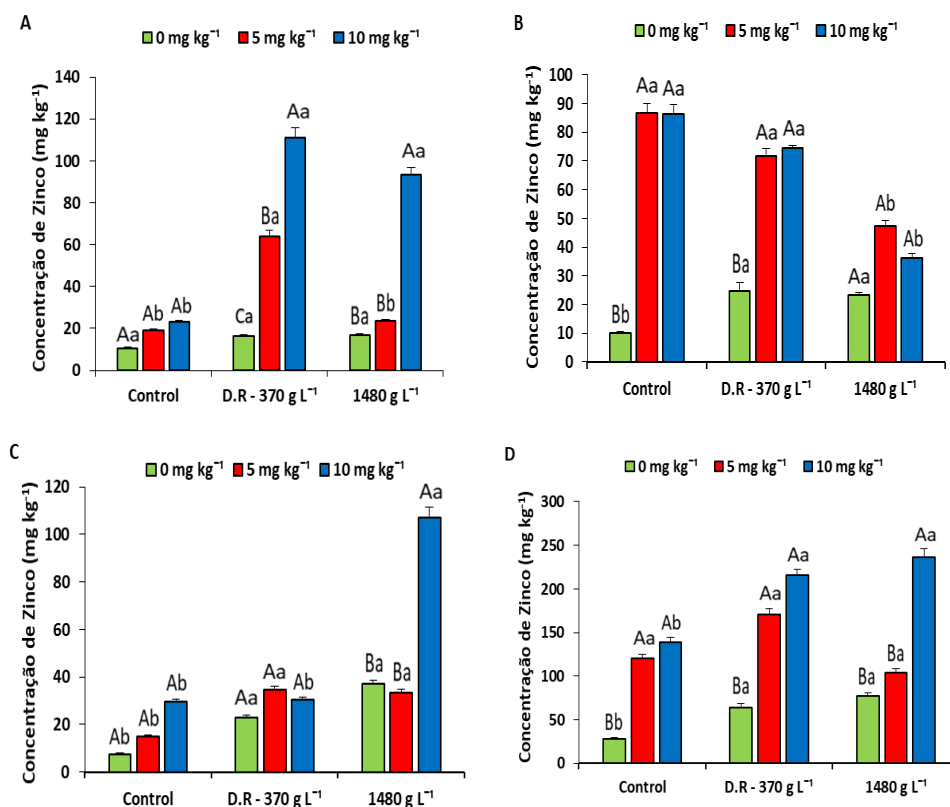
**Figura 39.** Concentração de zinco na matéria seca do caule ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), em função das doses de glifosato e doses de Zn. Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

#### *Concentração de Zn nas folhas*

O teor de Zn nas folhas centrais de milho aumentou significativamente com as doses de zinco juntamente com as doses aplicadas do herbicida glifosato em relação a testemunha (Figura 40A). Os teores mínimos ( $10,6 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e máximos ( $111,2 \text{ mg kg}^{-1}$ ) foram encontrados, respectivamente nos tratamentos (sem adubação x sem glifosato) e de maior dose de zinco ( $10 \text{ mg kg}^{-1}$  x D.R –  $370 \text{ g L}^{-1}$  de glifosato). Em relação ao tratamento (dose de  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  de Zn x  $1480 \text{ g L}^{-1}$  de glifosato), foram obtidos teor de zinco de  $93,2 \text{ mg kg}^{-1}$ . Uma possível explicação, é um efeito de concentração, resultante da baixa produção de matéria seca (Figura 34), com consequente aumento no teor de Zn na folha. Esta pode ter sido a razão para o elevado teor desse elemento nas plantas adubadas com  $10 \text{ mg kg}^{-1}$ . A utilização de aplicações de glifosato neste experimento condicionou as maiores concentrações de Zn nas folhas centrais para a dose de  $10 \text{ mg kg}^{-1}$ , diferindo-se estatisticamente do tratamento controle.

Observou-se para as folhas medianas, que o glifosato, sobretudo na maior dose utilizada ( $1480 \text{ g L}^{-1}$ ), reduziu os teores de zinco, havendo, portanto, uma interação significativa entre os fatores, indicando que o glifosato interfere negativamente na translocação deste micronutriente (Figura 40B). Entretanto, não foi observado efeito prejudicial na dose de  $370 \text{ g L}^{-1}$  do produto, sendo, portanto, estatisticamente igual a testemunha. Esses dados mostram-se contrários ao do Experimento 1: Ensaio em Solução Nutritiva, onde foi obtido um maior teor de zinco na dose de  $1480 \text{ g L}^{-1}$  de glifosato.

Na (Figura 40C), observa-se a presença de zinco nas folhas baixas do experimento, e pode-se também notar que o glifosato não interferiu na translocação do zinco para as doses de 10 mg kg<sup>-1</sup> de Zn e para a dose elevada do produto. Essa redução foi mais significativa para a dose recomendada do produto, independente das concentrações de zinco.



**Figura 40.** Concentração de zinco na matéria seca das folhas centrais (A), medianas (B), baixas (C) e totais (D) (mg kg<sup>-1</sup>), em função das doses de glifosato e doses de Zn. Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

Com relação aos teores foliares totais de zinco, observam-se diferenças significativas com a aplicação do micronutriente (Figura 40D). Resultados semelhantes foram obtidos por Souza et al. (1985) que relataram aumento no teor foliar com a aplicação de Zn. De maneira geral, os valores obtidos neste experimento para os teores foliares de zinco foram mais elevados que o nível crítico de 18,5 mg kg<sup>-1</sup> estabelecido por Galvão (1995). Nos dois experimentos realizados neste trabalho, os teores foliares de Zn encontrados situam-se dentro da faixa ideal, inclusive os valores máximos obtidos, demonstrando que as concentrações de Zn proporcionaram uma nutrição adequada para as plantas de milho. Resultados semelhantes aos encontrados neste estudo foram obtidos por Amaral et al. (1996) onde concentração de até

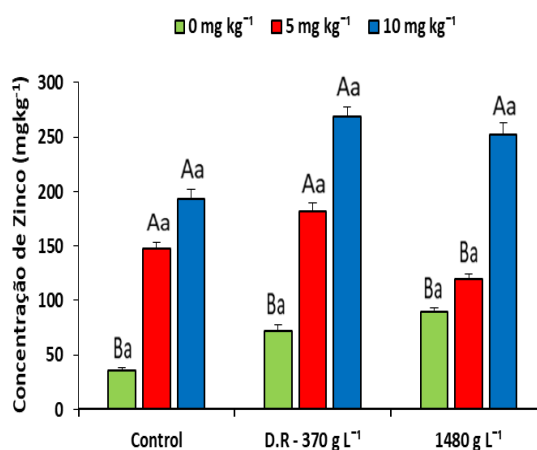


322 mg kg<sup>-1</sup> de Zn foliar não causaram sintomas de toxidez. Por outro lado, segundo Jurkowska et al. (1990) quanto maior a concentração do micronutriente no tecido vegetativo, maior será a sua translocação e acúmulo nos grãos. Observa-se ainda, que na cultura do milho, o Zn é direcionado para o terço superior da planta, mas em condições de maior suprimento, as partes inferiores funcionam como órgãos de reserva. Esses dados foram apresentados por Gutiérrez et al. (2016) mostrando a redistribuição do micronutriente zinco em dois níveis de adubação em solos do cerrado. Os mesmos autores comentam que são as folhas superiores que expressam os teores mais elevados. Desse modo, constata-se que o milho prioriza a alocação desse micronutriente para as partes mais jovens e, mesmo sob condições de menor disponibilidade (médio investimento em adubação), consegue manter o terço superior mais bem suprido em relação ao restante da planta. Por outro lado, percebe-se que em condições de maior fornecimento (alto investimento em adubação), o Zn é armazenado nas partes mais velhas, sobretudo no terço inferior do colmo (GUTIÉRREZ et al., 2016). Esses dados corroboram com os dois experimentos realizados neste trabalho, onde obtivemos uma maior concentração de zinco nas folhas centrais das plantas de milho.

Com a aplicação do glifosato nas doses estudadas, não houve diferenças significativas para o teor de zinco na matéria seca das folhas totais (Figura 40). Com isso percebe-se que não ocorreu interferência do glifosato na absorção e translocação do zinco nas folhas totais de milho. Entretanto, na dose de 1480 g L<sup>-1</sup> de glifosato, obteve-se uma redução na massa da matéria seca das folhas totais mostrada na Figura 37. Essa redução possivelmente se deve a diminuição no crescimento da planta causada pela aplicação do produto.

#### *Concentração de Zn na parte aérea*

Para o teor de zinco na parte aérea das plantas de milho, podem-se encontrar diferentes concentrações para as doses de zinco, mas não são significativas. Verifica-se que os maiores teores de zinco na parte aérea das plantas foram obtidos na dose de 10 mg kg<sup>-1</sup>, diferenciando-se dos demais tratamentos. Com isso, percebe-se que os teores de zinco da parte aérea tenham atingido no primeiro experimento, Ensaio em Solução Nutritiva, o valor máximo de 306,90 mg kg<sup>-1</sup> e neste experimento valor de 268,99 mg kg<sup>-1</sup>, bem superiores que o teor adequado, de 20 a 120 mg kg<sup>-1</sup> (MALAVOLTA, 2006) e abaixo da faixa considerada tóxica, 427 mg kg<sup>-1</sup>, para o milho (FAGERIA, 2000).



**Figura 41.** Concentração de zinco na matéria seca da parte aérea ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), em função das doses de glifosato e doses de Zn. Letras maiúsculas comparam as doses de zinco e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

Em relação a interação das doses de zinco com as doses de glifosato, a análise de variância mostrou que não houve interação entre os tratamentos, sendo assim estatisticamente iguais. Entretanto, para o tratamento de  $1480 \text{ g L}^{-1}$  de glifosato, foi encontrado um teor elevado de zinco e isso está relacionado com uma redução de crescimento da planta demonstrado na Figura 38, por consequência uma maior concentração no tecido vegetal. Os mesmos resultados foram encontrados no Experimento 1, Ensaio em Solução Nutritiva, confirmando que o glifosato na dose de  $1480 \text{ g L}^{-1}$  interfere negativamente na parte aérea das plantas de milho. No entanto, essa redução não é devida à influência direta do glifosato sobre o micronutriente, e sim do glifosato sobre a produção de massa da matéria seca da parte aérea (Figura 38).

No Quadro 9, tem-se uma avaliação geral de todos os parâmetros avaliados entre os dois experimentos realizados, Ensaio em Solução Nutritiva e Ensaio em Solo. Pode-se verificar que no Experimento 2, Ensaio em Solo, a dose recomendada de glifosato de  $370 \text{ g L}^{-1}$  não interferiu no crescimento e na absorção e translocação de zinco nas plantas de milho, indicando que o produto não afeta de fato as plantas de milho geneticamente modificadas.

**Quadro 9.** Análise qualitativa dos experimentos em relação à Dose Recomendada de Glifosato e 4 vezes esta dose: Ensaio em Solução Nutritiva e Ensaio em Solo.

Características Agronômicas	Concentração de Glifosato			
	Ensaio em Solução Nutritiva (g L <sup>-1</sup> )		Ensaio em Solo (g L <sup>-1</sup> )	
	370*	1480**	370*	1480**
Altura da Planta (ALP)	-	❖	-	❖
Comprimento caule (CC)	-	❖	-	❖
Diâmetro (DC)	-	-	-	-
Comprimento raiz (CR)	-	-	N	N
Massa da Matéria Seca do Caule (MMSC)	❖	❖	-	❖
Massa da Matéria Seca da Raiz (MMSR)	-	❖	N	N
Massa da Matéria Seca da Folha Central (MMSFC)	-	❖	-	❖
Massa da Matéria Seca da Folha Mediana (MMSFM)	-	❖	-	❖
Massa da Matéria Seca da Folha Baixeira(MMSFB)	-	-	-	-
Massa da Matéria Seca da Folhas Totais (MMSFT)	-	❖	-	❖
Massa da Matéria Seca da Parte Aérea (MMSFPA)	❖	❖	-	❖
<b>Avaliações Químicas</b>				
Concentração de Zinco Raiz (R)	-	❖	N	N
Concentração de Zinco Caule (C)	❖	❖	-	❖
Concentração de Zinco Folhas Centrais (FC)	❖	❖	-	-
Concentração de Zinco Folhas Medianas (FM)	-	-	-	❖
Concentração de Zinco Folhas Baixas (FB)	-	-	-	-
Concentração de Zinco Folhas Totais (FT)	❖	❖	-	-
Concentração de Zinco Parte Aérea (PA)	❖	❖	-	❖

❖ Houve interferência; -, Não houve interferência; N, não foi avaliado; \*, Dose Recomendada; \*\*, 4 vezes a Dose Recomendada

### 5.4 Experimento 3: Ensaio em Solução Nutritiva com Traçador Radioativo

Nas condições em que foi prevista a condução deste experimento, a atividade do  $^{65}\text{Zn}$  por mililitro usada foi insuficiente para ser detectada por espectrometria gama nas amostras vegetais. Sendo assim, a adição da solução de  $^{65}\text{Zn}$  foi aumentada em 20 vezes a sugerida por Hoagland e Arnon (1950) para que fosse possível verificar a absorção e translocação. Desta forma, a atividade de  $^{65}\text{Zn}$  passou a ser de 4,91 kBq por vaso, permitindo que fosse possível medir o  $^{65}\text{Zn}$  por espectrometria gama.

A coleta das plantas de milho para a avaliação da atividade total de zinco ocorreu aos 7 dias (1ª avaliação) e aos 15 dias (2ª avaliação). A Tabela 7 traz os resultados das atividades de  $^{65}\text{Zn}$  determinados nas diversas partes das plantas de milho submetidas ao Experimento 3, Solução Nutritiva com Traçador Radioativo e aplicado o glifosato.

**Tabela 7.** Atividade total do  $^{65}\text{Zn}$  nas partes das plantas de milho do Experimento 3: Ensaio em Solução Nutritiva com Traçador Radioativo.

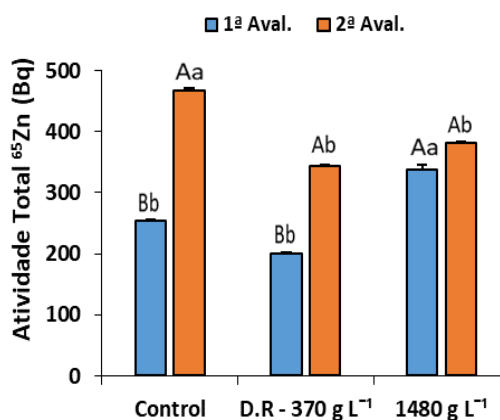
Dose Glifosato	Tratamentos			Tratamentos		
	0	370	1480	0	370	1480
	TT1	TT2	TT3	TT1	TT2	TT3
Amostras	1ª Avaliação (7 dias)			2ª Avaliação (15 dias)		
<b>Folhas Centrais</b>	78 ± 4	51 ± 5	25 ± 9	653 ± 4	235 ± 2	66 ± 5
<b>Folhas Medianas</b>	30 ± 3	26 ± 8	19 ± 10	122 ± 3	55 ± 5	20 ± 9
<b>Folhas Baixeiras</b>	29 ± 7	30 ± 7	33 ± 7	67 ± 5	35 ± 6	44 ± 5
<b>Caule</b>	145 ± 3	443 ± 3	503 ± 6	737 ± 4	574 ± 2	564 ± 1
<b>Raiz</b>	255 ± 2	200 ± 3	337 ± 8	468 ± 2	344 ± 2	382 ± 2

Para melhor representar os resultados de absorção e translocação do zinco, optou-se pela representação gráfica da atividade total encontrada nas partes subdivididas do vegetal.

#### *Atividade Total de $^{65}\text{Zn}$ na raiz*

A Figura 42, mostra a atividade total de  $^{65}\text{Zn}$  nas raízes de milho. Verifica-se que houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos de distribuição do  $^{65}\text{Zn}$ . Esta diferença foi observada para a testemunha e para a dose de 370 g L<sup>-1</sup> de glifosato. Esta alta atividade pode ser relacionada devido à alta concentração de zinco aplicada e um maior tempo de exposição do elemento na solução nutritiva.

Em relação às doses de glifosato, observa-se que houve uma redução da atividade total para o tratamento controle e para a dose recomendada do produto na 1ª avaliação (tempo de distribuição de 7 dias). O contrário foi observado na 2ª avaliação (tempo de distribuição de 15 dias), onde foi obtida uma radioatividade elevada de 468,2 kBq para o tratamento controle. Esses dados corroboram com os apresentados no Experimento 1: Ensaio em Solução Nutritiva e com o resultado de Romheld (2007), que constatou que aplicações frequentes de glifosato podem induzir a deficiência de Zn em diferentes espécies agrícolas, devido a formação de complexos insolúveis entre o glifosato e alguns cátions, como é o caso do zinco. Esses dados, portanto, concordam com o Experimento 1 deste trabalho, onde foi observado que a alta dosagem do produto interfere na absorção do zinco, em solução nutritiva.



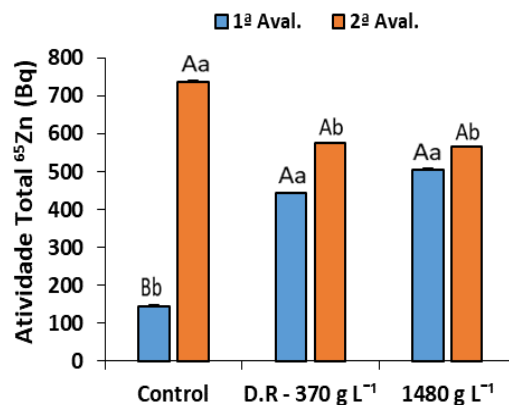
**Figura 42.** Atividade total do  $^{65}\text{Zn}$  na matéria seca da raiz (Bq), em função das doses de glifosato e dias de avaliação. Letras maiúsculas comparam as avaliações e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

#### *Atividade Total de $^{65}\text{Zn}$ no caule*

A Figura 43 mostra a atividade total de  $^{65}\text{Zn}$  no caule. Percebe-se que existe uma tendência bem definida para a redistribuição do Zn em razão do tempo para o tratamento testemunha. Observa-se também, que grande parte da radioatividade redistribuída a partir da raiz foi encontrada no caule.

Em relação a atividade total do radionuclídeo com as doses de glifosato, pode-se verificar na primeira avaliação, uma elevada atividade para os tratamentos que foram aplicados o herbicida. Mas com o passar do tempo essa atividade diminuiu e ficou estatisticamente igual para os tratamentos que utilizaram o glifosato. Sendo assim, a testemunha ficou com uma atividade elevada de 736,95 kBq em relação aos outros tratamentos, havendo, portanto, uma interação significativa positiva entre os fatores.

Esses dados corroboram com o Experimento 1: Ensaio em Solução Nutritiva, apresentado neste trabalho, onde independente das doses de glifosato houve uma redução da atividade total do  $^{65}\text{Zn}$ .



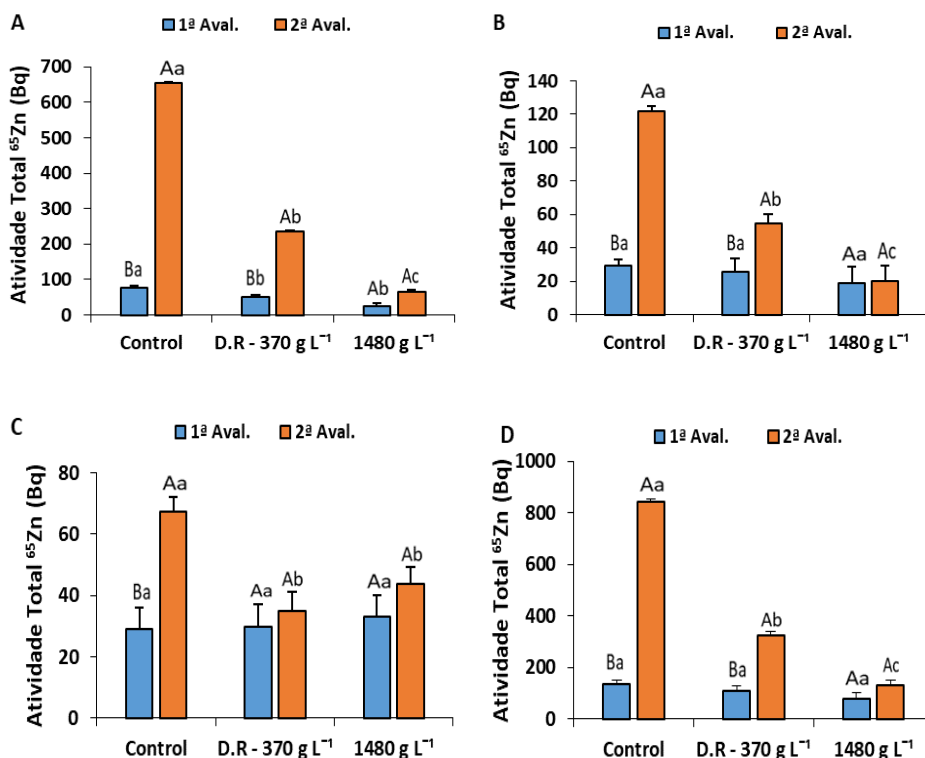
**Figura 43.** Atividade total do  $^{65}\text{Zn}$  na matéria seca do caule (Bq), em função das doses de glifosato e dias de avaliação. Letras maiúsculas comparam as avaliações e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

#### *Atividade Total de $^{65}\text{Zn}$ nas Folhas*

A atividade total de  $^{65}\text{Zn}$  nas folhas de milho foi maior na 2ª Avaliação, em que todos os parâmetros foram avaliados. Isso já se esperava devido ao maior tempo de exposição do elemento em solução nutritiva. Injúrias nas plantas de milho apareceram devido à alta concentração do elemento na solução nutritiva, mas devido ao tempo de exposição de 15 dias foi possível analisar os efeitos que o herbicida pode provocar na absorção e translocação do zinco.

Em relação as folhas centrais de milho, a atividade foi mais elevada em relação as folhas medianas e baixeras. Assim, verifica-se que a maior parte do  $^{65}\text{Zn}$  foi translocado para folhas novas, indicando que essas partes da planta são drenos importantes para o zinco. O zinco translocou-se, principalmente, para as folhas superiores, as folhas medianas e baixeras apresentaram baixa atividade de  $^{65}\text{Zn}$ .

A radioatividade de Zn nas folhas centrais, medianas, baixeras e totais (Figura 44) foram influenciadas negativamente com a aplicação do produto, na 2ª avaliação, mostrando que o herbicida, independentemente das doses aplicadas, interferiu negativamente na translocação do nutriente para as folhas de milho em solução nutritiva.



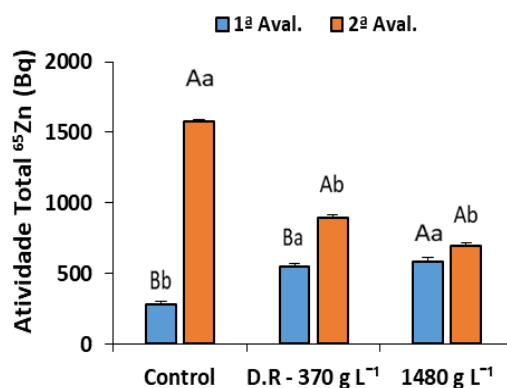
**Figura 44.** Atividade total do  $^{65}\text{Zn}$  na matéria seca das folhas centrais (A), medianas (B), baixas (C) e totais (D) (Bq), em função das doses de glifosato e dias de avaliação. Letras maiúsculas comparam as avaliações e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

#### *Atividade Total de $^{65}\text{Zn}$ na parte aérea*

Na Figura 45, observa-se a atividade total de  $^{65}\text{Zn}$  na parte aérea das plantas de milho. Como foi comentado anteriormente, houve uma diferença estatística significativa positiva entre os tempos de distribuição do elemento para a testemunha e para a dose de  $370 \text{ g L}^{-1}$  de glifosato.

Em relação às doses de glifosato pode-se observar um crescimento contrário da 1ª avaliação para a 2ª avaliação. A absorção do zinco, medida pela radioatividade do  $^{65}\text{Zn}$  na parte aérea e raiz foi influenciada diretamente pelas doses de glifosato, mostrando que a testemunha foi superior aos tratamentos com o herbicida. O  $^{65}\text{Zn}$  que estava na solução nutritiva foi prontamente absorvido pelas raízes e translocado para a parte aérea.

As doses de glifosato, apresentaram sintomas de injúrias nas plantas de milho, sendo a severidade do dano maior à medida que aumentou a concentração do  $^{65}\text{Zn}$  na solução nutritiva e com as aplicações foliares subsequentes do herbicida glifosato.



**Figura 45.** Atividade total do  $^{65}\text{Zn}$  na matéria seca da parte aérea (Bq), em função das doses de glifosato e dias de avaliação. Letras maiúsculas comparam as avaliações e minúsculas as doses de glifosato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão médio. **Fonte:** este estudo.

Portanto de acordo com o Quadro 10 aos 7 dias (1ª avaliação) após a aplicação do zinco radioativo na solução nutritiva e com 2 aplicações do herbicida glifosato, nota-se que ocorreu uma interferência significativa apenas nas folhas centrais do milho. Ao contrário percebe-se que aos 15 dias (2ª avaliação) que independente das doses do herbicida glifosato, todas as variáveis estudadas foram afetadas com a aplicação do produto. Isso partindo do pressuposto que todas as plantas avaliadas sofreram alguma interferência do glifosato, mas atendo ao fato que as mesmas ficaram em um tempo maior de exposição a alta concentração do elemento em solução nutritiva.

Assim, este estudo com o  $^{65}\text{Zn}$  permitiu avaliar melhor a absorção e a translocação do zinco nas plantas de milho, onde mostra que o elemento se concentra primeiro nas folhas centrais, priorizando a sua translocação para as folhas mais novas. Por outro lado, percebe-se que em condições de maior fornecimento do nutriente, o mesmo é armazenado nas folhas mais velhas, sobretudo no caule. Dados esse que concordam com Gutiérrez e colaboradores, 2016.



**Quadro 10.** Análise qualitativa do experimento em relação à Dose Recomendada de Glifosato e 4 vezes esta dose: Ensaio em Solução Nutritiva com Traçador Radioativo.

Atividade Total $^{65}\text{Zn}$	1ª Avaliação (7 dias)		2ª Avaliação (15 dias)	
	370* g L <sup>-1</sup>	1480** g L <sup>-1</sup>	370* g L <sup>-1</sup>	1480** g L <sup>-1</sup>
$^{65}\text{Zn}$ Raiz (R)	-	-	❖	❖
$^{65}\text{Zn}$ Caule (C)	-	-	❖	❖
$^{65}\text{Zn}$ Folhas Centrais (FC)	❖	❖	❖	❖
$^{65}\text{Zn}$ Folhas Medianas (FM)	-	-	❖	❖
$^{65}\text{Zn}$ Folhas Baixeiras (FB)	-	-	❖	❖
$^{65}\text{Zn}$ Folhas Totais (FT)	-	-	❖	❖
$^{65}\text{Zn}$ Parte Aérea (PA)	-	-	❖	❖

❖ Houve interferência; -, Não houve interferência; N, não foi avaliado; \*, Dose Recomendada; \*\*, 4 vezes a Dose Recomendada

## CAPÍTULO 6. CONCLUSÕES

Neste trabalho verificou-se a influência da aplicação do herbicida glifosato na absorção e translocação do micronutriente zinco na cultivar de milho transgênico. Para isso, foram executados experimentos em solução nutritiva (cultivo controlado e com mesma interferência de outros compostos e elementos químicos), em solo (simulando condições de cultivo real) e utilizando traçador radioativo,  $^{65}\text{Zn}$  em Solução Nutritiva (situação controlada realçando o comportamento do micronutriente). As concentrações de zinco nas diversas partes da planta de milho foram determinadas pela análise por ativação neutrônica, método  $k_0$  e as atividades do  $^{65}\text{Zn}$  foram medidas por espectrometria gama.

Sobre a técnica analítica utilizada de análise por ativação neutrônica, por meio do método  $k_0$ , foi adequada e possibilitou a detecção do elemento zinco nas amostras estudadas, sendo, portanto, uma ferramenta especialmente importante para analisar amostras agronômicas.

Nos três Experimentos estudados, foi observado que a dose alta do herbicida glifosato interferiu praticamente em todos os parâmetros avaliados, como nas características agronômicas e também na análise química do micronutriente zinco. Isso confirma que a aplicação do herbicida na dose recomendada é a que menos afeta o desenvolvimento, em geral, do milho transgênico.

No Ensaio em Solução Nutritiva, a dose recomendada afetou negativamente a matéria seca do caule e da parte aérea. A mesma dose alterou a translocação de zinco no caule, nas folhas centrais, totais e na parte aérea das plantas de milho. A ausência de outros compostos e elementos químico na solução nutritiva parece realçar essa ação do herbicida.

No Ensaio em Solução Nutritiva com Traçador Radioativo foi observado que o nutriente zinco se concentra primeiro nas folhas centrais e depois é redistribuído para as folhas medianas e baixas, havendo uma maior concentração no caule. Isso significa que o milho direciona o Zn absorvido para as folhas mais novas, (folhas centrais analisadas), mas em condições de maior suprimento, as partes inferiores, (folhas medianas e baixas) funcionam como órgãos de reserva.

Concluindo, os resultados desta pesquisa sugerem que em situação real de cultivo em solo, o uso da dose recomendada do glifosato não interfere significativamente no crescimento da planta de milho transgênico, nem na absorção e na translocação do zinco.

## **CAPÍTULO 7. TRABALHOS FUTUROS E PERSPECTIVAS**

Apesar de todo o avanço tecnológico constatado na agricultura brasileira, muitos dados sobre o efeito do herbicida na cultura do milho transgênico e principalmente sua atuação na interferência na nutrição mineral da cultura precisa ser pesquisada.

A partir dos resultados obtidos neste estudo, sugere-se que sejam desenvolvidas pesquisas que envolvam o cultivo do milho transgênico em campo aberto, sob diferentes condições ambientais para verificar o comportamento do micronutriente zinco nas plantas de milho transgênico sob aplicação do glifosato.

Sugere-se, também, estender a pesquisa para outros nutrientes como o cobre, potássio, fósforo, cálcio, manganês, e magnésio com o objetivo de se conhecer a absorção e translocação desses nutrientes perante a aplicação de glifosato.

Recomendar-se, também, quantificar o herbicida glifosato nas diferentes partes da planta de milho para se conhecer a rota de absorção e interação do composto na planta. Verificar a quantidade do herbicida que alcança o solo também será importante sob o ponto de vista ambiental.

Estudos semelhantes com elementos que não são nutrientes como mercúrio e outros poderão ser realizados. Outro estudo que poderá ser conduzido, consiste na verificação do comportamento conjunto de vários nutrientes e/ou tóxicos e as possíveis interações entre eles, também em presença do herbicida.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, C. A. Disponibilidade e avaliação dos elementos catiônicos: zinco e cobre. In: FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P.; RAIJ, B. V.; ABREU, C. A. **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal, CNPq; FAPESP; Potafos, p.124- 150, 2001.
- AI-JOBORI, S. M.; ITAWI, R. K.; SAAD, A.; ALI, K. E. Determination of major, minor and trace elements in Iraqi vegetable samples by INAA. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 159, n.1, p. 29-36, 1992.
- ALVES, B. M.; CARGNELUTTI FILHO, A.; TOEBE, C. B. M. et al. Divergência genética de milho transgênico em relação à produtividade de grãos e da qualidade nutricional. **Ciência Rural**, Santa Maria v.45, n.5, p.884-891, 2015.
- AMARAL, R. D. et al. Efeito de um resíduo da indústria de zinco sobre a química de amostras de solo e plantas de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 20, n. 3, p. 433-440, 1996.
- AMARANTE JUNIOR, O. P.; DOS SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. R.; Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química nova**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002.
- ANDERSON, W. P. Wees Science principles. Minnesota: **West Publishing Company**, 1993. 655p.
- ANDRADE, R. V. **Importância e uso de banco de germoplasma para o melhoramento genético vegetal – milho**. In: UDRY, C. V.; DUARTE, W. Uma história brasileira do milho: o valor dos recursos genéticos. Brasília: Paralelo, v. 15, p. 79-84, 2000.
- ANDREOTTI, M.; SOUZA, E. C. A.; CRUSCIOL, C. A. C. Componentes morfológicos e produção de matéria seca de milho em função da aplicação de calcário e zinco. **Scientia Agrícola**, v.58, p.321-327, 2001.
- ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da diretoria colegiada- **RDC nº 3029**, de 16 de abril de 1999. Disponível em: <<http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B4882-2-0%5D.PDF>> Acesso em: 04 jul. 2018.
- BACCHI, M. A.; FERNANDES, E. A. N. Quantu – design and development of a software package dedicated to  $k_0$ -standardized NAA. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 257, n. 3, p. 577-582, 2003.
- BACCHI, M. A.; FERNANDES, E. A. N.; FRANÇA, E. J.; BODE, P. Quality assessment in a Brazilian laboratory performing  $k_0$ -NAA. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 257, n. 3, p. 653-657, 2003.
- BACCHI, M. A.; FERNANDES, E. A. N.; TSAI, S. M.; SANTOS, L. G. C. Conventional and organic potatoes: Assessment of elemental composition using  $k_0$ -INAA. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v. 259, n. 3, p.421-424, 2004.

BAILEY, W. A.; POSTON, D. H.; WILSON, H. P.; HINES, T. E. Glyphosate interactions with manganese. **Weed Technology**, v. 16, p.792-799, 2002.

BARBOSA, E. A. **Crescimento e nutrição de plantas de jovens de café tratadas com subdoses de glyphosate**. 2013. 33p. (Dissertação - Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2013.

BARBOSA FILHO, M. P. Micronutrientes para as culturas: Arroz, milho e trigo. In: FERREIRA, M. E. et al. (Org.). **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: CNPq/FAPESP/POTAFOS, 2001. p. 285-308.

BARJA, B.C.; HERSZAGE J.; AFONSO, M.S. Iron (III) - phosphonate complexes. **Polyhedron**, v. 20, p. 1821-1830, 2001.

BATAGLIA, O. C.; DECHEN, A. R. Critérios alternativos para diagnose foliar. In: Simpósio Avançado de Química e Fertilidade do Solo, 1., Piracicaba, 1986. **Anais...** Campinas: Fundação Cargil, 1986. p. 115-136.

BATEMAN, K. P.; THIBAUT, P.; DOUGLAS, D.J.; WHITE, R. L. Mass spectral analyses of microcytins from toxic cyanobacteria-using on-line chromatographic and electrophoretic separations. **Journal Chromatography A**, Amsterdam, v. 712, n.1, p. 293-268, 1995.

BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G. A.; BERGONCI, J. L.; BIANCHI, C. A. M.; MÜLLER, A. G.; COMIRAN, F.; HECKLER, B. M. M. Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 9, p. 8310839, 2004.

BERNARDS, M. L.; THELEN, K. D.; PENNER, D. Glyphosate efficacy is antagonized by manganese. **Weed Technology**, v.19, p. 27-34, 2005a.

BERNARDS, M. L.; THELEN, K. D.; PENNER, D.; MUTHUKUMARAN, R. B.; McCracken, J. L. Glyphosate interaction with manganese in tank mixtures and its effect on glyphosate absorption and translocation. **Weed Science**, v. 53, p. 787–794, 2005b.

BOARETTO, A. E.; TRIVELIN, P. C. O.; MURAOKA, T. **Uso de Isótopos como Traçadores em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas**. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, p. 1-75, 2004.

BODE, P; HOFFMAN, E. L.; LINDSTROM, R. L.; PARRY, S. J.; ROSENBERG, R. J. **Practical Aspects of Operating a Neutron Activation Analysis Laboratory**, I.A.E.A. Tecdoc 564, Vienna, 1990.

BORGES, I. D. **Marcha de absorção de nutrientes e acúmulo de matéria seca no milho**. 2006. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Lavras-MG, Universidade Federal de Lavras, UFLA-Lavras, 2006.

BOTT, S.; TESHAMARIAM, T.; CANDAN, H.; CAKMAK, I.; RÖMHELD, V.; NEUMANN, G. Glyphosate-induced impairment of plant growth and micronutrient status in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* L.). **Plant and Soil**, v. 312, p. 185-194, 2008.

BOUÇAS, J. G. **Aplicação de Técnicas Nucleares nos estudos de avaliação da poluição do ar da região metropolitana de Belo Horizonte**, 2009. 314 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia das Radiações, Minerais e Materiais) – Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear – CDTN, Belo Horizonte, 2009.

BROADLEY, M.; BROWN, P.; CAKMAK, I.; RENGEL, Z.; ZHAO, F. Function of nutrientes: micronutrientes. In MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3th ed. Londres: Academic Press, 2012.

BROMILOW, R. H.; CHAMBERLAIN, K., TENCH, A. J.; WILLIAMS, R. H. Phloem translocation of strong acids glyphosate, substituted phosphonic and sulfonic acids in *Ricinus communis* L. **Pesticide Science**, v. 37, p. 39-47, 1993.

CAKMAK, I.; YAZICI, A.; TUTUS, Y.; OZTURK, L. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non-glyphosate resistant soybean. **European Journal of Agronomy**, v. 31, p. 114-119, 2009.

CALDARELLI, C. E.; BACCHI, M. R. P. Fatores de influência no preço do milho no Brasil. **Nova Economia**, Belo Horizonte, v. 22 p. 141-164, 2012.

CANBERRA A. **Practical guide to high count rate germanium gamma spectroscopy**, Disponível em < <http://www.canberra.com/pdf/literature/nan0013.pdf> > Acesso em: 23 abr. 2018.

CARNEIRO, Fernando et al. **Dossiê Abrasco: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular, 2015.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção**. 3 ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988.

CARVALHO, I. R. et al. Efeitos fisiológicos atribuídos ao teste de frio e adição de reguladores vegetais em híbridos de milho. **Scientia Plena**, v. 11, p. 030201, 2015.

CEDERGREEN, N. Herbicides can stimulate plant growth. **Weed Research**, v. 48, p. 429–438, 2008.

CID, A.S. **Evolução temporal da incorporação de  $^{137}\text{Cs}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Na}^+$  em plantas frutíferas tropicais e suas correlações com a fisiologia vegetal**, 2011. 78 f. Dissertação (Mestrado em Física) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, 2011.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Disponível em: <[www.conab.gov.br](http://www.conab.gov.br)>. Acesso em: 18 abr. 2018.

COSTA, L. A. **Análise por ativação neutrônica: estudo de interferências primárias nas determinações de alumínio, manganês e sódio**. 2007. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia das Radiações, Minerais e Materiais) – Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear – CDTN, Belo Horizonte, 2007.

COUPLAND, D.; PEABODY, D. V. Absorption, translocation, and exudation of Glyphosate, Fosamine and Amitrole in Field Horsetail (*Equisetum arvense*). **Weed Science**, v. 29, p. 556-60, 1981.

COUTINHO, E. L. M.; VELINE, E. D.; LEMUS ERASMO, E. A.; FLOREZ RONCANCIO, V. J.; MARTINS, D. Resposta do milho pipoca à adubação com zinco em condições de casa de vegetação. **Ciência Agrônômica**, Jaboticabal, v. 7, p. 31-36, 1992.

COUTINHO, E. L. M.; NATALE, W.; CONSOLINI, F.; SILVA, A. R.; FRANCO, H. C. J. Resposta do milho doce à adubação com zinco. **Revista Ecosistema**, v.26, p.181-186, 2001.

COUTO, C. *et al.* Níveis críticos de zinco e no solo e na planta para o crescimento de milho em amostras de solos com diferentes valores do fator capacidade. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Campinas, v. 16, p. 7987, 1992.

CHERIF, J.; MEDIOUNI, C.; AMMAR, W. B.; JEMAL, F. Interactions of zinc and cadmium toxicity in their effects on growth and in antioxidative systems in tomato plants (*Solanum lycopersicum*). **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 5, p. 837-844, 2011.

CRUVINEL, P. E.; CRESTANA, S.; ARTAXO, P.; MARTINS, J. V.; ARMELIN, M. J. A. Studying the spatial variability of Cr in agricultural field using both particle induced X-ra' emission (PIXE) and instrumental neutron activation analysis (INAA) technique. **Nuclear Instruments and Methods in Physics**, v. 109/110, p. 247-251, 1996.

DAYNARD, T. B.; TANNER, J. W.; HUME, D. J.; Contribution of stalk soluble carbohydrates to grain yield in corn (*Zea mays*). **Crop Science**, Madison, v. 9, p. 831-834, 1969.

DECHEN, A. R. HAAG, H. P., CARMELLO, Q. A. C. **Funções dos micronutrientes nas plantas**. In: FERREIRA, M.E, CRUZ, M.C.P. (Coord.) Micronutrientes na agricultura. Piracicaba: Instituto de Potassa e Fosfato, 1991. p. 65-78.

DECHEN, A. R; NACHTIGALL, G. R. **Elementos requeridos à nutrição de plantas**. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. Fertilidade do Solo. Viçosa-MG: SBCS, 2007.

DE CORTE, F. **The  $k_0$  – standardisation method: a move to the optimisation of neutron activation analysis**. 464 f. Thesis (Doctor) – Rijksuniversiteit Gent, Faculteit Van de Wetenschappen, Gent, 1986.

DE CORTE, F. The traceability of the neutron activation anlysis (NAA)  $k_0$  – standardization method. **Journal Trace and Microprobe Techniques**, v.5, n. 2-3, p. 115-134, 1987.

DE CORTE, F.  $k_0$  and Comparator NAA: Influences and Interactions. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 245, n.1, p. 157-161, 2000.

DE CORTE, F. The standardization of standardles NAA. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v. 248, n.1, p. 13-20, 2001.

DE RUITER, H.; UFFING, A.; MEINEN, E. Influence of surfactants and ammonium sulphate on glyphosate phytotoxicity to quackgrass (*Elytrigia repens*). **Weed Technology**, v. 10, p. 803-808, 1996.

DE SOETE, D.; GISBELS, R.; HOSTE, J. **Neutron activation analysis**. London: Wiley – Interscience, v.34, 1972, 834p.

DUARTE, J. O.; GARCIA, J.C.; CRUZ, J. C. M. **Aspectos econômicos da produção de milho transgênico**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. p. 1-15.

DUKE, S. O.; CEDERGREEN, N.; VELINI, E. D.; BELZ, R. G. Hormesis: is it an important factor in herbicide use and allelopathy? **Outlooks on Pest Management**, v. 17, p. 29- 33, 2006.

EKER, S.; LEVENT, O.; YAZICI, A.; ERENOGLU, B.; RÖMHELD, V.; ÇAKMAK, I. Foliar-applied glyphosate substantially reduced uptake and transport of iron and manganese in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 10019-10025, 2006.

EL-GHAWI, U.; VAJDA, N.; PÁTZAY, G.Y. Determination of some trace elements in natural and fertilised Libyan soils using INAA and ED-XRF. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.241, n.3, p.605-610, 1999.

ELLIS, J. M.; GRIFFIN, J. L. Soybean (*Glycine max*) and cotton (*Gossypium hirsutum*) response to simulated drift of glyphosate and glufosinate. **Weed Technology**, v. 16, p. 580-586, 2002.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília, Brasil, 2013. 353p.

EPSTEIN, E. Silicon. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **Plant Molecular Biology**. v. 50, p. 641-664, 1999.

ERENOGLU, E. B.; KUTMAN, U. B.; CEYLAN, Y.; YILDIZ, B.; ÇAKMAK, I. Improved nitrogen nutrition enhances root uptake, root-to-shoot translocation and remobilization of zinc (<sup>65</sup>Zn) in wheat. **New Phytologist**, Cambridge, v. 189, p. 438-448, 2011.

ESTEVEZ, M. B.; STEFANUTO, V. A.; DE NADAI FERNANDES, E.A.; BACCHI, M. A. **Análise por ativação neutrônica para determinação de elementos químicos em polpa de pequi**. In: 17º Simpósio Internacional de Iniciação Científica, 2009, Piracicaba. *Análise por ativação neutrônica para determinação de elementos químicos em polpa de pequi*, 2009.

EVANS, R. D. **The Atomic Nucleus**. New York: McGraw-Hill, 1972.

FAGERIA, N. K. Níveis adequados e tóxicos de zinco na produção de arroz, feijão, milho, soja e trigo em solo de cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, p.390-395, 2000.



FANCELLI, A. L. et al. Determinação do período de interferência de plantas daninhas em milho fundamentado nos estádios fenológicos da cultura. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 22, 1998, Recife. **Resumos...**Recife: Ideia, 1998. p.165.

FANCELLI, A. L.; DOURATO NETO, D. Fenologia do milho. In: **Milho: tecnologia e produtividade**. Piracicaba: ESALQ, LPV, 2001. 259 p.

FANCELLI, A. L. **O sistema de plantio direto: curso de especialização à distância: tecnologia da produção de milho**. Piracicaba: ESALQ, 2002.

FAQUIN, V. **Diagnose do estado nutricional**. Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” (Especialização) a Distância: Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas no Agronegócio. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. 77 p.

FARIAS, M. F.; SAAD, J. C. C. Qualidade comercial do crisântemo de vaso em ambiente protegido, cultivar puritan, irrigado sob diferentes tensões de água no substrato. **Irriga**, Botucatu, v. 8, p. 160-167, 2003.

FARINELLI, R.; JUNIOR, W. R. C. Resposta de cultivares de milho transgênico e convencional a densidades populacionais. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.13, n.3, p. 336-346, 2014.

FERNANDES, E. A.; NEPOMUCENO, N.; TREVIZAM, A. B.; AMORIM, H. V. From potential to reality: yeasts derived from ethanol production for animal nutrition. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 234, n.1-2, p.113-118, 1998.

FERNANDES, E. A. N.; TAGLIAFERRO, F. S.; BACCHI, M. A.; BODE, P.; TURRA, C. SANTOS, L. G. INAA as a tool to identify organically grown food. **Transactions of the American Nuclear Society**, La Grange Park, v. 91, p.847-848, 2004.

FERRARI, A. A. **Caracterização química de tomates (*Lycopersion esculentum* Mill.) empregando análise por ativação neutrônica instrumental**. 2008. 151 f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

FERREIRA, D. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, F. B.; PINTO, J. J. O.; ROMAN, E. S.; GALON, L.; REZENDE, A. L.; PROCÓPIO, S. O. Consequências da Deriva simulada do herbicida Glyphosate sobre a cultura do Arroz Irrigado (*Oriza sativa* L.). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 12, p. 309-312, 2006.

FERRAZ, E. S. B. Aplicações da energia nuclear para o desenvolvimento da agricultura brasileira. **Boletim de Divulgação**, USP-CNEN, Piracicaba, n. 1, p. 1-19, 1972.

FIGUEIREDO, L. A. **Nutrição nitrogenada (<sup>15</sup>N) em soja convencional e transgênica sob aplicação do herbicida glifosato**. 2009. 83f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

FIGUEIREDO, S. S.; LOECK, A. E.; ROSENTHAL, M. D.; AGOSTINETTO, D.; FONTANA, L. C.; RIGOLI, R. P. Influência de subdoses reduzidas do glyphosate no tomateiro (*Lycopersicon esculentum*). **Planta Daninha**, v. 25 p. 849-857, 2007.

FIORINI, I. V. A.; FIORINI, F. V. A.; PINHO, R. G. V.; LASMAR, C. S.; CARVALHO, M. R. Avaliação do ciclo somatório de graus dias e produtividade de híbridos de milho. In: **XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo** – Águas de Lindoia, 2012.

FURLANI, A. M. C.; FURLANI, P. R. Resposta de cultivares de milho a zinco em solução nutritiva. **Bragantia**, Campinas, v. 55, n. 2, p. 365-369, 1996.

FURLANI, A. M. C.; FURLANI, P. R.; MEDA, A. R.; DUARTE, A. P. Efficiency of maize cultivars for zinc uptake and use. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 62, n. 3, p. 264-273, 2005.

FRANÇA, A. C. **Ação do glyphosate sobre o crescimento e teores de nutrientes em cultivares de café arábica**. 2009. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Viçosa-MG, Universidade Federal de Viçosa, UFV- Viçosa, 2009.

FRANÇA, A. C.; FREITAS, M. A. M.; D'ANTONINO, L.; FIALHO, C. M. T.; SILVA, A. A.; REIS, M. R.; RONCHI, C. P. Teores de nutrientes em cultivares de café arábica submetidos à deriva de glyphosate. **Planta Daninha**, v. 28, n.4, p. 877-885, 2010.

FRANCISCONI, L. S. **Determinação de constituintes inorgânicos em plantas medicinais e seus extratos**. 2014. 144 f. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de tecnologia Nuclear) – IPEN, São Paulo, 2014.

FRANZEN, D. W.; BARR, J. H.; ZOLLINGER, R. K. Interaction of a foliar application of iron HEDTA and three postemergence broadleaf herbicides with soybeans stressed from chlorosis. **Journal of Plant Nutrition**, v. 26, p. 2365-2374, 2003.

GALRÃO, E. Z. Métodos de correção da deficiência de zinco para o cultivo de milho num latossolo vermelho-escuro argiloso sob cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.18, p. 229-33, 1994.

GALRÃO, E. Z. Níveis críticos de zinco para o milho cultivado em Latossolo Vermelho-Amarelo, fase cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 255-260, 1995.

GUERRA, A. F. Manejo da irrigação sob condições de cerrado visando a potencial de produção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 7, p. 1111-1118, 1994.

GODOY, M. C. **Efeitos do glyphosate sobre o crescimento e absorção de fósforo pela soja**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Botucatu – SP, Faculdade de Ciências Agrônomicas da UNESP - Campus de Botucatu, 2007.

GONÇALVES Jr., A. C. et al. Produtividade do milho em resposta a adubação com NPK e Zn em Argissolo Vermelho-Amarelo eutrófico e Latossolo Vermelho eutrófico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1231-1236, 2007.

GUEDES, E. M. S. **Avaliação de fontes, absorção foliar e translocação de zinco ( $^{68}\text{Zn}$ ) em laranjeiras**. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2012.

GUIZADO-VIDAL, D. A.; SANTOS, L. G. C.; BACCHI, M. A.; FERNANDES, E. A. N.; SANTOS, S. S. N. S. C. **Otimização da deconvolução espectral para determinação de Zn em folhas de plantas utilizando análise por ativação neutrônica**. In: VIII Simpósio dos Pós-graduandos do CENA. Ciência e Sociedade: interações, impactos e desafios, 2015, Piracicaba. Resumos dos Trabalhos Apresentados no VIII Simpósio dos Pós-graduandos do CENA, 2015.

GUTIÉRREZ, A. M. et al. Compartimentalização e redistribuição de zinco em plantas de milho sob dois níveis de adubação em latossolo no cerrado. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 31, 2016, Bento Gonçalves - RS. **Resumos...**, Bento Gonçalves 2016. p.427.

GLASCOCK, M. D. **An overview of neutron activation analysis**. Columbia: University of Missouri, 1996. Disponível em: <[http://web.missouri.edu/~glascock/naa\\_over.htm](http://web.missouri.edu/~glascock/naa_over.htm)>. Acesso em 28 abril 2018.

GRAVENA, R. **Respostas bioquímicas e fisiológicas de plantas de citros atingidas pelo glyphosate**. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Piracicaba - SP, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, 2006.

GREENBERG, R.R. Pushing the limits of NAA: Accuracy, uncertainty and detection limits. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.278, p.231-240, 2008.

GRUYS, K. J.; SIKORSKI, J. A. Inhibitors of tryptophan, phenylalanine and tyrosine biosynthesis as herbicides. In: SINGH, B. K. **Plant amino acids: biochemistry and biotechnology**. New York: Marcel Dekker, 1999. p. 357-384.

HALL, G.; HART, C.; JONES, C. Plants as sources of cations antagonistic to glyphosate activity. **Pest Management Science**, v. 56, p. 351 – 358, 2000.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 347p., 1950.

HOLDEN, N. IUPAC, Reporte BNL-NCS-51388, p. 1-6,1981.

HUBER D. M. Strategies to ameliorate glyphosate immobilization of manganese and its impact on the rhizosphere and disease. In: Lorenz N, Dick R (eds) **Proceedings of the glyphosate potassium symposium**. Ohio State University, AG Spectrum, DeWitt, Iowa, 2006.

HYPERLAB. **Institute of Isotopes**. V. 2009, User's manual. Budapest, (2009).

IGUE, K.; BLANCO, J. G.; ANDRADE SOBRINHO, J. Influência do zinco na produção do milho. **Bragantia**, v. 21, p. 263-9, 1962.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Handbook on nuclear activation cross sections**, Vienna: IAEA, 1974, 572p. (TECDOC-156).

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Practical aspects of operating a neutron activation analysis laboratory**. Vienna: IAEA, 1990, p. 7-32 (TECDOC – 564).

ISAAA. **Report on global status of Biotech/GM crops**. Disponível em: <<http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/43/pptslides/default.asp>>. Acesso em: 22 maio 2017.

ISO 13528: 2005. **Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons**. ISO, Geneve, Switzerland. ISO 13528: 2005.

JAMAMI, N.; BÜLL, L. T.; CORRÊA, J. C.; RODRIGUES, J.D. Resposta da cultura do milho (*Zea mays* L.) à aplicação de boro e de zinco no solo. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.28, p.99-105, 2006.

JAWORSKI, E. G. Mode of action of N-phosphonomethylglycine: Inhibition of aromatic amino acid biosynthesis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 20 p. 1195 -1198, 1972.

JIMBA, B.; IGE, T. Concentration of Cr, Fe, Co and Zn in some Nigerian food grains. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 144, n. 6, p. 447-452, 1990.

JOHAL, G. S.; HUBER, D. M. Glyphosate effects on diseases of plants. **European Journal of Agronomy**, v. 3, p. 144-152, 2009.

JOLLEY, V. D.; HANSEN N.C.; SHIFLER, A. K. Nutritional and management related interactions with iron deficiency stress response mechanisms. **Soil Science Plant Nutrition**, v. 50, p. 973–981, 2004.

JONES Jr. J. B. Plant tissue analysis for micronutrients. In: MORTVEDT, J. J.; GIORDANO, P. M.; LINDSAY, W. L. (Ed). **Micronutrients in agriculture**. Madison: Soil Science Society of America, 1972. p. 319-346.

JÚNIOR, J. A. S; AMARAL, R. S; SILVA, C. M.; MENEZES, R. S. C.; BEZERRA, J. D. Estudo comparativo entre os detectores HPGe e NaI (TI) na determinação de  $^{238}\text{U}$ ,  $^{232}\text{Th}$  e  $^{40}\text{K}$  em amostras de solo. **Scientia Plena**. 5, 1-16, 2009.

JURKOWSKA, H. et al. The effect of N-fertilization rate on the levels of mineral components in various plant species: Part II. Microelements. **Rolnictwo Z**, v. 29, p. 51-64, 1990.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. CRC Press, Boca Raton, Florida, 2011.

KAYZERO FOR WINDOWS<sup>®</sup>, “**User’s Manual, for reactor neutron activation analysis (NAA) using the  $k_0$  standardisation method**”, Ver. 2.42.  $k_0$ -Ware, Heerlen, The Netherlands; 2011.

KNOLL, G. F., **Radiation detection and measurements**. 2<sup>o</sup> Ed. New York, John Wiley & Sons, 754p. 2000.

KOLOTOV, V. P.; DE CORTE, F. Compilation of  $k_0$  and related data for neutron Activation Analysis (NAA) in the form of an electronic database. **Pure Applied Chemistry**, v. 76, n. 10, p. 1921-1925, 2004.

KRUSE, N. D.; TREZZI, M. M.; VIDAL, R. R. Herbicidas inibidores da EPSPs: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Brasília, v. 1, n.2, p.139-146, 2000.

KRUSE, N. D.; MICHELANGELO, M. T.; VIDAL, A. V. Herbicidas Inibidores da EPSPs: Revisão de literatura. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 1, p. 139-146, 2002.

LEAL, R. M. et al. Efeito da aplicação de zinco em sementes sobre a nutrição e a produção de massa seca de plantas de milho. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.29, p.491-496, 2007.

LEITE, U. T.; AQUINO, B. F.; ROCHA, R. N. C.; SILVA, J. Níveis críticos de boro, cobre, manganês e zinco em milho. **Bioscience Journal**, v.19, p.115-125, 2003.

LUCCONI, G.; CICORIA, G.; PANCALDI, D.; LODI, F.; MALIZIA, C.; FANTI, S.; BOSCHI, S.; MARENGO, M. Use of  $^{65}\text{Zn}$  as a tracer for the assessment of purification in the  $^{68}\text{Ga}$ -DOTANOC synthesis. **Applied Radiation and Isotopes**, p. 27-31, 2013.

LUNKES, J. A.; SILVA, J. B.; ANDRADE, M. J. B.; KARAM, D. Efeito de subdoses de Glyphosate simulando deriva sobre a cultura do feijão. Pesticidas: **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 8, p. 127-148, 1998.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. Fisiologia da produção. In: CRUZ, J. C. (Ed). **A cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. cap. 3, p. 64-87.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1976. 528p.

MALAVOLTA, E.; BOARETTO, A. E.; PAULINO, V. T. Micronutrientes: uma visão geral. In: FERREIRA, M. E; CRUZ, M. C. P. **Micronutrientes na agricultura**. Piracicaba: POTAFOS, 1991. p. 1-34.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

MALAVOLTA, E.; MORAES, M. F.; LAVRES JÚNIOR, J.; MALAVOLTA, M. Micronutrientes e metais pesados – essencialidade e toxidez. In: PATERNIANI, E. (Ed). **Ciência, agricultura e sociedade**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. Cap. 4, p.117-154.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638p.

MANNAN, A.; WAHEED, S.; QURESHI, I. H. Concentration and distribution of toxic elements in rice and husk. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 140, n. 1, p. 91-102, 1990.

MARTINEZ, H. E. P.; CARVALHO, J. G.; SOUZA, R. B. Diagnose foliar. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V., V. H. (eds.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. 5ª Aproximação. Viçosa: UFV, 1999. p. 143-168.

MARTINS, T. C. G.; DE NADAI FERNANDES, E.A.; BACCHI, M. A.; FERRARI, A.A. **Estudo da determinação de fósforo em tomate utilizando análise por ativação neutrônica instrumental e medição da radiação de freamento**. In: 17º Simpósio Internacional de Iniciação Científica, 2009. Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP, 2009.

MARZANO, F. N.; BRACCHI, P. G.; PIZZET, P. Radioactive and conventional pollutants accumulated by edible mushrooms (*Boletus sp*) are useful indicators of species origin. **Environmental Research A** 85, p. 260-264, 2001.

MELLO, R.; NÖRNBERG, J. L.; ROCHA, M. G. Potencial produtivo e qualitativo de híbridos de milho, sorgo e girassol para silagem. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 87-95, 2004.

MENDELSON, J. Roundup o herbicida mais vendido no mundo. **The Ecologist**, Camelford, v.28, p. 24-27, 1998.

MENEZES, M. A. B. C. **Avaliação da exposição e contaminação por metais em galvanoplastias utilizando filtros de ar e biomonitores**. 2002. 263f. Tese (Doutorado em Ciência-Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

MENEZES, M. A. B. C.; SABINO, S. V. S.; FRANCO, M. B.; KASTNER, G. F.; ROSSI, E. H. M.  $k_0$ -Instrumental neutron activation analysis establishment at CDTN, Brazil: A successful story. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 257, n. 3, p. 627-632, 2003.

MENEZES, M. A. B. C.; PALMIERI, H. E. L.; LEONEL, L. V.; NALINI, J. R. H. A; JACIMOVIC, R. Iron Quadrangle, Brazil: Elemental concentration determined by  $k_0$ -instrumental neutron activation analysis. Part I: Soil samples. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 270: p. 117-121, 2006a.

MENEZES, M. A. B. C.; PALMIERI, H. E. L.; LEONEL, L. V.; NALINI, J. R. H. A; JACIMOVIC, R. Iron Quadrangle, Brazil: Elemental concentration determined by  $k_0$ -instrumental neutron activation analysis. Part II: Kale samples. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 270: p. 111-116, 2006b.

MENEZES, M. A. B. C.; JACIMOVIC, R. Optimised  $k_0$ -instrumental neutron activation method using the TRIGA MARK I IPR-R1 reactor at CDTN/CNEM, Belo Horizonte, Brazil, **Nuclear Instruments & Methods in Physics Research A**, v.564, p. 707-715, 2006.

MENEZES, M. A. B. C.; JACIMOVIC, R. Validation of the  $k_0$ -IAE software using SMELS material at CDTN/CNEN. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 278, n. 3, p. 607-611, 2008.

MENEZES, M. A. B. C.; JACIMOVIC, R. Implementation of a methodology to analyse cylindrical 5-g sample by neutron activation technique,  $k_0$  method, at CDTN/CNEN, Belo

Horizonte, Brazil, **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 300, p. 523-531, 2014.

MESQUITA, A. Z.; REZENDE, H.C. Canais de medida de potência do reator nuclear de pesquisa Triga IPR-R1 por processos térmicos. In: CONGRESSO IBEROAMERICANO DE ENGENHARIA MECANICA, 8., 2007, Cusco. **Anais...** Cusco: CIBIM8, 2007.

MILAGRES, J. J. M.; ALVAREZ V. V. H.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. Determinação de Fe, Zn, Cu e Mn extraídos do solo por diferentes extratores e dosados por espectrofotometria de emissão ótica em plasma induzido e espectrofotometria de absorção atômica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 31:237-245, 2007.

MONQUERO, P. A. **Dinâmica populacional e mecanismos de tolerância de espécies de plantas daninhas ao herbicida glyphosate**. 2003. 111f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

MONQUERO, P. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; OSUNA, M. D., PRADO, R. A. Absorção, translocação e metabolismo do glyphosate por plantas tolerantes e suscetíveis a este herbicida. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 22, n. 3, p. 445-451, 2004.

MONQUERO, P. A. Plantas transgênicas resistentes aos herbicidas: situação e perspectivas. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 4, p. 517-531, 2005.

MONSANTO DO BRASIL. 2018. Disponível em: < <http://www.monsanto.com.br/>> Acesso em: 19 jan. 2018.

NANDULA, V. K.; REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O.; POSTON, D. H. Glyphosate-resistant and susceptible soybean (*Glycine max*) and canola (*Brassica napus*). Dose response and metabolism relationships with glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 3540-3545, 2007.

NEUMANN, G.; KOHLS, S.; LANDSBERG, E.; STOCK-OLIVEIRA S. K.; YAMADA, T.; RÖMHELD, V. Relevance of glyphosate transfer to non-target plants via the rhizosphere. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 20, p. 963-969, 2006.

NICOLAI, M. **Desempenho da cultura de milho (*Zea mays* L.) submetida a aplicação de herbicidas pós-emergentes em diferentes situações de manejo**, 2004. 113 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

NILSSON, G. **Interactions between glyphosate and metals essencial for plant growth**. In: E. Grossbard and D. Atkinson, The herbicide Glyphosate. London: Butterworths. 1985; 35-47.

NISSIM, I.; YUDKOFF, M.; BROSNAM, J.T. Regulation of [<sup>15</sup>N] urea synthesis from [5-<sup>15</sup>N] glutamine. Role of Ph, hormones, and pyruvate. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 271, n.49, p. 3234-3242, 1996.

NOVAIS, R. F.; NEVES, J. C. L.; BARROS, N. F. Controlled environment test. In: Oliveira A. J; Garrido W. E; Araújo, J. D; Lourenço S. editores. *Methods of research in soil fertility*. Brasília, Brasil: Embrapa-SEA (3rd Documents). 1991.

OLIVEIRA, K. A. P.; SPERLING, E. V.; MENEZES, M. A. B. C.; BRITO, W.; JACOMINO, V. M. F. Use of nuclear techniques in the study of the behavior of rare earth elements on the use of phosphogypsum in Cerrado agriculture. **International Journal of Nuclear Governance, Economy and Ecology (Print)**, v. 3, p. 274-279, 2011.

OLIVEIRA, K. A. P.; MENEZES, M. A. B. C.; VON SPERLING, E.; JACOMINO, V. M. F. Transfer Factor of Rare Earth Elements from Phosphogypsum Amended Brazilian Tropical Soils to Lettuce, Corn and Soybean. **The Journal of Solid Waste Technology and Management**, v. 38, p. 202-210, 2012.

OLIVEIRA, K. A. P.; MENEZES, M. A. B. C.; JACOMINO, V. M. F.; SPERLING, E. V. Use of nuclear technique in samples for agricultural purposes. **Engenharia Agrícola (Impresso)**, v. 33, p. 46-54, 2013.

OLIVEIRA, M. F. Mecanismos de ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JR. R. S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p. 207-260.

ORIOLI JÚNIOR, V.O.; PRADO, R.M.; LEONEL, C.L.; CAZETTA, D.A.; SILVEIRA, C.M.; QUEIROZ, R.J.B.; BASTOS, J.C.H.A.G. Modos de aplicação de zinco na nutrição e na produção de massa seca de plantas de trigo. **Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal**, v.8, p.28-36, 2008.

OTHMAN, I.; AKANCLE, O. A.; RAMSBOTTOM, S. J.; SPYROU, N. M. The determination of trace elements in Syrian tobacco by INAA. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 195, n. 1, p. 195-202, 1995.

OZTURK, L.; YACIKI, A.; EKER, S.; GOKMEN, O.; RÖMHELD, V.; CAKMAK, I. Glyphosate inhibition of ferric reductase activity in iron-deficient sunflower roots. **New Phytologist**, v. 177, p. 899 – 906, 2008.

PADGETTE, S. R., et al. Development, identification, and characterization of a glyphosate tolerant soybean line. **Crop Science**, Madison, v.35, n.5, p.1451-1461, 1995.

PARRY, S. J. **Handbook of neutron activation analysis**. Woking: Viridian Publishing, 2003, 243p.

PAULA, J. L.; DUARTE, M. N. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p. (EMBRAPA-CNPS. Documentos; 1).

PERIM, P.; PRANDO, M. B.; ROSOLEM, C. A. Cinética de absorção de fósforo em soja transgênica após a aplicação de glyphosate. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 10, n.2, p.143-150. 2011.

PIASANTIN, R.M.; ARMELIN, M. J. A.; PRIMAVERSL O.; CRUVINEL, P. E. Study on the mineral extraction of legume and grass species from various soil types, by instrumental



neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Articles, v.238, n.1-2, p.7-12, 1998.

PIASENTIN, R.M.; ARMELIN, M. J. A.; PRIMAVESI, O.; SAIKI, M. Study on the absorption of Fe, Mn, Mo and Zn by two cultivars of pigeonpea (*Cajanus cajan*, Millsp) submitted to two doses of fertilizers using INAA. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 244, n. 2, p. 295-297, 2000.

PIONNER (Empresa de Sementes) 2018. Disponível em: <<http://www.pioneersementes.com.br/biotecnologia/roundup-ready2>> Acesso em 20 jan. 2018.

PURQUERIO, L. F. V.; TIVELLI, S. W. **Manejo do ambiente em cultivo protegido**. 2006. Disponível em: <[http://www.iac.sp.gov.br/tecnologia/MANEJO\\_Cultivo\\_protegido.htm](http://www.iac.sp.gov.br/tecnologia/MANEJO_Cultivo_protegido.htm)>. Acesso em 10 fev. 2018.

PLINE-SRNIC, W. Physiological mechanisms of glyphosate resistance. **Weed Technology**, Lawrence, v. 20, n. 2, p. 290-300, 2006.

PRADO, R.M.; ROMUALDO, L.M.; ROZANE, D.E.; VIDAL, A.A.; MARCELO, A.V. Modos de aplicação de zinco na nutrição e na produção de matéria seca do milho BRS 1001. **Bioscience Journal**, v.24, p.67-74, 2008.

PRIMAVESI, O.; PIASENTIN, R. M.; ARMELIN, M. J. A.; PRIMAVESL A. C. P. A.; PEDROSO, A. F. Caracterização mineral de insumos agrícolas, pelo método de análise por ativação com nêutrons In: Simpósio Nacional de Instrumentação Agropecuária 2, 1999, São Carlos. **Anais...** EMBRAPA, 2000.

RAIJ, B. VAN.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. Chemical analysis for fertility evaluation of tropical soils. Campinas: **Instituto Agrônomo de Campinas**. 2001. 285p.

REDDY, K. N.; HOAGLAND, R. E.; ZABLOTOWICZ, R. M. Effect of glyphosate on growth, chlorophyll, and nodulation in glyphosate-resistant and susceptible soybean (*Glycine max*) varieties. **Journal of New Seeds**, v. 2, p. 37 – 52, 2001.

RESENDE, G. M.; SILVA, G. L.; SILVA, G. L.; PAIVA, L. E.; DIAS, P. F.; CARVALHO, J. G. Resposta do milho (*Zea mays* L.) a doses de nitrogênio e potássio em solo da região de Lavras- MG. III. Micronutrientes na parte aérea. **Ciência e Agrotecnologia.**, v. 21, n. 1, p. 71-6, 1997.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J.; BENSON, J. B. **How a corn plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1993. 26 p. (Special Report, 48).

RIZZARDI, M. A.; FLECK, N. G.; AGOSTINETTO, D.; BALBINOT JR, A. A. Ação de herbicidas sobre mecanismos de defesa das plantas aos patógenos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n.5, p. 957-965, 2003.

RIZZARDI, M. A.; KARAM, D.; CRUZ, M. B. Manejo e Controle de Plantas Daninhas em milho e sorgo. In: VARGAS, L.; ROMAN, E. S. (Ed) **Manual de Manejo e Controle de Plantas Daninhas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004. p. 571-594.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de Herbicidas**. 4. ed. Londrina: IAPAR, 1998. 648p.

RODRIGUES, J. J. V.; WORSHAM, A. D. CORBIN, F. T. Exudation of glyphosate from wheat (*Triticum aestivum*) plants and its effects on interplanted corn (*Zea mays*) and soybeans (*Glycine max*). **Weed Science**, v. 30, p. 316-320, 1982.

RÖMHELD, V. Dinâmica do glifosato na rizosfera das plantas-alvo e não alvo. **Informações Agronômicas**, v. 119, p. 3-5, 2007.

ROSOLEM, C. A.; FRANCO, G. R. Translocação de Zn e crescimento radicular em milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 807-814, 2000.

RUITER, De. H.; UFFING, A.; MEINEN, E. Influence of surfactants and ammonium sulphate on glyphosate phytotoxicity to quackgrass (*Elytrigia repens*). **Weed Technol**, v. 10, p. 803 – 808, 1996.

SALLES, P. M. B. et al. Inorganic elements in sugar samples consumed in several countries. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 308, n. 2, p. 485- 493, 2016.

SANTOS, A. R. L.; SILVA, C. J.; DELGADO, J. U.; TAVARES, D. Y. S.; SILVA, R. L.; POLEDNAR, R.; IWAHARA, A. **Padronização absoluta do <sup>65</sup>Zn pelo método de anticoincidência 4πβ-γ**. 4º Congresso Brasileiro de Metrologia das Radiações Ionizantes, 2017, Rio de Janeiro/RJ, novembro de 2017.

SANTOS, L. G.; FERNANDES, E. A. N.; BACCHI, M. A.; TAGLIAFERRO, F. S.; TSAI, S. M. Evaluation of conventional and organic beans by instrumental neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v. 270, n. 1, p.249-252, 2006.

SANTOS, H.C.; FRAGA, V.S.; RAPOSO, R.W.C.; PEREIRA, W.E. Cu e Zn na cultura do sorgo cultivado em três classes de solos – (I) Crescimento vegetativo e produção. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.13, p.125–130, 2009.

SEEPRASERT P.; ANURAKPONGSATORN P.; LAOHAROJANAPHAND S.; BUSAMONGKOL A. Instrumental neutron activation analysis to determine inorganic elements in paddy soil and rice and evaluate bioconcentration factors in rice. **Agriculture and Natural Resources**, v. 51, p. 154 - 157, 2017.

SERRA, A. P.; MARCHETT, M. E.; CANDIDO, A. C. S.; DIAS, A. C.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Influência do glifosato na eficiência nutricional do nitrogênio, manganês, ferro, cobre e zinco em soja resistente ao glifosato. **Ciência Rural**, v.41, n.1, 2011.

SILVA, J. B.; RODRIGUES, M. A.T.; BEGLIOMINI, E. Indicações para o controle de plantas daninhas na cultura do milho em pós-emergência com o herbicida Sanson 40 SC e sua mistura 1+2 com atrazine. **O Ruralista**, Sete Lagoas, v.35, n.440, p. 9-11, set/nov. 1998.

SILVA, W.; FERREIRA, L. R.; SILVA, A. A.; FIRMINO, L. E. Taxa transpiratória de mudas de eucalipto em resposta a níveis de água no solo e à convivência com braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 5, p. 923-928, 2000.

SIMONITS, A.; DE CORTE, F.; HOSTE, J. Single-comparator methods in reactor neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 24, n.1, p. 31-46, 1975.

SIMONITS, A.; ÖSTÖR, J.; KÁLVIN, S.; FAZEKAS; B. HyperLab: A new concept in gamma-ray spectrum analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 257, n. 3, p. 589-595, 2003.

SINGN, S. P.; WISHNOK, J. S.; KESHIVE, M.; DEEN, W. N.; TANNEMBAUM, S. R. The chemistry of nitrosogluthione /glutathione system. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 93, n. 25, p. 14428-14433, 1996.

SMODIS, B.; JACIMOVIC, R.; JOVANOVIC, S; STEGNAR, P. Determination of trace elements in standard reference materials by the  $k_0$  – standardization method. **Biological Trace Element Research**, v. 27, p. 43-51, 1990.

SOUTHAM, C. M., ERLICH, J. Effects of extract of western red-cedar heartwood on certain wood-decaying fungi in culture. **Phytopathology**, v. 33, p. 517-524, 1943.

SOUZA, E. A.; SANTIAGO, G.; OLIVEIRA, L. C. L. COUTINHO, E. L. M.; LIMA, L. A. Resposta de milho (*Zea mays* L.) à adubação com fósforo e zinco. **Científica**, v. 13, p. 39-49, 1985.

SOUZA, E. C. A.; COUTINHO, E. L. M.; NATALE, W.; BARBOSA, J. C. Respostas do milho à adubação com fósforo e zinco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, p. 1998.

SCHABENBERGER, O.; THARP, B. E.; KELLS, J. J.; PENNER, D. Statistical testes for hormesis and effective dosage in herbicide dose-response. **Agronomy Journal**, v. 91, p. 713-721, 1999.

STIPP, S. R.; YAMADA, T. Nutrição e Adubação do Milho. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, v. 44, p. 3-6, dez. 1988.

STOYANOVA, Z.; DONCHEVA, S. The effect of zinc supply and succinate treatment on plant grown and mineral uptake in pea plant. **Brazilian Journal Plant Physiology**, Campinas, v.14, n.2, p.111-116, 2002.

SYNGENTA BRASIL. 2018. Disponível em: <https://www.portalsyngenta.com.br/produtos/agrisure-viptera-3#> Acesso em: 18 abr. 2018.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**, 3rd ed., Sinauer Associates Inc., Massachusetts, USA, 2004.

TAIZ, L., ZEIGER, E., MOLLER, I.M., MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858p.

TAVARES, C. R. O. **Síntese do glifosato marcado com nitrogênio-15**. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

TIECHER, T. L. **Alterações Fisiológicas em milho cultivado em solo com alto teor de cobre e submetido à aplicação de zinco**. 2014. 44 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência do Solo, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.

TUFFI, S. L. D.; WAGNER JÚNIOR, A.; SILVA, J. O. C.; PIMENTEL, L. D.; SANTOS, C. E. M.; BRUCKNER, C. H.; FERREIRA, F. A. Deriva de herbicidas e efeito de fungicida x herbicida em plantas jovens de pessegueiro. **Planta Daninha**, v. 24, p. 505-512, 2006.

TUFFI, S. L. D.; SIQUEIRA, C. H.; BARROS, N. F.; FERREIRA, F. A.; FERREIRA, L. R.; MACHADO, A. F. L. Crescimento e concentração de nutrientes na parte aérea de eucalipto sob efeito de deriva do Glyphosate. **Cerne, Lavras**, v. 13, n. 4, p. 347-352, 2007.

TURRA, C.; FERNANDES, E. A. N.; BACCHI, M. A.; TAGLIAFERRO, F. S.; FRANÇA, E. J. Differences between elemental composition of orange juices and leaves from organic and conventional production systems. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v. 270, n. 1, p.203-208, 2006.

THELEN, K. D.; JACKSON, E.P. PENNER, D. The basis for the hard-water antagonism of glyphosate activity. **Weed Science**, v. 43, p. 541-548, 1995.

THORNE, N. Zinc deficiency and its control. **Advances in Agronomy**, v.9, p. 31-61, 1957.

TRIVELIN, P. C. O.; RODRIGUÊS, J. C. S.; VICTÓRIA, R. L. Utilização por soqueira de cana-de-açúcar de início de safra do nitrogênio da aquamônia-<sup>15</sup>N aplicado ao solo em complemento á vinhaça. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 89-99, 1996.

TREZZI, M. M.; KRUZE, N. D.; VIDAL, R. A. Inibidores de EPSPS. In: VIDAL, R. A.; MEROTTO JUNIOR, A. (Ed). **Herbicidologia**. Porto Alegre: Evangraf, 2001. P. 37-45.

UNITED STATES DEPARTAMENT OF AGRICULTURE (USDA). Glyphosate, Pesticide Fact Shett. Washington: Information Ventures Inc., 2003. 9p. Disponível em <https://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome>>. Acesso em 20 jan. 2018.

UNDABEYTIA, T.; CHESHIRE, M. V.; McPHAIL, D. Interaction of the herbicide glyphosate with copper in humic complexes. **Chemosphere**, v. 32, p. 1245-1250, 1996.

VALDES, C.; ASH, M. Economic impacts of biotech soybeans in Brazil on agricultura markets. In: In: MOSCARDI, F. et al. (Ed.). **World soybean research conference**. Londrina: Embrapa Soja, 2004. p. 341. (Embrapa Soja. Documentos, 228).

VARENNE, A. **Produtividade dos Solos e Ambiente**, Escolar Editora, 1º Ed., ISBN 972-592-156-9, Lisboa, Portugal, 2003.

VASCONCELLOS, C. A.; VIANA, M. C. M.; FERREIRA, J. J. Acúmulo de matéria seca e de nutrientes em milho cultivado no período de inverno-primavera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, p. 1835-45, 1998.

VELINI, E. D. et al. Avaliação da seletividade da mistura de oxyfluorfen e ametryne, aplicada em pré ou pós-emergência, a dez variedades de cana-de-açúcar (cana-planta). **Planta Daninha**, Viçosa, v.18, n.1, p.123-134, 2000.

VELLINI, E. D.; ALVES, E.; GODOY, M. C.; MECHEDE, D. K.; SOUZA, R. T.; DUKE, S.O. Glyphosate applied at low subdoses can stimulate plant growth. **Pest Management Science**, v. 64, p. 489-496, 2008.

VIDAL, R. A. **Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas**. Porto Alegre: Ribas Vidal, 1997. 165p.

XU, T.; COWARD, J. K.  $^{13}\text{C}$ -and  $^{15}\text{N}$ -labeled peptide substrates as mechanistic probes of oligosaccharyltransferase. **Biochemistry**, Washington, v. 36, n. 48, p. 14683-14689, 1997.

WAGNER JÚNIOR, A.; TUFFI, S. L. D.; SANTOS, C. E. M.; SILVA, J. O. C.; PIMENTEL, L. D. BRUCKNER, C. H.; FERREIRA, F.A. Deriva simulada de formulações comerciais de glyphosate sobre Maracujazeiro Amarelo. **Planta Daninha**, v. 26, p. 677-683, 2008.

WALLBRINK, P.; WALLING, D.; HE, Q. **Assessment of Soil Erosion and Sedimentation Using Environmental Radionuclides: Radionuclide Measurement Using HPGe Gamma Spectrometry**, p. 67-96, 2007. DOI: 10.1007/0-306-48054-9\_5.

WANG, C. F.; DUO, M. J.; CHANG, E. E.; YNAG, J. J. Essential and toxic trace elements in the Chinese medicine. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 211, n. 2, p. 333-347, 1996.

WAQUIL, J. M.; MENDES, S. M.; VASCONCELOS, M. J.; PAIVA, E.; GUIMARÃES, C. T. O produtor pergunta, a Embrapa responde. In: CRUZ, J. C.; MAGALHÃES, P. C.; FILHO, I. A. P.; MOREIRA, J. A. A. (Ed). **Manejo de Milho Transgênico**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2011. p.204-216.

WEISS, D. J.; MASON, T. F. D.; ZHAO, F. J.; KIRK, G. J. D.; COLES, B. J.; HORSTWOOD, M. S. A. Isotopic discrimination of zinc in higher plants. **New Phytologist**, New York, v. 165, p. 703-710, 2005.

WILLS, G. D.; McWHORTER, C. G. Effect of inorganic salts on the toxicity and translocation of glyphosate and MSMA in purple nutsedge (*Cyperus rotundus*). **Weed Science**, v. 33, p. 755-761, 1985.

WINDMÖLLER, C. C.; SANTOS, R. C.; ATHAYDE, M.; PALMIERI, H. E. L. Distribuição e especiação de mercúrio em sedimentos de áreas de garimpo de ouro do quadrilátero ferrífero (MG). **Química Nova**, 30:1088-1094, 2007.

WU, C.; LU, L.; YANG, X.; FENG, Y.; WEI, Y.; HAO, H.; STOFFELLA, O. J.; HE, Z. Uptake, translocation, and remobilization of zinc absorbed at diferente growth stages by rice genotypes of diferente Zn densities. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Finland, v. 58, p.6767-6773, 2010.

YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S.; Simpósio questiona as causas dos problemas de nutrição e doenças de plantas na agricultura moderna. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 119. P. 1-24, 2007. (Encarte Técnico).

YAMADA T.; BORK, P. Evolution of biomolecular networks: lessons from metabolic and protein interactions. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 10, p. 791-803, 2009.

YAMASHITA, O. M.; GUIMARÃES, S. C. Resposta de cultivares de algodoeiro a subdoses de glyphosate. **Planta Daninha**, v. 23, p 627-633, 2005.

YAMUSA Y. A.; AHMED Y. A.; MUSA Y.; TUKUR M.; GARBA N. N.; ISMAILA A. B.; JATAU B. D. Elemental evaluation of local cereal by instrumental neutron activation analysis using NIRR-1 facility. **Archives of Applied Science Research**, v. 5, p. 84-88, 2013.

ZAFAR IQBAL, M.; ABDUL QADIR, M. Determination of Hg, Co, Cr, Zn and Fe in various plant leaves using neutron- activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 144, n. 1, p.35-45,1990.

ZHANG, F. S. Effect of zinc nutritional status on the zinc uptake in wheat. **Acta Phytobiologica Sinica**, v. 19, n. 2, p. 143-148, 1993.

ZHANG, G. **Studies of the physiology of zinc uptake and its relevance to field application in pistachio and walnut**. 1995. 239p. Dissertation (Doctor in Physiology And Ecology) University of California, Davis. EUA. 1995.

## ANEXO

Exemplo de uma análise estatística realizada do Experimento 1: Ensaio em Solução Nutritiva.

Variável analisada: **MASSA DA MATÉRIA SECA DAS FOLHAS TOTAIS**

Opção de transformação: Variável sem transformação ( Y )

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES ZINCO	1	8.364050	8.364050	0.396	0.5408
DOSES GLIFOSATO	2	288.528700	144.264350	6.834	0.0104
DOSES ZINCO*DOSES GL	2	18.392033	9.196017	0.436	0.6567
erro	12	253.315867	21.109656		
Total corrigido	17	568.600650			
CV (%) =	28.31				
Média geral:	16.2316667	Número de observações:	18		

Obs. Codificações usadas para as FV do quadro de ANAVA

- 1: DOSES ZINCO
- 2: DOSES GLIFOSATO
- 3: DOSES ZINCO\*DOSES GLIFOSATO
- 4: Fim

Teste Scott-Knott (1974) para a FV DOSES ZINCO

NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 9

Erro padrão: 1,53150817299504

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
0	15.550000	a1
0,22	16.913333	a1

Teste Scott-Knott (1974) para a FV DOSES GLIFOSATO

NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 6

Erro padrão: 1,87570678036998

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1480	10.573333	a1
0	18.883333	a2
370	19.238333	a2

**Análise do desdobramento de DOSES ZINCO dentro de cada nível de:  
DOSES GLIFOSATO**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES ZINCO /1	1	24.969600	24.969600	1.183	0.0298
DOSES ZINCO /2	1	0.904817	0.904817	0.043	0.8395
DOSES ZINCO /3	1	0.881667	0.881667	0.042	0.8415
Erro	12	253.315867	21.109656		

-----  
 Codificação usada para o desdobramento

cod. DOSES GLIFOSATO

1 = 0  
 2 = 370  
 3 = 1480

Teste de Scott-Knott (1974) para o  
 desdobramento de DOSES ZINCO dentro da codificação:

1

Obs. Identifique a codificação conforme valores apresentados anteriormente

NMS: 0,05

-----  
 Média harmônica do número de repetições (r): 3

Erro padrão: 2,6526499678344  
 -----

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
0	16.843333	a1
0,22	20.923333	a2

-----  
 0  
 0,22

Teste de Scott-Knott (1974) para o  
 desdobramento de DOSES ZINCO dentro da codificação:

2

Obs. Identifique a codificação conforme valores apresentados anteriormente

NMS: 0,05

-----  
 Média harmônica do número de repetições (r): 3

Erro padrão: 2,6526499678344  
 -----

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
0	18.850000	a1
0,22	19.626667	a1

-----  
 0  
 0,22

Teste de Scott-Knott (1974) para o  
 desdobramento de DOSES ZINCO dentro da codificação:

3

Obs. Identifique a codificação conforme valores apresentados anteriormente

NMS: 0,05

-----  
 Média harmônica do número de repetições (r): 3

Erro padrão: 2,6526499678344  
 -----

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
0,22	10.190000	a1
0	10.956667	a1

-----  
 0,22  
 0

**Análise do desdobramento de DOSES GLIFOSATO dentro de cada nível de:  
 DOSES ZINCO**

-----  
 TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES GLIFOSATO /1	2	100.984267	50.492133	2.392	0.0129
DOSES GLIFOSATO /2	2	205.936467	102.968233	4.878	0.0269
Erro	12	253.315867	21.109656		

-----  
 Codificação usada para o desdobramento

cod. DOSES ZINCO

1 = 0  
 2 = 0,22

Teste de Scott-Knott (1974) para o  
 desdobramento de DOSES GLIFOSATO dentro da codificação:

1



-----  
 Obs. Identifique a codificação conforme valores apresentados anteriormente  
 NMS: 0,05  
 -----

Média harmônica do número de repetições (r): 3  
 Erro padrão: 2,6526499678344  
 -----

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1480	10.956667 a1	
0	16.843333 a2	
370	18.850000 a2	

-----  
 Teste de Scott-Knott (1974) para o  
 desdobramento de DOSES GLIFOSATO dentro da codificação:  
 2  
 -----

Obs. Identifique a codificação conforme valores apresentados anteriormente  
 NMS: 0,05  
 -----

Média harmônica do número de repetições (r): 3  
 Erro padrão: 2,6526499678344  
 -----

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1480	10.190000 a1	
370	19.626667 a2	
0	20.923333 a2	

-----  
 Variável analisada: **CONCENTRAÇÃO DE ZINCO NA PARTE AÉREA**  
 -----

Opção de transformação: Variável sem transformação ( Y )  
 -----

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES DE ZINCO	1	9325.195267	9325.195267	1.0E+0009	0.0000
DOSES DE GLIFOSATO	2	5213.334533	2606.667267	1.0E+0009	0.0000
DOSES DE ZINCO*DOSES	2	12122.426533	6061.213267	1.0E+0009	0.0000
erro	0	0.000000000E+0000	0.000000000E+0000		
Total corrigido	5	26660.956333			

CV (%) = 0.00  
 Média geral: 165.7433333 Número de observações: 6  
 -----

Obs. Codificações usadas para as FV do quadro de ANAVA  
 -----

1: DOSES DE ZINCO  
 2: DOSES DE GLIFOSATO  
 3: DOSES DE ZINCO\*DOSES DE GLIFOSATO  
 4: Fim  
 -----

Teste Scott-Knott (1974) para a FV DOSES DE ZINCO  
 -----

NMS: 0,05  
 -----

Média harmônica do número de repetições (r): 3  
 Erro padrão: 0  
 -----

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
0	126.320000 a1	
0,22	205.166667 a1	

-----  
 Teste Scott-Knott (1974) para a FV DOSES DE GLIFOSATO  
 -----

NMS: 0,05  
 -----

-----  
 Média harmônica do número de repetições (r): 2  
 Erro padrão: 0  
 -----

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
370	132.550000 a1	
1480	160.500000 a1	
0	204.180000 a1	

-----  
**Análise do desdobramento de DOSES DE ZINCO dentro de cada nível de:  
 DOSES DE GLIFOSATO**  
 -----

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES DE ZINCO /1	1	21102.796800	21102.796800	1.0E+0099	0.0000
DOSES DE ZINCO /2	1	330.245000	330.245000	1.0E+0099	0.0000
DOSES DE ZINCO /3	1	14.580000	14.580000	1.0E+0099	0.1895
Erro	0	0.000000	0.000000		

-----  
 Codificação usada para o desdobramento

cod. DOSES DE GLIFOSATO

1 = 0

2 = 370

3 = 1480

-----  
 Teste de Scott-Knott (1974) para o  
 desdobramento de DOSES DE ZINCO dentro da codificação:

1

Obs. Identifique a codificação conforme valores apresentados anteriormente

NMS: 0,05  
 -----

Média harmônica do número de repetições (r): 1  
 Erro padrão: 0  
 -----

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
0	101.460000 a1	
0,22	306.900000 a2	

-----  
 Teste de Scott-Knott (1974) para o  
 desdobramento de DOSES DE ZINCO dentro da codificação:

2

Obs. Identifique a codificação conforme valores apresentados anteriormente

NMS: 0,05  
 -----

Média harmônica do número de repetições (r): 1  
 Erro padrão: 0  
 -----

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
0	119.700000 a1	
0,22	145.400000 a2	

-----  
 Teste de Scott-Knott (1974) para o  
 desdobramento de DOSES DE ZINCO dentro da codificação:

3

Obs. Identifique a codificação conforme valores apresentados anteriormente

NMS: 0,05  
 -----

Média harmônica do número de repetições (r): 1  
 Erro padrão: 0  
 -----

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
0	157.800000 a1	
0,22	163.200000 a1	

-----  
**Análise do desdobramento de DOSES DE GLIFOSATO dentro de cada nível de:  
 DOSES DE ZINCO**  
 -----

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DOSES DE GLIFOSAT/1	2	1652.834400	826.417200	1.0E+0099	0.0000
DOSES DE GLIFOSAT/2	2	15682.926667	7841.463333	1.0E+0099	0.0000
Erro	0	0.000000	0.000000		

Codificação usada para o desdobramento

cod. DOSES DE ZINCO

1 = 0

2 = 0,22

Teste de Scott-Knott (1974) para o  
 desdobramento de DOSES DE GLIFOSATO dentro da codificação:

1

Obs. Identifique a codificação conforme valores apresentados anteriormente

NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 1

Erro padrão: 0

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
0	101.460000	a1
370	119.700000	a2
1480	157.800000	a3

Teste de Scott-Knott (1974) para o  
 desdobramento de DOSES DE GLIFOSATO dentro da codificação:

2

Obs. Identifique a codificação conforme valores apresentados anteriormente

NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 1

Erro padrão: 0

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
370	145.400000	a1
1480	163.200000	a2
0	306.900000	a3