

STUDY OF CHRONIC TOXICITY OF THE GLYPHOSATE HERBICIDE ON SEEDS OF PARSLEY, LETTUCE AND CORIANDER

ESTUDO DA TOXICIDADE CRÔNICA DO HERBICIDA GLIFOSATO PARA AS SEMENTES DE SALSA, ALFACE E COENTRO

¹ANA PAULA DO NASCIMENTO

JOÃO HENRIQUE NASCIMENTO E SILVA

BRUNA RODRIGUES

JOSIELE DE LUCCA

BRUNO R. F. ROQUE

MARIANA MANZANO

CAROLINA DENARDI RISSI

MAYCON JHONY SILVA

DRIELLE FREITAS

PRISCILA VEDOVELLO

FERNANDA QUIMENTÃO

SILVIA RAQUEL BETTANI

GERSON HONÓRIO

SIMAEEL MANOEL RODRIGUES

JÉSSICA RODRIGUES MARTINS

*NÚBIA NATÁLIA DE BRITO.

RESUMO

O glifosato é um herbicida do grupo dos fosfonatos, ele é amplamente usado como herbicida. Embora mate quase todas as plantas pode ser usado para eliminar as ervas daninhas durante o crescimento das plantações que são resistentes ao glifosato. Nesta pesquisa objetivou-se verificar os efeitos toxicológicos do herbicida glifosato utilizando como organismo teste sementes de salsa (*Petroselinum sativum*), alface (*Lactuca sativa*) e coentro (*Coriandrum sativum*). O ensaio toxicológico consistiu em utilizar papel toalha umedecido com a amostra de glifosato, e vinte sementes distribuídas uniformemente em vasilhames com tampas, deixados em local seco e arejado, sendo regadas uma vez ao dia durante 5 dias. Foi possível verificar o efeito tóxico do glifosato para sementes de salsa nas concentrações acima de 90 mg.L⁻¹, para sementes de alface nas concentrações acima de 4 mg.L⁻¹ e para sementes de coentro concentração acima de 12 mg.L⁻¹. Desta forma foi possível concluir que as sementes em estudo apresentaram uma elevada sensibilidade com possibilidade de ser aplicadas em ensaios de toxicidade.

Palavras-chaves: Glifosato, toxidade, sementes.

¹ * Universidade Federal de São Carlos- UFSCAR, Centro de Ciências Agrárias – CCA, Curso de Licenciatura em Química, Endereço: Rodovia Anhanguera, km 174 - SP-330, Araras - São Paulo - Brasil, CEP 13600-970, * e-mail: nnatalia@cca.ufscar.br.

ABSTRACT

Glyphosate is an agrochemical from the group of phosphonates widely used as an herbicide. Although it kills almost any plant, it can be used to eliminate weeds during the growing season of commercial crops resistant to glyphosate. This research aimed to evaluate the toxicological effects of the herbicide using seeds of parsley (*Petroselinum sativum*), lettuce (*Lactuca sativa*) and coriander (*Coriandrum sativum*.) In the toxicological test was used twenty seeds each, dampened with glyphosate, evenly distributed in containers with lids. The containers were left in a dry and airy place, and it was watered once a day for 5 days. It was possible to check the toxic effect in the germination and growth of the seeds provoked by the glyphosate, such as: for parsley (*Petroselinum sativum*) at concentrations above 90 mg.L⁻¹, for lettuce (*Lactuca sativa*) seeds at concentrations above 4 mg L⁻¹ and for coriander (*Coriandrum sativum*) seeds in concentrations above 12 mg L⁻¹. With these results it was possible to conclude that the seeds studied were very sensitive to glyphosate. Also, these seeds can be used as a reference for toxicity testing.

Keywords: Glyphosate; toxicity; seeds.

INTRODUÇÃO

Em determinadas circunstâncias, algumas plantas são consideradas nocivas ao desenvolvimento agrícola, como as ervas daninhas. Deste modo, estas espécies perniciosas são denominadas pragas. Os herbicidas podem afetar a população de plantas daninhas nos anos seguintes, influenciando a formação de sementes e sua dormência afetando a germinação e o crescimento das plântulas e diminuindo a produção das sementes de ervas daninhas (VIDAL *et al*, 1999).

A cada ano cresce o comércio mundial de herbicidas, atualmente o herbicida glifosato representa 60% do mercado mundial. O glifosato (N-fosfometil glicina) foi originalmente sintetizado em 1964, como potencial quelante industrial e seu uso como herbicida foi descrito apenas em 1971 (ANDRADE JR. *et al*, 2002).

Uma das mais importantes características do glifosato é sua rápida translocação das folhas da planta tratada para as raízes, rizomas e meristemas apicais. Esta propriedade sistêmica resulta na destruição total de plantas, não tendo ação somente sobre as plantas, mas também sobre sementes no solo, revelando deste modo o grau de toxidade que a do herbicida (YAMADA & CAMARGO 2007).

A elevada toxicidade do herbicida glifosato foi comprovada neste estudo através das sementes de salsa, alface e coentro. A salsa é uma das hortaliças condimentares mais amplamente cultivadas e apreciadas, no centro-sul. A planta é herbácea, de pequeno porte, com as folhas típicas das apiáceas, prefere um clima quente, porém é prejudicada por temperaturas extremas, elevadas ou baixas. Pode ser semeada durante o ano todo, sendo que a sua época normal de semeadura é setembro-março (FIGUEIRA & PEREIRA 1982). A cultura é um pouco exigente em fertilidade, sendo a adubação dispensável, em solos ricos. Entretanto prefere a faixa de pH 6,0 a 6,5, reagindo bem à calagem, em solos ácidos (FIGUEIRA & PEREIRA 1982).

A alface é uma hortaliça folhosa utilizada na alimentação humana desde 500 anos a.C. de grande destaque no cardápio brasileiro é uma excelente fonte de vitaminas A, B1, B2 e C além dos elementos cálcio e ferro favorecerem no bom funcionamento do organismo. Este vegetal é muito utilizado em pequenas e grandes propriedades, e pode ser considerado como hortaliça de inverno, existindo, contudo, em muitos países variedades já adaptadas as outras estações. Sua germinação dura em torno de sete dias, possui faixa ideal de temperatura de 8,9 a

26,7 °C, com o ótimo de 23,9°C e pH entre 6.0 a 6.8 (ANDRADE JR. & KLAR1997).

O coentro pertence à família *Apiaceae* que possui aproximadamente 300 gêneros e cerca de 3.000 espécies. A espécie provavelmente teve origem na Europa e no Oriente sendo introduzida no Brasil no período de colonização. O coentro é uma herbácea anual, que pode atingir alturas que vão de 30 a 60 cm na fase vegetativa e até 140 cm durante a floração e é bastante cultivado no Brasil para uso como condimento em pratos típicos da cozinha do Norte e Nordeste (NASCIMENTO & PEREIRA, 2003).

Desta forma este trabalho teve como objetivo principal estudar os efeitos tóxicos provocados pelo herbicida glifosato em sementes de salsa, alface e coentro. Segundo PELEGRINI e colaboradores (2006), os testes de toxicidade utilizando sementes constituem recurso prático de baixo custo, de sensibilidade razoável na indicação qualitativa da presença de substâncias tóxicas ou inibidores biológicos como os pesticidas e herbicidas empregados nas lavouras.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório Didático, Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias, Araras SP.

Para o ensaio toxicológico com as sementes em estudo utilizou-se o método proposto por INAZAKI e colaboradores (2001), utilizando os seguintes materiais: Papel toalha, tesoura, frascos polipropileno, vasilhames com tampas, e diversas concentrações da amostra do herbicida glifosato.

Os ensaios consistiram na disposição de 20 sementes sobre papel toalha dentro de um vasilhame de polipropileno descartável com tampa.

Adicionou-se sobre as sementes 1,5 mL da amostra de maneira bem homogênea e após 24 horas tornou a adicionar mais 1,0 mL

mantendo o vasilhame sempre tampado para evitar evaporação.

Ao completar 120 horas (5 dias) do início dos testes fez-se a leitura a fim de verificar os efeitos tóxicos causados pelas diferentes concentrações da amostra. Os testes foram realizados sempre em duplicata para cada concentração de glifosato e foi empregada água de diluição como controle com a finalidade de manter o pH neutro e manter a concentração de alguns nutrientes importantes para estimular a germinação das sementes, com o objetivo de verificar apenas a inibição causada pelo herbicida (agente estressor).

A Tabela 1 apresenta concentrações otimizadas de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, zinco e cobre para as sementes em estudo (SANTOS *et al*, 2007).

Tabela 1 - Concentração dos nutrientes em mg.L⁻¹ para as espécies de sementes

Espécies de sementes	N	P	K	Ca	Mg	Zn	Cu
<i>(Petroselinum sativum) (salsa).</i>	30,00	72,00	72,00	30,00	0,033	0,015	0,02
<i>Lactuca sativa L.(alface)</i>	30,00	61,00	61,00	30,00	0,033	0,015	0,04
<i>(Coriandrum sativum) (coentro).</i>	21,00	35,7	50,00	30,00	0,033	0,015	0,04

RESULTADOS E DISCUSSÃO

-Estudo toxicológico com sementes de salsa

O estudo do efeito toxicológico do glifosato com sementes de salsa consistiu em três etapas. A primeira etapa da pesquisa consistiu em regar com 1,0 mL da solução de glifosato, nas seguintes concentrações 10, 100, 250 e 500 mg.L⁻¹ uma vez ao dia e para o controle utilizou a água de diluição (Tabela 1). Foram feitas as observações dia-a-dia do processo de germinação da semente de salsa, e analisadas para que os resultados obtidos (Tabela 2) produzissem uma leitura e abertura correta.

Tabela 2: Valores médios das concentrações de Glifosato após 5 dias de germinação da Semente de salsa da primeira etapa

Concentração de Glifosato	Nº de sementes germinadas do frasco 1	Nº de sementes germinadas do frasco 2	Média
Controle	4	6	5
10mg.L ⁻¹	2	7	5
100mg.L ⁻¹	5	6	5,5
250mg.L ⁻¹	4	5	4,5
500mg.L ⁻¹	4	7	5,5

Obs: Como a leitura foi realizada após 5 dias de germinação, não foi possível visualizar o crescimento, apenas o rompimento do tegumento de algumas sementes, pois as concentrações ficaram próximas do controle (Figura 1), não sendo possível perceber com clareza a partir de qual concentração o herbicida glifosato seria tóxico para a semente, desta forma foi feito a abertura de 100 mg.L⁻¹ a 500 mg.L⁻¹.

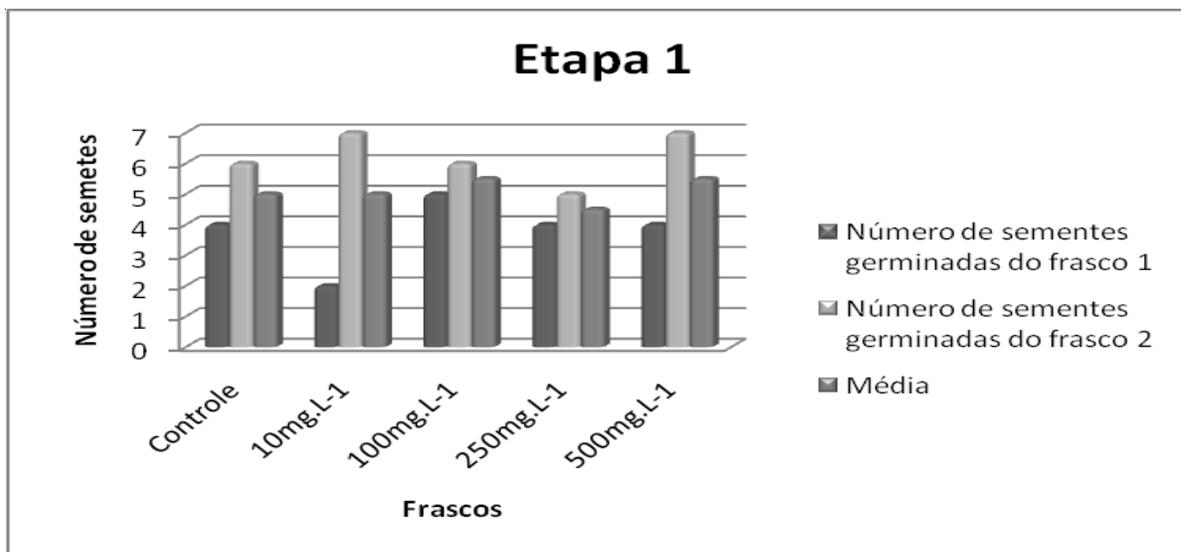


Figura 1: Número de sementes de salsa germinadas em relação à concentração de Glifosato nos ensaios realizados

Na segunda etapa, após a abertura das concentrações de 150 mg.L⁻¹ a 500 mg.L⁻¹ num intervalo de 50 mg.L⁻¹, foi realizada a irrigação com 1,0 mL de solução de glifosato uma vez ao dia, e feito uma leitura após 15 dias, pois a semente de salsa possui a particularidade de germinação entre 10 a 14 dias, sendo possível constatar por meio das observações realizadas sobre as plantas um grau de toxicidade do herbicida glifosato acima da concentração de 100 mg.L⁻¹, apesar da media aproximada da geminação das sementes entre todas as concentrações (Tabela 3), algumas se desenvol-

veram melhor, o controle obteve um maior crescimento e desenvolvimento em relação a altura, apresentando a formação de pequenas folhas, enquanto que na concentração de 100 mg.L⁻¹ a 150 mg.L⁻¹ houve a formação do caule primário, com ausência de folhas, e nas concentrações entre 200 mg.L⁻¹ a 350 mg.L⁻¹ obtiveram um desenvolvimento menor do caule, enquanto que nas demais concentrações não houve crescimento das estruturas da planta, apenas o rompimento do tegumento no início do desenvolvimento, revelando o grau de toxicidade do glifosato a partir da concentração de 100 mg.L⁻¹.

Tabela 3: Valores médios das concentrações de Glifosato após 15 dias de germinação da salsa da segunda etapa.

Concentrações de Glifosato	Nº de sementes germinadas do frasco 1	Nº de sementes germinadas do frasco 2	Média
Controle	16	11	13,5
100 mg.L ⁻¹	15	17	16
150 mg.L ⁻¹	18	13	15,5
200 mg.L ⁻¹	15	15	15
250 mg.L ⁻¹	12	14	13
300 mg.L ⁻¹	13	13	13
350 mg.L ⁻¹	15	12	13,5
400 mg.L ⁻¹	15	15	15
450 mg.L ⁻¹	11	13	12
500 mg.L ⁻¹	14	16	15

Obs: A leitura foi realizada após 15 dias, com as observações feitas na planta foi possível perceber com clareza a germinação da semente (Figura 2), e foi observado que acima da concentração de 100 mg.L⁻¹ possui um grau de toxicidade do herbicida glifosato, portanto a próxima abertura foi entre 50 mg.L⁻¹ a 100 mg.L⁻¹.

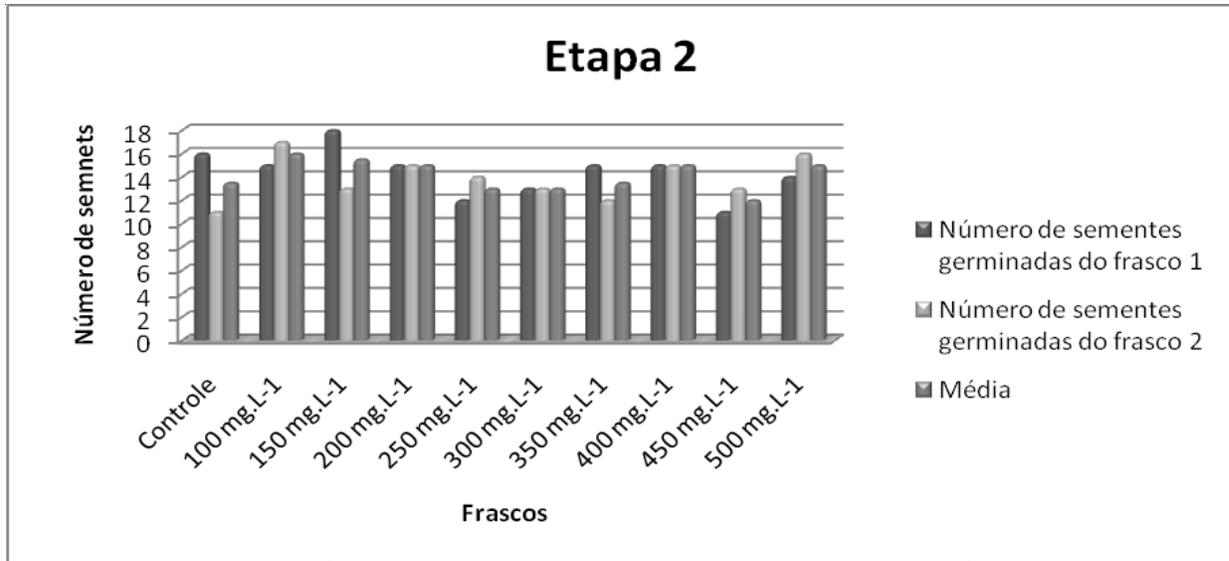


Figura 2: Número de sementes de salsa germinadas em relação à concentração de Glifosato nos ensaios realizados

Na terceira etapa mediante os resultados, foi feita uma abertura nas concentrações de 50 mg.L⁻¹ a 100 mg.L⁻¹ num intervalo de 10 mg.L⁻¹, foi realizada a irrigação com 1,0 mL de solução de glifosato uma vez ao dia, e feito uma leitura após 15 dias, sendo possível constatar por meio das observações realizadas sobre as plantas um grau de toxicidade do herbicida glifosato entre a concentração de 90 a 100 mg.L⁻¹, apesar da média aproximada da germinação das sementes entre todas as concentrações (Tabela 4), algumas

se desenvolveram melhor, o controle obteve um maior crescimento e desenvolvimento em relação a altura, enquanto que na concentração de 90 mg.L⁻¹ a 100 mg.L⁻¹ não houve crescimento das estruturas da planta, apenas o rompimento do tegumento no início do desenvolvimento, revelando o grau de toxicidade do glifosato a partir da concentração de 90 mg.L⁻¹. Enquanto que nas demais possuíram um crescimento e desenvolvimento da planta próximo ao controle.

Tabela 4: Valores médios das concentrações de Glifosato após 15 dias de germinação da salsa da terceira etapa.

Concentrações de Glifosato	Nº de sementes germinadas do frasco 1	Nº de sementes germinadas do frasco 2	Média
Controle	13	14	13,5
50 mg.L ⁻¹	14	10	12
60 mg.L ⁻¹	17	18	17,5
70 mg.L ⁻¹	11	12	11,5
80 mg.L ⁻¹	8	14	11
90 mg.L ⁻¹	12	11	11,5
100 mg.L ⁻¹	10	12	11

Obs.: A leitura foi realizada após 15 dias, com as observações feitas na planta foi possível perceber com clareza a germinação da semente (Figura 3), e foi observado que acima da concentração de 90 mg.L⁻¹ possui um grau de toxicidade do herbicida glifosato.

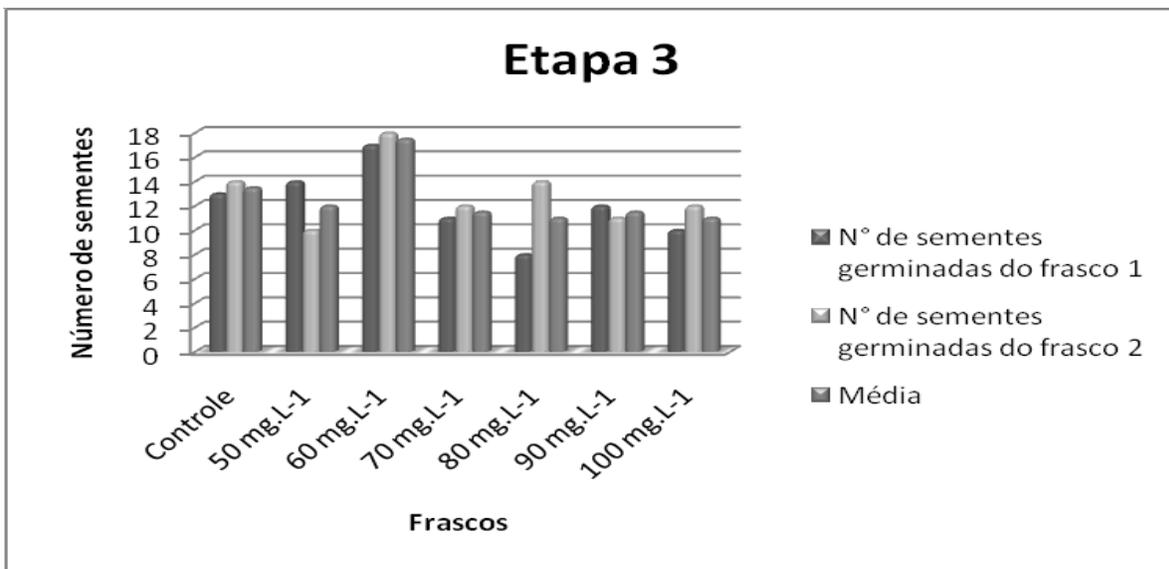


Figura 3: Número de sementes de salsa germinadas em relação à concentração de Glifosato nos ensaios realizados.

-Estudo toxicológico com sementes de alface

O estudo do efeito toxicológico do glifosato com sementes de alface consistiu em iniciar a abertura das concentrações entre 10, 100, 250 e 500 mg.L⁻¹. Na concentração de 10 mg.L⁻¹ houve um bom desenvolvimento da germinação quando comparado ao controle, no entanto foi possível observar menor crescimento das

raízes, dos pelos radiculares e da própria planta. Nas concentrações de 100, 250 e 500 mg.L⁻¹ foi possível observar menor desenvolvimento da germinação quando comparado ao controle, menor sustentabilidade da planta e um crescimento reduzido (Tabela 5).

Tabela 5: Concentração do herbicida Glifosato (10 -500 mg.L⁻¹) e efeito tóxico

Concentração do herbicida glifosato	Efeitos toxicológicos
10 mg.L ⁻¹	Efeito observado
100 mg.L ⁻¹	Efeito observado
250 mg.L ⁻¹	Efeito observado
500 mg.L ⁻¹	Efeito observado

Mediante os dados obtidos, fez-se uma abertura da concentração de glifosato entre 10 e 100 mg.L⁻¹. Com o aumento das concentrações do agente estressor foi possível observar efeito tóxico tais como: menor crescimento/

desenvolvimento da planta e das raízes, diminuição da germinação quando comparado ao controle e perda da sustentação das plantas (Tabela 6).

Tabela 6: Concentração do herbicida Glifosato (10 -100 mg.L⁻¹) e efeito tóxico

Concentração do herbicida glifosato	Efeitos toxicológicos
10 mg.L⁻¹	Efeito observado
20 mg.L⁻¹	Efeito observado
30 mg.L⁻¹	Efeito observado
50 mg.L⁻¹	Efeito observado
100 mg.L⁻¹	Efeito observado

Posteriormente foi realizado um estudo com as concentrações de 2, 4, 6, 8 e 10 mg.L⁻¹. Nas sementes regadas com a solução de 2 mg.L⁻¹ houve um crescimento muito parecido com a solução controle apresentando boa germinação, crescimento e sustentabilidade da planta. Nas concentrações de 4, 6, 8 e 10 mg.L⁻¹ foi possível observar efeitos tóxicos: baixa germinação, crescimento reduzido e menor sustentabilidade

da planta. Desta forma através das observações ao longo da pesquisa foi possível confirmar a ação do glifosato, pois a característica mais notada foi o mau desenvolvimento da raiz e dos pelos radiculares, os quais estão diretamente ligados ao meristema, onde o glifosato tem seu efeito tóxico, assim a concentração do herbicida glifosato que não se observa efeito deletério a semente de alface foi de 2 mg.L⁻¹ (Tabela7).

Tabela 7: Concentração do herbicida Glifosato (2 -8 mg.L⁻¹) e efeito tóxico

Concentração do herbicida glifosato	Efeitos toxicológicos
2 mg.L⁻¹	Efeito não observado
4 mg.L⁻¹	Efeito observado
6 mg.L⁻¹	Efeito observado
8 mg.L⁻¹	Efeito observado
10 mg.L⁻¹	Efeito observado

-Estudo toxicológico com sementes de coentro

O estudo do efeito toxicológico do glifosato com sementes de coentro consistiu em iniciar a abertura das concentrações entre 10, 100, 250 e 500 mg.L⁻¹. Nas concentrações de 100, 250 e 500

mg.L⁻¹ foi possível observar efeitos tóxicos tais como: perda de sustentação das raízes, crescimento reduzido das raízes das sementes, baixa germinação (Tabela 8).

Tabela 8: Concentração do herbicida Glifosato (10 -500 mg.L⁻¹) e efeito tóxico.

Concentração do herbicida glifosato	Efeitos toxicológicos
10 mg.L ⁻¹	Efeito não observado
100 mg.L ⁻¹	Efeito observado
250 mg.L ⁻¹	Efeito observado
500 mg.L ⁻¹	Efeito observado

Após, foram analisados os estudos com as seguintes concentrações: 10, 20, 30, 50 e 100 mg.L⁻¹ foi observado um efeito tóxico na amostra que foi tratada com a solução à partir de 30 mg.L⁻¹

de glifosato, onde as sementes germinaram mas não se desenvolveram quando comparadas com o controle (Tabela 9).

Tabela 9: Concentração do herbicida Glifosato (10 -100 mg.L⁻¹) e efeito tóxico

Concentração do herbicida glifosato	Efeitos toxicológicos
10 mg.L ⁻¹	Efeito não observado
20 mg.L ⁻¹	Efeito não observado
30 mg.L ⁻¹	Efeito observado
50 mg.L ⁻¹	Efeito observado
100 mg.L ⁻¹	Efeito observado

Posteriormente foi realizado um estudo com as concentrações de 3, 6, 10, 12, 17 e 20 mg.L⁻¹. Nas sementes regadas com as soluções de 3 e 6 mg.L⁻¹ não foi possível observar efeitos tóxicos ocorrendo germinação e bom desenvolvimento das sementes quando comparadas ao controle. Nas sementes regadas com a concentração acima de 10 mg.L⁻¹ foi possível observar efeitos tóxicos onde as sementes que germinaram não se desenvolveram adequadamente (Tabela 10).

Tabela 10: Concentração do herbicida Glifosato (3 -20 mg.L⁻¹) e efeito tóxico

Concentração do herbicida glifosato	Efeitos toxicológicos
3 mg.L⁻¹	Efeito não observado
6 mg.L⁻¹	Efeito não observado
10 mg.L⁻¹	Efeito não observado
12 mg.L⁻¹	Efeito observado
17 mg.L⁻¹	Efeito observado
20 mg.L⁻¹	Efeito observado

CONCLUSÃO

Conclui-se que na concentração acima de 90 mg.L⁻¹ de glifosato pode-se observar efeito tóxico nas sementes de salsa tais como no comprimento e espessura das raízes e até mesmo em concentrações muito altas a não germinação das sementes em estudo.

Para sementes de alface foi possível concluir que a Concentração do Efeito Não Observável (CENO) é de 2 mg.L⁻¹ do herbicida glifosato. Nesta concentração não houve efeito inibitório para sementes de alface, enquanto que, na concentração acima 4 mg.L⁻¹ de glifosato começou a apresentar efeito tóxico nas sementes em estudo (CEO).

Para sementes de coentro concentrações superiores a 12 mg.L⁻¹ de Glifosato em contato direto com as sementes causam efeitos tóxicos observáveis nas sementes, já que muitas não germinam e outras germinam mas não tem um bom desenvolvimento ou não se desenvolvem adequadamente quando comparados a solução controle.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SANTOS, E. M.R. dos; SILVA, N. B. PELEGRINI, R. ; PELEGRINI, N. N. de B.; PATERNIANI, J.S. *Avaliação da toxicidade crônica do percolado de aterro sanitário e de substâncias químicas fenol e cobre em sementes de: Lactuca sativa L.; Lycopersicon esculentum Mill. e Abelmoschus esculentus L. visando o uso na agricultura de hortaliças.* In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL EM SANEAMENTO SUSTENTÁVEL: SEGURANÇA ALIMENTAR E HÍDRICA PARA A AMÉRICA LATINA. ECOSAN- Fortaleza – Brasil, 2007.
- FIGUEIRA, F. A. R. *Manual de oleiculatura.* 2. ed. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1982.
- INAZAKI, T.H.; PIÃO, A.C.S.; BIDOIA, E.D.; RÉGIS, G.; ANGELIS, D.F. *Testes de toxicidade utilizando Eruca sativa.* In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 14., 2001 São Paulo (Arquivos do Instituto Biológico), v. 68 (supl.), Disponível em : www.biologico.sp.gov.br/arquivos/v68_suplemento/area_ambiental.pdf Acesso em: 27/04/2005.
- AMARANTE JR, O.P.de; SANTOS, T.C. R. dos.; BRITO, N.M.; RIBEIRO, M.L. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. *Química Nova*, São Paulo, SP, v. 25, n.4, p 589-593, jul., 2002
- ANDRADE JR., A.S. de; KLAR, A.E. Manejo da irrigação da cultura de alface (*Lactuca sativa* L.) através do tanque classe A. *Scientia Agrícola*, Curitiba, PR. v. 54, n. 1-2, jan/ago. 1997.
- NASCIMENTO, W.M.; PEREIRA, R. S. Coentro: produção e qualidade de sementes. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, v. 20, 2003. Suplemento 2.
- PELEGRINI, N.N.B.; PATERNIANI, J.E.S.; CARNIATO, J.G.; SILVA, N.B.; PELEGRINI, R.T. *Estudo da sensibilidade de sementes de Eruca Sativa (Rúcula) utilizando substâncias tóxicas para agricultura.* In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA (CONBEA) 35., 2006. João Pessoa – PB. .
- VIDAL, R.A.; THEISEN, G.; FLECK, N.G. Herbicidas inibidores de ALS aplicados na fase de florescimento da soja. *Revista Brasileira de Agrociências.* Pelotas, RS, v.5, n.2, p.142-146, mai-ago, 1999.
- YAMADA T.; CAMARGO P.R. Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas. *Informações Agronômicas* , Piracicaba,SP, n.. 119 – setembro/ 2007.