



Toxicidade do herbicida 2,4-D sobre germinação de sementes de *Lycopersicon esculentum* L.

Roberta Sorhaia Samayara Sousa Rocha de França^a, Jean Carlo Possenti^b, Asser Botelho Santana^a

^a Universidade Federal da Grande Dourados, Brazil

^b Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brazil

* Autor correspondente (robertassrf@hotmail.com)

INFO

Keywords

tomatoes
pesticides
seedling phytotoxicity

ABSTRACT

Toxicity of 2,4-D herbicide on seed germination of Lycopersicon esculentum L.

Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D ($C_8H_6Cl_2O_3$)) is a herbicide widely used in the national territory. The World Health Organization (WHO) classifies 2,4-D as low toxic, harmful if ingested or inhaled. Studying the effects of its use in seeds of fruits that are on the table of the Brazilian, contributes in the scope of research and especially agriculture. Tomato seeds (*Lycopersicon esculentum* L.) originates from South America, and is grown almost all over the world, has high commercial value and the fruit has gastronomic importance and health benefits generating high consumption. The present work analyzed the effect of herbicide 2,4-D toxicity on the germination of *L. esculentum* seeds in 7 and 14 days. The experiment followed a completely randomized design, using one control and three concentrations of the herbicide 2,4-D (0.04, 0.08 and 0.12 mg/mL) with four replications. It was used as substrate germitest paper, allocated in gerbox and deposited in germination chamber at the temperature of 25 °C and 14 days. Data normality (Shapiro-Wilki) was used to choose the appropriate statistical test and better data presentation. The data did not show normality with a p-value lower than 0.05, the Kruskal-Wallis and Dunn posteriori tests were performed. Tomato seeds were completely intolerant to the herbicide. Even at low concentrations, there was no germination, only of the witness. The 2,4-D was for the germination of tomato seeds.

RESUMO

Palavras-chaves

tomate
agrotóxicos
fitotoxicidade de plântulas

O ácido diclorofenóxiacético (2,4-D ($C_8H_6Cl_2O_3$)) é um herbicida utilizado em larga escala no território nacional. A Organização Mundial de Saúde (OMS) classifica o 2,4-D como extremamente tóxico, nocivo se ingerido ou inalado. Estudar os efeitos do seu uso em sementes de frutos que estão na mesa do brasileiro, contribui no âmbito da pesquisa e especialmente da agricultura. As sementes de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) é originário da América do Sul, e é cultivado em quase todo o mundo, tem alto valor comercial e possui importância gastronômica e benefícios a saúde gerando alto consumo. O presente trabalho analisou o efeito da toxicidade do herbicida 2,4-D na germinação de sementes de *L. esculentum* em 7 e 14 dias. O experimento seguiu delineamento inteiramente casualizado, utilizando uma testemunha e três concentrações do herbicida 2,4-D (0,04; 0,08 e 0,12 mg/mL) com quatro repetições. Foi utilizado como substrato papel germitest, alocado em caixa gerbox e depositadas em câmara de germinação na temperatura de 25 °C, a contagem das sementes germinadas foi realizada aos 7 e 14 dias. Foi feita a normalidade dos dados (Shapiro-Wilki) para a escolha do teste estatísticos adequado e melhor apresentação dos dados. Os dados não apresentaram normalidade com valor de p menor que 0.05, foi feito o teste de Kruskal-Wallis e posteriori de Dunn. As sementes de tomate mostraram-se totalmente intolerante ao herbicida. Mesmo em baixas concentrações, não houve germinação, apenas da testemunha. O 2,4-D apresentou-se a germinação de tomate.

Received 15 October 2022; Received in revised from 06 Dezember 2022; Accepted 08 Dezember 2022



INTRODUCTION

O 2,4-D está entre um dos herbicidas mais usados e antigos do mundo, tendo sido desenvolvido nos anos 40, durante a Segunda Guerra Mundial (1939-1945) (Miranda, 2012). O ácido diclorofenóxiacético, 2,4-D ($C_8H_6Cl_2O_3$) é largamente utilizado para aplicação na pré ou pós-emergência de plantas infestantes em cultivos de trigo, soja, milho, arroz, cana-de-açúcar e pastagens é classificado como extremamente tóxico (Macedo Neto et al., 2012).

O herbicida 2,4-D é um ácido orgânico, com pKa 2,6, e possui uma solubilidade de 45 g/L em água. Sua dose letal (DL_{50}) oral é de 370 mg/kg (em coelhos) e por via dérmica é de 1400 mg/kg (em camundongos) (Vieira et al., 1999). Os modos de utilização indicados na monografia do ingrediente ativo 2,4-D permitem que ele possa estar presente em diversas matrizes como ar, água, solo, contaminando diretamente as pessoas que residem próximas a áreas onde ele é pulverizado. A ANVISA classifica o 2,4-D como Classe I (ANVISA, 2022), ou seja, Extremamente Tóxico. Esse critério baseia-se, unicamente, nos efeitos agudos, que a substância é capaz de produzir após a exposição única em animais de laboratório (ANVISA, 2022; Friedrich, 2014).

O 2,4-D pode ser absorvido, ou seja, penetrar nos organismos através da respiração (via inalatória), da pele (via dérmica), da ingestão de água ou de alimentos contaminados, incluindo o leite materno (via oral), ou através da placenta. Além disso, as pessoas podem ser expostas ao 2,4-D em diferentes momentos da vida, como intra-útero, lactação, infância, adolescência, fase adulta e senescência (Friedrich, 2014).

Nas plantas, herbicidas com ação agonistas as auxinas, como o 2,4-D, agem de maneira semelhante a esses hormônios vegetais, interrompendo processos naturais, ocasionando respostas de forma desregulada nos tecidos e órgãos vegetais. Com atuação sinérgica à outros compostos, fato que favorece sua aplicação, altas concentrações de 2,4-D estimulam a síntese de ácido abscísico (ABA), que por sua vez atua no fechamento dos estômatos diminuindo a fixação do carbono. Com altas incidências de radiação solar, o ABA tende a acumular peróxido de hidrogênio, molécula esta capaz de causar estresse oxidativo nas células aumentando o fitotoxicidade (Kelley e Riechers, 2007; Cobb e Reade, 2010).

Com alterações relacionadas diretamente a estrutura celular, agonistas de auxinas agem na descontinuação do citoesqueleto como também inibindo a ação do peroxissomos, organelas responsáveis por proteger a planta contra espécies reativas de oxigênio. Em nível gênico, eles ativam genes ligados pela síntese de etileno e ABA, ocasionando

uma produção massiva de espécies reativas de oxigênio, promovendo uma descontinuação da parede celular, ou seja, uma modificação estrutural. Estas moléculas de oxigênio reativo reagem fortemente com os fosfolípidos presentes na membrana plasmática, ocasionando rompimentos na mesma e consequentemente vazamento do citosol e morte celular (Christoffoleti et al., 2015).

Fontana (2021), avaliou de forma comparativa, os efeitos ocasionados pela aplicação de distintas subdoses de 2,4-D sobre quatro espécies cultivadas eudicotiledôneas consideradas sensíveis a esse herbicida, umas das foi o tomateiro, que foi afetada significativamente, com fitotoxicidade de até 90% nos tratamentos. Segundo Bhatia et al. (2004) o tomate é cultivado em quase todos os países do mundo e parte integrante da dieta em todo o mundo, é uma das principais hortaliças que alcançou enorme popularidade no último século. Estudos estabeleceram uma ligação entre a ingestão dietética de tomates, uma importante fonte do antioxidante licopeno, e um risco reduzido de câncer e doenças cardiovasculares (Agarwa e Av, 2000).

As sementes de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) apresentam alto valor comercial e, ainda, pela forma de comercialização (embalagens impermeáveis), merecem atenção especial quanto ao seu potencial fisiológico (Guedes et al., 2010). Com base no exposto, o presente trabalho teve como objetivo analisar o efeito de diferentes concentrações do herbicida 2,4-D sobre a germinação de sementes de *L. esculentum*.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Análises de Sementes da Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Campus Dois Vizinhos. Foram utilizadas sementes de tomate orgânicas, desprovidas de tratamento químico e acondicionadas em embalagens herméticas câmara fria à 10 °C e 20% de umidade relativa do ar. Estas foram desinfestadas com hipoclorito 3% por 10min.

Para as espécies estudadas, o experimento seguiu delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e quatro repetições, onde os tratamentos constaram de 4 concentrações de 2,4-D (testemunha = 0; 0,04; 0,08 e 0,12 mg/mL, utilizando uma testemunha e três concentrações do herbicida 2,4-D. Para cada tratamento, foram feitas quatro repetições de 100 sementes. Para obtenção dos tratamentos foram diluídas as concentrações do herbicida 2,4-D, utilizando água destilada, e volume final de 50 mL para cada tratamento.

Foi utilizado como substrato papel germitest estéril. Este foi alocado em caixa gerbox e umedecido

com a solução do herbicida de acordo com cada tratamento, em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Para a testemunha (concentração zero), foi utilizada água destilada no mesmo volume que o tratamento químico.

Após a aplicação dos tratamentos no substrato, foram dispostas as sementes de modo uniforme sem sobreposição, de forma que todas entrassem em contato direto com o herbicida. Finalizada esta etapa as caixas gerbox foram devidamente tampadas e alocadas em câmara de germinação na temperatura de 25 °C, sem fotoperíodo, por um período de 14 dias.

A contagem das sementes germinadas foi realizada aos 7 dias e 14 dias, contados após a instalação do experimento, sendo consideradas sementes germinadas as que apresentavam emissão de radícula. Assim, a porcentagem de germinação foi obtida pela razão do número de sementes germinadas, pelo

número de sementes colocadas inicialmente no Gerbox.

Os dados foram submetidos através do software RStudio ao teste de normalidade (Shapiro- Wilki), apresentando o valor de $p < 0.05$, sem normalidade. De acordo com os pressupostos foi feito o teste de Kruskal-Wallis que apresentou diferença estatística, $p < 0.05$, e posteriori de Dunn pois a hipótese nula foi rejeitada e apresentou diferença entre os grupos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A mediana do controle nos primeiros 7 dias foi 55 (Figura 1) e o valor de $p = 9,6 \times 10^{-6}$ para Shapiro-Wilk. O valor de p do teste estatístico Kruskal-Wallis foi $p = 0,002$, sem diferença estatística, com 3 graus de liberdade.

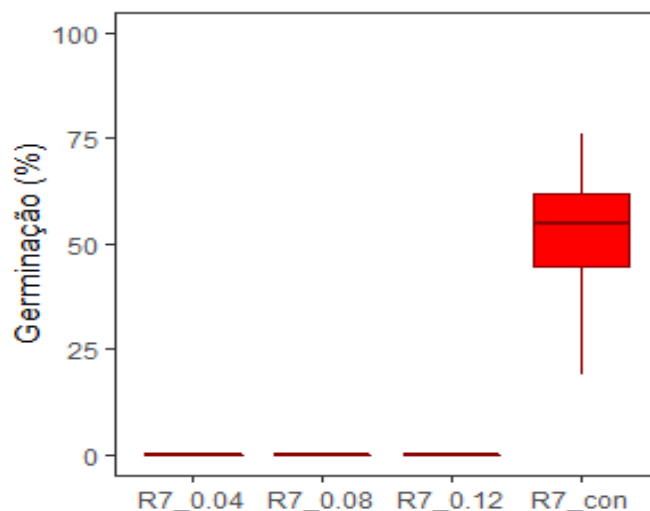


Figura 1 - Germinação de sementes de tomate em 7 dias.

A mediana do controle nos 14 dias foi 81 (Figura 2) e o valor de $p = 6,8 \times 10^{-6}$ para Shapiro-Wilk. O valor de p do teste estatístico Kruskal-Wallis foi p

$= 0,002$, sem diferença estatística, com 3 graus de liberdade.

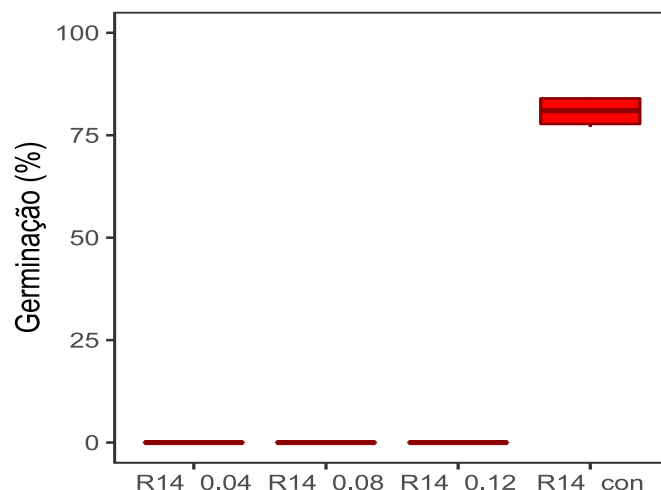


Figura 2 - Germinação em 14 dias.

de sementes de tomate

O tomate mostrou-se totalmente sensível as concentrações do herbicida, não houve germinação para nenhuma das concentrações do herbicida em 7 ou 14 dias, já o controle apresentou germinação em 7 dias (Figura 3A) e germinação em 81% em 14 dias (figura 2). A posteriori de dunn, realizada para identificar as diferenças estatísticas entre os tratamentos apresentou valores de diferença estatística significativa, $p = 0,009$ do grupo controle (7 e 14 dias) diferindo dos demais tratamentos (Figura 3B).

O 2,4-D quando utilizado em baixas concentrações, empreende como regulador de crescimento e mimetizador dos hormônios auxinas, ocasionando divisão e alongamento celular (Islam et al., 2017). A análise realizada mostrou que a sua presença no substrato, mesmo em pequenas concentrações apresentadas, impediu o processo germinativo das sementes de tomate (Figura 3B). Yamashita et al. (2010) estudaram o efeito do 2,4-D numa dicotiledônea (*Ipomoea quamoclit*) em doses um pouco maiores (670 g L^{-1} de 2,4-D) e também não obtiveram germinação, apenas no controle houve germinação.

Ensaio *in vitro* revelaram que as fitotoxinas produzidas por sementes de tomate atrasam a degradação dos carboidratos de reserva, reduzem a atividade de enzimas do metabolismo de sacarose e de hidrólise de parede celular e aumentam o teor de ácido abscísico (Lara-Núñez et al., 2009). Segundo Song (2014) as respostas das fitotoxinas aos efeitos do 2,4-D são caracterizadas por crescimento anormal, envelhecimento e quando aplicados em plantas sensíveis pode gerar a morte de eudicotiledôneas, como o tomate, sem afetar as monocotiledôneas.

A inibição da germinação do tomate mesmo em concentrações muito baixas do 2,4-D pode ser explicada através do aumento da produção de ácido abscísico pelas fitotoxinas de semente de tomate descritas por Lara-Núñez et al. (2009) que quando abordados pelo 2,4-D que aumenta e acumula esse ácido causando efeitos de estresse oxidativo induzidos pela alta produção de espécies reativas de oxigênio segundo Grossmann (2010), sendo mortal as sementes.

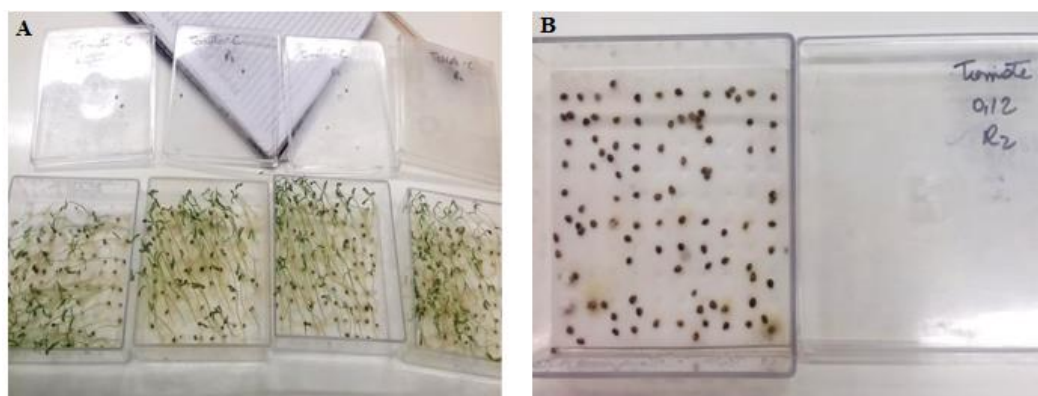


Figura 3 – Germinação de sementes de tomate, A - após 7 dias (controle). B - após 14 dias, concentração de 0,12.

As diferenças entre as medianas dos grupos controle 7 e 14 dias foi de 29,5%, apresentado no gráfico o desvio interquartilico, quanto ao restante das concentrações a mediana foi igual a 0. Os valores de p, foram muito menores que o nível de significância estabelecido (5%), os grupos apresentaram dados estatisticamente diferentes, onde é rejeitado a hipótese nula para a o tomate, provando que o 2,4-D afeta diretamente na germinação da semente.

CONCLUSÕES

As sementes de tomate mostraram-se totalmente sensíveis às concentrações do herbicida 2,4-D (0,04, 0,08 e 0,12 mg/mL) possibilitando assim afirmar que ele inibe completamente a germinação desse importante fruto.

REFERÊNCIAS

- Agarwa R, Av R. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. Canadian Medical Association Journal, v.163, n.6, p.739-744, 2000.
- ANVISA (2022). Monografia 2,4-D. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/sectorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/d/4285json-file-1/view>>. Acesso em: 28 set. 2022.
- Bhatia P, Ashwath N, Senaratna T, Midmore D. Tissue culture studies of tomato (*Lycopersicon esculentum*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, Dordrecht, v.78, p.1-21, 2004.
- Christoffoleti PJ, Figueiredo MRA, Peres LEP, Nissen S, Gaines T. Auxinic herbicides, mechanisms of action, and weed resistance: A look into recent plant science advances. Scientia Agricola, v.72, n.4, p.356-362, 2015. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2014-0360>
- Cobb AH, Reade JPH. Herbicides and plant physiology. John Wiley & Sons, 298p. 2010.
- Fontana N. Efeitos da deriva simulada de 2,4-D sobre feijão, soja, tomateiro e videira. 2021. 62 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco.
- Friedrich K. Avaliação dos efeitos tóxicos sobre o sistema reprodutivo, hormonal e câncer para seres humanos após o uso do herbicida 2,4-D. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz. 44p. 2014. (Fiocruz)
- Grossmann K. Auxin herbicides: current status of mechanism and mode of action. Pest Management Science, v.66, n.2, p.113-120, 2010. <https://doi.org/10.1002/ps.1860>
- Guedes RS, Alves EU, Golçalves EP, Braga Júnior JM, Vianna JS, Colares PNQ. Substratos e temperaturas para testes de germinação e vigor de sementes de amburana cearenses (Allemão) A.C. Smith. Revista Árvore, v.34, n.1, p.57-64, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622010000100007>
- Islam F, Farooq MA, Gill RA, Wang J, Yang C, Ali B, Wang G-X, Zhou W. 2,4-D attenuates salinity-induced toxicity by mediating anatomical changes, antioxidant capacity and cation transporters in the roots of rice cultivars. Scientific Reports, v.7, n.1, p.1-23, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09708-x>
- Kelley KB, Riechers DE. Recent developments in auxin biology and new opportunities for auxinic herbicide research. Pesticide Biochemistry and Physiology, v.89, n.1, p.1-11, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2007.04.002>
- Lara-Núñez A, Sobeida Sánchez-Nieto S, Anaya AL, Cruz-Ortega R. Phytotoxic effects of *Sicyos deppei* (Cucurbitaceae) in germinating tomato seeds. Physiologia Plantarum, v.136, n.2, p.180-192, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01228.x>
- Macedo Neto D, Froehne S, Machado KS. Avaliação do transporte do ácido 2,4-diclorofenoxiacético através de um lisímetro. Química Nova, v.35, n.9, p.1809-1813, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000900020>
- Miranda FFR. Efeito da frutificação induzida por 2,4-D em características agrônomicas dos frutos de abóbora 'Tetsukabuto'. 2012. 62 p. Dissertação (Mestrado em produção vegetal) - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi.
- Song Y. Insight into the mode of action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) as an herbicide. Journal of integrative plant biology, v.56, n.2, p.106-113, 2014. <https://doi.org/10.1111/jipb.12131>
- Vieira EM, Prado AGS, Landgraf MD, Rezende MOO. Estudo da adsorção/dessorção do ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4d) em solo na ausência e presença de matéria orgânica. Química Nova, v.22, n.3, p.305-308, 1999. <https://doi.org/10.1590/S0100-40421999000300002>
- Yamashita OM, Borges RH, Carvalho MAC. Efeito de três herbicidas na germinação de corda-deviola (*Ipomoea quamoclit*) em substrato umedecido. Revista Científica Eletrônica de Agronomia, v.17, n.1, p.17-22, 2010.