

FITOINTOXICAÇÃO CAUSADA POR DERIVA DE GLYPHOSATE EM SOJA CONVENCIONAL

GAZZIERO, D.L.P.¹; ADEGAS, F.S.¹; VOLL, E.¹; CERDEIRA, A.²; MATALO, M.³; KARAM, D.⁴; VARGAS, L.⁵; OSIPE, R.⁶; ALMEIDA, S.D.B.³; FRANCO, D.A.S.³; MOURA e MELO, M.A.M.³

¹Embrapa Soja; ²Embrapa Meio Ambiente; ³Instituto Biológico-SP; ⁴Embrapa Milho e Sorgo;

⁵Embrapa Trigo, ⁶UENP-CLM.–Embrapa Soja Cx Postal 231, CEP 86001-970 gazziero@cnpso.embrapa.br

Resumo

Para simular as conseqüências da deriva de glyphosate na soja convencional, BRS 232, foram conduzidos cinco experimentos, em Londrina, PR, Brasil. Os tratamentos contemplaram doses isoladas do herbicida e em mistura com sulfato de manganês. Estas doses correspondem à volumes que variaram de 0,6% a 38% da dose comumente indicada na soja resistente. Os resultados mostraram desde leve clorose até a morte de plantas na dose mais alta. Houve acúmulo de ácido chiquímico nas plantas tratadas com glifosate, tanto nos folíolos desenvolvidos como em desenvolvimento, sendo que nesse caso, esse acúmulo ocorreu no intervalo entre 1 e 10 dias após aplicação dos tratamentos (DAT). Após 30 DAT, os níveis de ácido chiquímico retornaram ao normal, não diferindo significativamente daqueles observados nas plantas testemunha. Perdas de rendimento foram observadas a partir de 0,48 l de glyphosate p.c. ha⁻¹ (0,31 g.i.a.ha⁻¹), sugerindo que, caso ocorra deriva deste produto para lavouras de soja convencional a eliminação não é necessária na maioria dos casos, pois a cultura tem condições de se recuperar .

Palavras chave: soja transgênica; fitointoxicação;

Abstract

This study was conducted to verify the effect of glyphosate drift on conventional soybean, (non herbicide resistant) cultivar BRS 232. Four experiments were made in Londrina, PR, Brazil. The treatments were glyphosate alone and with manganese sulphate + urea, at concentration varying from 0.6% to 38% of the usual glyphosate rate, used in glyphosate resistant soybean (GRS). Effects on chlorosis intensity and death of plants mainly at the highest rate were observed. High yield losses were detected with 0.48 L.p.c.ha⁻¹, (0.311 g.i.a.ha⁻¹). Shikimic acid levels increased in plants treated with glyphosate in both developed and developing leaflets between 1 and 10 days after treatment (DAT). After 30 DAT, Shikimic acid levels returned to normal and did not differ significantly from those observed in control plants. Yield losses were observed from 0.48 Lha⁻¹ of formulated glyphosate (0.31 g.i.a.ha⁻¹), suggesting that in the event of drift of this product to conventional soybean, crop elimination is not necessary in most cases because the crop is able to recover.

Words key: transgenic soybean; phytotoxicity

Introdução

Glyphosate é um produto registrado no Brasil há mais de 30 anos, para controlar mais de 150 plantas consideradas daninhas (Rodrigues & Almeida, 2005). Atua na síntese de aminoácidos de cadeia aromática inibindo a enzima EPSPs (enol-piruvil-shiquimato-fosfato sintase) cuja rota sintetiza proteínas, vitaminas (K e E), hormônios, alcalóides e outros produtos essenciais ao crescimento e desenvolvimento das plantas. As culturas modificadas geneticamente para resistência ao glyphosate apresentam uma seqüência alterada para a enzima EPSPs. A modificação genética é feita pela introdução de um gene denominado CP4 proveniente de uma bactéria do gênero *Agrobacterium*, encontrada no solo e que confere insensibilidade à enzima EPSPs ao glyphosate (Madsen & Jensen, 1998; Trezzi et al., 2001). Na soja, a dose comercial normalmente varia de 1,5 a 2,5 l. p.c. ha⁻¹, da formulação de glyphosate 480 g. e.a., ou 648 g i.a. Com a liberação de plantio da soja transgênica resistente ao glyphosate, aumentaram os problemas com a deriva desse produto na soja não modificada, conhecida como convencional. O objetivo do presente trabalho foi estudar os efeitos da simulação da deriva de glyphosate na soja convencional.

Material e métodos

Foram conduzidos cinco experimentos na Embrapa Soja, sendo dois na safra de 2007/08, dois na de 2008/09 e um na de 2009/10. A cultivar utilizada foi a BRS 232, não transgênica. Os tratamentos constaram de glyphosate, nas doses de 0,015; 0,03; 0,06; 0,12; 0,24; 0,48; 0,96 litros do produto comercial ha⁻¹, além de

uma testemunha e a dosagem de 0,12 em combinações com sulfato de manganês ($MnSO_4$) + uréia (N) (Tabelas 1 e 2). A formulação utilizada foi 648g. i.a. de sal isopropilamina - 480g de equivalente ácido (e.a). As aplicações foram realizadas com pulverizador a CO_2 com vazão de 200 l.ha^{-1} de calda. As avaliações de fitointoxicação foram realizadas com auxílio de uma escala com os seguintes conceitos: 0 a 30% - ausência de sintomas ou dano leve; 31 a 60% - dano mediano; 61 a 100% - dano com possibilidade de prejuízo no rendimento. No final do ciclo da cultura foi analisado o peso de grãos em cada um dos experimentos.

Em todos os experimentos o delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com 4 repetições. Os dados foram submetidos a análise da variância pelo teste F e as medias comparadas pelo teste Scott-Knott. O experimento 1 foi semeado em 07/11/2007 em parcelas de 10 m^2 de área total. A simulação da deriva foi feita com a aplicação dos tratamentos sobre a soja, aos 30 dias após a emergência (DAE), no estádio V6. O Sulfato de manganês + uréia foi aplicado com a soja em V8. O experimento 2 foi semeado em 10/12/2007. Utilizou-se, a mesma dimensão de parcelas, e as mesmas formas de avaliação que no experimento 1. Porém, as aplicações de simulação foram feitas um pouco mais tarde, com a soja no estádio V8 e a aplicação de sulfato de manganês + uréia em R1. O experimento 3 foi semeado em 04/11/2008 em parcelas de 20 m^2 de área total. A simulação da deriva foi feita aos 15 dias após a emergência (DAE), com a soja no estádio fenológico V2. No tratamento 8, sulfato de manganês + uréia foi aplicado quando a soja estava em V3. No tratamento 9, a aplicação foi feita mistura em tanque. O experimento 4 Diferenciou do experimento 3 pela época de aplicação dos tratamentos. A aplicação foi feita aos 30 DAE com a soja no estádio V5. No tratamento 8, o sulfato de manganês + uréia, foi aplicado com a soja em V8. No tratamento 9 manganês + uréia foi misturado no tanque. Para complementar as informações sobre os efeitos da simulação, nos experimentos 3 e 4 foi medida a área do trifólio, que por ocasião da aplicação estava em início de desenvolvimento, bem como o teor de clorofila. No experimento 4 também foi analisado o índice de vegetação por diferença de normalidade. O experimento 5 foi conduzido na safra 2010 com as mesmas características dos experimentos anteriores, porém com o objetivo de gerar informação sobre os teores de ácido chiquímico nas plantas que receberam diferentes quantidades de glyphosate. A aplicação foi realizada 20 dias após a emergência com a soja no estádio V4. Trifolios desenvolvidos e em desenvolvimento foram coletados em diferentes períodos, após a aplicação, secos em estufas e analisados por HPLC, de acordo com metodologia descrita por Matallo et. al (2009)..

Resultado e discussão

No experimento 1 a fitointoxicação mostrou dano visual praticamente desprezível até a dose de $0,12 \text{ l.ha}^{-1}$ do produto comercial. A partir de $0,24 \text{ l.ha}^{-1}$ os sintomas aumentaram consideravelmente chegando a 100% com a maior dosagem. Quanto ao rendimento de grãos, observou-se que apenas as duas maiores doses interferiram significativamente na redução (Tabela 1). No experimento 2 ocorreu a mesma tendência quanto ao impacto visual, porém com intensidade um pouco maior na primeira avaliação com $0,12 \text{ l.ha}^{-1}$, quando o dano foi considerado mediano. Mas a cultura mostrou rápida recuperação e novamente as maiores doses foram as que provocaram reduções significativas no rendimento. O uso de sulfato de manganês + uréia aplicado após o herbicida, não resultou em benefícios aparentes nos dois experimentos. A intensidade do dano de glyphosate, variou com as doses de simulação e caracterizou-se por clorose, redução na área do trifólio em desenvolvimento e morte de planta, nas maiores concentrações. Segundo Trezzi et al. (2001), as plantas afetadas por glyphosate apresentam sintomas que variam conforme a espécie, tamanho e condições de umidade e temperatura e se manifestam pela paralisação do crescimento, plantas murchas, clorose, necrose e finalmente plantas mortas.

Tabela 1. Percentual de fitointoxicação e rendimento de grãos, após a aplicação do herbicida (DAA), nos experimentos de simulação de deriva de glyphosate em soja convencional. Embrapa Soja 2008.

Tratamentos	I.A (l/g.ha^{-1})	P.C (l.ha^{-1})	Experimento 1		Experimento 2		
			Fito(%)	Rendimento	Fito (%)		Rendimento
			16DAA	(Kg ha^{-1})	7DAA	14DAA	(Kg ha^{-1})
1 – Gly ¹	0,010	0,015	3,0	3.900 ^c	8,8	0,0	2.542 ^c
2 – Gly	0,019	0,03	7,5	3.542 ^c	6,3	0,5	2.766 ^c
3 – Gly	0,039	0,06	6,3	3.668 ^c	11,3	0,0	2.762 ^c
4 – Gly	0,078	0,12	7,5	3.971 ^c	37,5	2,5	2.938 ^c
5 – Gly	0,156	0,24	56,3	2.985 ^c	43,8	15,0	2.756 ^c
6 – Gly	0,311	0,48	81,3	1.341 ^b	78,8	55,0	1.294 ^b
7 – Gly	0,622	0,96	100,0	0 ^a	100,0	100,0	184 ^a
9 Gly + MnSO ₄ + N	0,078+ 350+0,5%vv	0,12+ 1,5+ 0,5% v.v	2,0	3.554 ^c	40,0	5,0	2.867 ^c
8 – TSA	-	-	0,0	3.813 ^c	0,0	0,0	2.568 ^c

¹Glyphosate: Roundup Transorb - TSA: Testemunha sem aplicação MnSO₄: Sulfato de Manganês - N: Ureia 45%. ² Medias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Scott Knott a 5%.

No experimento 3, o dano visual também foi mediano com a dosagem $0,12 \text{ l.ha}^{-1}$, mas com rápida recuperação (Tabela 2). O percentual de fitointoxicação foi maior com o aumento de dose. A partir de $0,48 \text{ l.ha}^{-1}$ a recuperação foi mais lenta, mas apenas com $0,96 \text{ l.ha}^{-1}$ ocorreu redução significativa da produção. No experimento 4, a simulação da deriva com $0,24 \text{ l.ha}^{-1}$ apresentou dano mediano, rápida recuperação, e o rendimento não foi estatisticamente diferente das menores dosagens. Porém, doses de $0,48 \text{ l.ha}^{-1}$ ou mais, reduziram o rendimento. O uso de sulfato de manganês e uréia aplicado junto com o herbicida evidenciou efeito, reduzindo o dano visual. Avaliações complementares de área foliar, clorofila e índice de diferenciação de vegetação reforçam os resultados das avaliações visuais e de rendimento. No experimento 5, o acúmulo de ácido chiquímico pelas plantas de soja, no caso dos folíolos em desenvolvimento, a (Tabela 3) ocorreu incremento não significativo nos teores desse composto frente à dose de $0,03 \text{ L.ha}^{-1}$ de glyphosate. A partir de $0,06 \text{ L.ha}^{-1}$ desse herbicida, tanto aplicado sozinho ou em mistura com MnSO_4 e nitrogênio em aplicação única ou seqüencial, mostrou haver um aumento significativo na concentração de ácido chiquímico, superior à testemunha, com picos ocorrendo aos 3 DAT para todas as concentrações exceto na dose de $0,48 \text{ L.ha}^{-1}$ cujo pico de concentração ocorreu aos 7 DAT. A partir dos 10 DAT os níveis de ácido chiquímico tendem a decair, alcançando aos 30 DAT valores estatisticamente semelhantes ao detectado na testemunha, indicando uma possível degradação do glyphosate pelas plantas ao ácido aminometilfosfônico, consideravelmente menos ativo do que o glyphosate (Reddy et. al., 2004). Os resultados mostram que a deriva de glyphosate, caracterizada por doses iguais ou superiores a $0,06 \text{ L.ha}^{-1}$ desse produto, produziu um intervalo de 1 a 10 dias após a aplicação, no qual o ácido chiquímico permanece significativamente elevado, acima do normal, antes da planta se recuperar de sua aplicação, de acordo com os resultados obtidos por Anderson et. al. (2001).

Os resultados deste trabalho mostram que a soja BRS 232 suporta dosagem de $0,24 \text{ l.ha}^{-1}$ ($0,156 \text{ g.i.a.}$) de glyphosate, embora a avaliação visual e outras medições tenham sugerido possibilidade de danos com reflexo na produtividade. O aumento na quantidade de ácido chiquímico pode ser utilizado como um indicativo de fitointoxicação por glyphosate em soja convencional.

Literatura citada

ANDRESSON, K.A.; COBB, W.T.; LOPER, B.R. Analytical Method For v Determination of Shikimic Acid: Shikimic Acid Proportional to Glyphosate Application Rates. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 32 (17 &18), 2831-2840 (2001)

MADSEN, K.H. ; JENSEN, J.E. **Meeting and training on risk analysis for HRCs and exotic plants.** Piracicaba: FAO, 1998. 101p.

MATALLO, M.B.2, ALMEIDA, S.D.B.2, CERDEIRA, A.L.3, FRANCO, D.A.2, BLANCO, F.M.G.2, MENEZES, P.T.C.2, LUCHINI, L.C.4, MOURA, M.A.M.2 and DUKE, S.O. MICROWAVE-ASSISTED SOLVENT EXTRACTION AND ANALYSIS OF SHIKIMIC ACID FROM PLANT TISSUES **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 27, p. 987-994, 2009. Número Especial

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de Herbicidas**, 5^a ed., Londrina: 2005. 591p.

REDYY, K.N.; RIMANDO, A.M.; DUKE, S.O. **Aminomethylphosphonic Acid, Metabolite of Glyphosate, Causes Injury in Glyphosate-Treated, Glyphosate-Resistant Soybean.** *J. Agric. Food Chem*, 2004, 52, 5139-5413.

TREZZI, M.M; KRAUSE, N.D.; VIDAL, R.A. **Inibidores de EPSPs.** In: VIDAL, R.A. & MEROTO, Jr., A. **Herbologia.** Porto Alegre, 2001. 152p.

Tabela 2. Percentual de fitointoxicação e rendimento de grãos, após a aplicação do herbicida (DAA), nos experimentos de simulação de deriva de glyphosate em soja convencional. Embrapa Soja 2009.

Tratamentos	I.A (lt./kg ha ⁻¹)	P.C (lt. ha ⁻¹)	Experimento 3						Experimento 4							
			Fitointoxicação (%)			Rend. (Kg. ha ⁻¹)	Área foliar (cm ²) ²	Cloro fila ³	Fitointoxicação (%)				Rend. (kg ha ⁻¹)	Área foliar (cm ²)	Cloro fila ³	NDVI ⁴
			5 DAA	16 DAA	23 DAA				7 DAA	15 DAA	21 DAA	28 DAA				
1 – Gly ¹	0,010	0,015	0,8	0,8	0	3.397 ^b	829 ^e	32 ^g	0	0,5	0,5	0	3.621 ^c	1.749 ^c	29 ^g	0,55 ^a
2 – Gly	0,019	0,03	2,5	2	0,8	3.019 ^b	882 ^e	31 ^f	0	0,8	1,3	1,3	3.358 ^c	1.609 ^c	29 ^g	0,51 ^c
3 – Gly	0,039	0,06	17,5	3,8	0	3.490 ^b	864 ^e	27 ^e	0,8	0	0	0	3.502 ^c	1.716 ^c	29 ^g	0,58 ^a
4 – Gly	0,078	0,12	50	10	0,8	3.152 ^b	688 ^d	22 ^d	16,3	5	1,8	0,8	3.304 ^c	1.668 ^c	24 ^e	0,58 ^a
5 – Gly	0,156	0,24	75	50	25	3.359 ^b	581 ^c	11 ^c	42,5	12,5	4	0	3.215 ^c	1.203 ^c	18 ^c	0,46 ^c
6 – Gly	0,311	0,48	86,3	86,3	81,3	2.816 ^b	375 ^b	8 ^b	70	45	42,5	35	2.756 ^b	745 ^b	14 ^b	0,33 ^b
7 – Gly	0,622	0,96	100	99,5	99,5	659 ^a	74 ^a	0 ^a	87,5	83,8	82,5	81,3	1.159 ^a	150 ^a	0 ^a	0,23 ^a
8 - Gly + MnSO ₄ + N (seqüencial)	0,078 +350 0,5%	0,12+ 1,5+ 0,5 %v.v	52,5	14,5	1,3	3.595 ^b	713 ^e	21 ^h	20	5	5	0,8	3.431 ^c	1.525 ^c	21 ^h	0,57 ^a
9- Gly + MnSO ₄ +N (única)	0,078 +350 0,5%	0,12+ 1,5+ 0,5%v.v	22,5	2,8	0	3.415 ^b	884 ^d	30 ^d	5,5	1,5	0,8	0	3.426 ^c	1.611 ^c	28 ^b	0,51 ^a
10 – TSA	-	-	0	0	0	3.222 ^b	842 ^e	35 ^f	0	0	0	0	3.423 ^c	2.268 ^c	32 ^f	0,60 ^c

¹Glyphosate: Roundup Transorb - TSA: Testemunha sem aplicação - MnSO₄: Sulfato de Manganês - N: Uréia 45%.

²Utilizado com aparelho LI3100, para medir área foliar (aos 10 DAA e 7 DAA respectivamente para experimentos 3 e 4). ³Feito com aparelho SPAD502, para clorofila (aos 10 DAA e 7 DAA respectivamente para os experimentos 3 e 4). ⁴ NDVI: índice de vegetação por diferença de normalidade feito com aparelho Greenseeker(7 DAA). ⁵Medias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Scott Knott a 5%.

Tabela 3. Valores médios de produtividade e quantidade de ácido chiquímico presente nos folíolos em diferentes épocas após aplicação dos tratamentos. Embrapa Soja 2010.

Trat. (PC. lt ha ⁻¹)	Kg.ha ⁻¹	Acido Chiquímico mg.kg ⁻¹										
		Folíolo em desenvolvimento ²						Folíolos desenvolvidos				
		9/12/09	11/12/09	15/12/09	17/12/09	8/1/09	19/12/09	21/12/09	24/12/09	28/12/09	9/12/09	11/12/09
1 DAA	3 DAA	7 DAA	10 DAA	30 DAA	1 DAA	3 DAA	7 DAA	10 DAA	1 DAA	7 DAA		
		Seq.	Seq.	Seq.	Seq.	Seq.	Seq.	Seq.	Seq.	Seq.	Seq.	
1 – Gly ¹ (0,015)	2.583,1 ^c	209,4 ^a	145,2 ^a	86,6 ^a	35,7 ^a	208,8 ^a	-	-	-	-	176,3 ^a	146,4 ^a
2 – Gly (0,03)	2.775,5 ^c	509,4 ^a	868,1 ^a	145,5 ^a	63,9 ^a	189,6 ^a	-	-	-	-	355,2 ^a	461,9 ^a
3 – Gly (0,06)	2.508,3 ^c	3.139,0 ^b	8.781,4 ^b	2.540,7 ^b	185,1 ^a	224,5 ^a	-	-	-	-	1.596,9 ^b	3.999,3 ^a
4 – Gly (0,12)	2.528,4 ^c	4.263,0 ^b	12.948,0 ^c	8.472,7 ^c	2.171,5 ^b	214,0 ^a	-	-	-	-	2.913,8 ^b	8.300,2 ^b
5 – Gly (0,24)	2.405,8 ^c	8.381,4 ^c	19.553,2 ^d	18.841,9 ^d	13.467,1 ^c	192,3 ^a	-	-	-	-	5.759,4 ^c	9.407,3 ^b
6 – Gly (0,48)	659,7 ^b	10.194,4 ^d	21.183,2 ^e	23.034,4 ^e	18.500,1 ^d	206,8 ^a	-	-	-	-	5.729,0 ^c	15.066,9 ^c
7 – Gly (0,96)	0,0 ^a	11.688,2 ^d	22.755,6 ^e	22.369,8 ^e	-	-	-	-	-	-	10.261,8 ^d	23.255,1 ^d
8 - Gly + MnSO4 + N (única) (0,12+1,5)	2.665,6 ^c	6.342,9 ^c	11.241,2 ^c	3.154,0 ^b	582,2 ^a	191,8 ^a	-	-	-	-	1.624,2 ^b	2.189,5 ^a
9 - Gly + MnSO4 + N (sequencial) (0,12+1,5)	2.513,9 ^c	7.277,9 ^c	12.469,0 ^c	9.590,9 ^c	2811,4 ^b	192,8 ^a	874,6	215,3	48,6	138,1	2.923,5 ^b	4.879,4 ^a
10 – TSA	2.678,4 ^c	61,4 ^a	123,5 ^a	68,5 ^a	103,2 ^a	188,9 ^a	-	-	-	-	97,8 ^a	102,8 ^a
CV%	11,6	29,1	14,5	14,5	16,3	14,1	-	-	-	-	45,7	55,9

¹Glyphosate: Roundup Transorb - TSA: Testemunha sem aplicação - MnSO₄: Sulfato de Manganês - N: Uréia 45%. ²Medias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Scott Knott a 5%