UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

GUILHERME PIRES D'ÁVILA DE ALMEIDA

Avaliação de resíduos de glyphosate e AMPA, produtividade, teor de óleo, conteúdo de proteína bruta e aminoácidos na soja (*Glycine max* (L.) Merrill) resistente ao glyphosate

Piracicaba
2011

GUILHERME PIRES D'ÁVILA DE ALMEIDA

Avaliação de resíduos de glyphosate e AMPA, produtividade, teor de óleo, conteúdo de proteína bruta e aminoácidos na soja (*Glycine max* (L.) Merrill) resistente ao glyphosate

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 5890 de 2010

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Valdemar Luiz Tornisielo

Piracicaba
2011

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Almeida, Guilherme Pires D'Ávila de
Avaliação de resíduos de glyphosate e AMPA, produtividade, teor de óleo, conteúdo de proteína bruta e aminoácidos na soja (*Glycine max* (L.) Merrill) resistente ao glyphosate / Guilherme Pires D'Ávila de Almeida; orientador Valdemar Luiz Tornisielo. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 5890 de 2010. - - Piracicaba, 2011.
105 p.: fig.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Controle químico 2. Herbicidas 3. Organismos geneticamente modificados 4. Segurança alimentar I. Título

CDU 632.95.028:633.34

DEDICATÓRIA

À minha família que me apoiou durante todo o período da pós-graduação e que me ensinou os valores essenciais para a formação de um homem de bom caráter. Em especial ao meu saudoso pai, Paulo de Almeida Filho e saudosos avôs e avós João Pires D'Ávila, Sylvia Morena Pires D'Ávila, Paulo de Almeida e Henriette Karam de Almeida.

À companheira Alessandra Morgado pelo carinho e compreensão.

AGRADECIMENTOS

- Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, e em especial ao Laboratório de Ecotoxicologia;

- Ao meu orientador Valdemar Luiz Tornisielo que incentivou minha passagem ao Doutorado e acreditou nas minhas idéias;

- Aos professores Siu Mui Tsai, Pedro Jacob Christoffoleti, Natal Antonio Vello e Cássio Hamilton Abreu Júnior pelas suas ricas contribuições;

- A todos os meus amigos pessoais e profissionais, pelo apoio nos momentos mais difíceis e pela compreensão da minha ausência em várias ocasiões;

- Aos colegas do CENA/USP e do Laboratório de Ecotoxicologia, em especial Alberto Ricordi, Ana Carolina Ribeiro Dias, Bruna Alexandre, Nádia Hortense Torres, Priscila Lopes Silva, Rodrigo Pimpinatto e àqueles que compartilharam momentos de dedicação junto à APG CENA/USP;

- À pesquisadora Jussara Borges Regitano, pelo incentivo e amizade;

- A todos os funcionários do CENA/USP, em especial à Cleusa e ao João O. Salvador, que não mediram esforços para me ajudar nesta desafiadora etapa da minha vida.

- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela bolsa concedida, em nível de doutorado;

- À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo apoio financeiro;

- A todos que contribuíram no desenvolvimento deste trabalho.

De coração, agradeço a todos.

RESUMO

ALMEIDA, G. P. A. **Avaliação de resíduos de glyphosate e AMPA, produtividade, teor de óleo, conteúdo de proteína bruta e aminoácidos na soja (*Glycine max* (L.) Merrill) resistente ao glyphosate.** 2011. 105 p. Tese (Doutorado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

O objetivo deste trabalho foi avaliar resíduos de glyphosate e AMPA, produtividade, teor de óleo, conteúdo de proteína bruta e aminoácidos na soja (*Glycine max* (L.) Merrill) resistente ao glyphosate (SRG) após a aplicação de formulações deste herbicida. Foram desenvolvidos experimentos em replicata (E1 e E2) em área de lísimetro sob condições de campo e a campo. O objetivo dos experimentos em área de lísimetro foi quantificar resíduos de três formulações fortificadas com ^{14}C-glyphosate na SRG. O cultivar de soja utilizada foi o MSOY 7575RR em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições para E1 e E2. Os tratamentos foram glyphosate (sal de isopropilamina, sem adjuvante), Roundup Original e Roundup Ready na dose de 1,2 kg e.a ha^{-1} para as três formulações. A aplicação foi realizada aos 25 DAE. Cada planta recebeu 0,96 mg de equivalente ácido (e.a.) de glyphosate com radioatividade total aplicada de 18,33 kBq. A colheita dos grãos, caules, cascas das vagens, folhas e raízes analisadas ocorreram no estágio de maturação plena (R8). A coleta das folhas tratadas ocorreu entre 40 e 55 DAE. Todos os materiais coletados foram moídos. Alíquotas foram oxidadas e quantificadas por espectrometria de cintilação líquida. Não houve diferença estatística entre as formulações em E1 e E2, porém formulações com adjuvantes aumentaram os resíduos de glyphosate. O valor máximo de resíduos encontrado nos grãos foi de 1,95 mg kg^{-1}. Os experimentos de campo utilizaram o cultivar de soja MSOY 8000RR em delineamento experimental de parcelas subdivididas em blocos ao acaso, com quatro repetições dos seguintes tratamentos: Rodeo, Roundup Original, Roundup Ready, Roundup WG e Controle para as seguintes parcelas (programas) e respectivas doses: Única - U20 (aplicação única de 1,2 kg e.a glyphosate ha^{-1} aos 20 dias após a emergencia – DAE), Única - U30 (aplicação única de 1,2 kg e.a glyphosate ha^{-1} aos 30 DAE), Seqüencial - S20 (aplicação de 0,96 kg e.a glyphosate ha^{-1} aos 20 DAE e aplicação seqüencial de 0,72 kg e.a. glyphosate ha^{-1} aos 35 DAE) e Seqüencial - S30 (aplicação de 0,96 kg e.a glyphosate ha^{-1} aos 30 DAE e aplicação seqüencial de 0,72 kg e.a glyphosate ha^{-1} aos 45 DAE). A colheita dos grãos analisados em E1 e E2 ocorreu no estágio R8. As variáveis analisadas em grãos da SRG foram: produtividade, teor de óleo, proteína bruta, aminoácidos, resíduos de glyphosate e AMPA. Houve diferença significativa entre os tratamentos somente para resíduos de glyphosate a AMPA. Houve metabolismo de glyphosate em AMPA e translocação de ambos para os grãos da SRG, exceto para os tratamentos Roundup Original e Roundup Ready, nos programas U20 e S20 do experimento E2. As maiores concentrações de resíduos de glyphosate nos tratamentos Roundup Original e Roundup Ready em U20 e S20 do E2 são devido à presença de adjuvantes destas formulações e à baixa produtividade de grãos. A absorção de AMPA pelas raízes de plantas após a aplicação desta substância no solo é uma hipótese a ser testada. A maior concentração de resíduos de glyphosate foi 0,28 mg kg^{-1}, menor que o LMR brasileiro, 10 mg kg^{-1}.

Palavras-chave: Agrotóxicos. Segurança alimentar. Soja transgênica. Organismos geneticamente modificados.

ABSTRACT

ALMEIDA, G. P. A. **Determination of glyphosate and AMPA residues, yield, oil, crude protein content and amino acids in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* (L.) Merrill).** 2011. 105 p. Tese (Doutorado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

The objective of this work was to determine glyphosate and AMPA residues, yield, oil, crude protein content and amino acids in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) after glyphosate formulations treatment. Experiments (E1 and E2) were performed in lysimeter area under field conditions and under field conditions. Lysimeter area experiments under field conditions aimed to quantify residues of three formulations of ^{14}C-glyphosate in glyphosate-resistant soybean to this herbicide (GRS). The GRS cultivar used was MSOY 7575RR in a completely randomized design with four replications each treatment. E2 is the E1 replicated 15 days after E1 planting. The treatments were glyphosate isopropylamine, Roundup Ready and Roundup Original at 1.2 kg ae ha^{-1} for the three formulations. The application was applied on 25 DAE. Each plant received 0.96 mg of acid equivalent (a.e.) glyphosate applied with 18.33 kBq of total radioactivity. Harvest of grains, stems, pod husks, leaves and roots was done at the stage of full maturity (R8). Treated leaves were collected between 40 and 55 DAE. All analysed material was grounded. Aliquotes were oxidized and quantified by liquid scintillation spectrometry. There were no statistical differences among treatments. However, formulations with adjuvants have increased glyphosate residues in GRS. The highest glyphosate residual concentration found in grains was 1.95 mg kg^{-1}. Field experiments were conducted using MSOY 8000 RR variety. The experimental design was a split plot with programmes as main randomized plots and five treatments as subplots having four replications. The treatments were Rodeo, Roundup Original, Roundup Ready, Roundup WG and Control. Programmes were U20 (unique application of 1.2 kg ha^{-1} a.e. glyphosate at 20 DAE), U30 (unique application of 1.2 kg ha^{-1} a.e. glyphosate ha^{-1} at 30 DAE), S20 (application of 0.96 kg ha^{-1} a.e. glyphosate at 20 dae followed by a sequential application of 0.72 kg ha^{-1} a.e. glyphosate at 35 DAE) and S30 (application of 0.96 kg ha^{-1} a.e. glyphosate at 30 dae followed by a sequential application of 0.72 kg ha^{-1} a.e. glyphosate at 45 DAE). The analysed variables were: yield, oil content, crude protein, amino acids and glyphosate and AMPA residues. There was glyphosate metabolism in AMPA and translocation of both to GRS grains. The exceptions were Roundup Original and Roundup Ready treatments of E2 on U20 and S20 programmes, most likely due the adjuvants of these formulations and the low E2 yield. AMPA uptake by soybean roots after this substance application to the soil is a hypothesis to be tested. The highest residue concentration found in GRS grains was 0.28 mg kg^{-1}, lower than the Brazilian MRL, 10 mg kg^{-1}.

Keywords: Pesticides. Food safety. Transgenic soybean. Genetically modified organisms.

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Propriedades químicas e físicas do solo utilizado nos experimentos E1 e E2. Piracicaba, 2005/2006.....45

Tabela 3.2 - Tratamentos, doses e quantidades do ingrediente ativo glyphosate aplicado nos experimentos E1 e E2. Piracicaba, 2005/2006.....45

Tabela 3.3 - Condições ambientais no momento da aplicação dos experimentos 1 e 2. Piracicaba, 2005/2006.....47

Tabela 3.4 - Resíduos de ^{14}C-glyphosate na SRG após aplicação aos 25 DAE (% da radioatividade inicial aplicada). Piracicaba, 2005/2006.....52

Tabela 3.5 - Resíduos de ^{14}C-glyphosate na SRG após aplicação aos 25 DAE (mg kg^{-1}). Piracicaba, 2005/2006.....52

Tabela 4.1 – Propriedades químicas do solo utilizado nos experimento E1 e E2. Piracicaba, 2007/2008.....65

Tabela 4.2 - Doses máximas e épocas de aplicação da formulação Roundup Ready. Piracicaba, 2007/2008.....68

Tabela 4.3 - Formulações utilizadas nos experimentos E1 e E2 e suas características. Piracicaba, 2007/2008.....68

Tabela 4.4 - Doses e concentrações do ingrediente ativo glyphosate dos tratamentos. Piracicaba, 2007/2008.....69

Tabela 4.5 - Condições ambientais no momento da aplicação (E1 e E2). Piracicaba, 2007/2008.....70

Tabela 4.6 - Médias de produtividade (kg ha^{-1} de matéria seca) e massa (g) de 100 grãos de soja resistente ao glyphosate (SRG) após aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 (S30) dos herbicidas Rodeo, Roundup Original, Roundup WG e Roundup Ready e controle (sem aplicação de herbicida) em E1 e E2. Piracicaba, 2007/2008.....82

Tabela 4.7 - Médias de produção de proteína bruta e óleo (g 100 g^{-1} matéria seca) de grãos de soja resistente ao glyphosate (SRG) após aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 (S30) das formulações Rodeo, Roundup Original, Roundup WG e Roundup Ready e controle (sem aplicação de herbicida) em E1 e E2. Piracicaba, 2007/2008.....83

Tabela 4.8 – Médias[1] de produção de aminoácidos (g 100 g^{-1} matéria seca) arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina e cisteína de grãos de soja resistente ao glyphosate (SRG) após aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 dias (S30) dos herbicidas Rodeo, Roundup Original, Roundup WG e Roundup Ready e controle em E1e E2. Piracicaba, 2007/2008.....84

Tabela 4.9 - Desvio Padrão das Médias[1], CV% e DMS dos aminoácidos (g 100 g^{-1} matéria seca) arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina e cisteína de grãos de soja resistente ao glyphosate (SRG) após aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 (S30) dos herbicidas Rodeo, Roundup Original, Roundup WG e Roundup Ready e controle em E1e E2. Piracicaba, 2007/2008.....86

Tabela 4.10 - Resíduos de glyphosate e AMPA (mg kg^{-1}) em grãos de soja resistente ao glyphosate (SRG) em função da aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 (S30) dos herbicidas Rodeo, Roundup Original, Roundup Ready e controle (sem aplicação de herbicida) em E1 e E2, agrupados por programa e tratamento. Piracicaba 2007/2008.....89

Tabela 4.11 - Resíduos de glyphosate e AMPA (mg kg^{-1}) em grãos de soja resistente ao glyphosate (SRG) em função da aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 (S30) dos herbicidas Rodeo, Roundup Original, Roundup Ready e controle (sem aplicação de herbicida) em E1 e E2, com todos os programas agrupados por tratamento. Piracicaba 2007/2008.....92

Tabela 4.12 - Resíduos de glyphosate e AMPA (mg kg^{-1}) em grãos de soja resistente ao glyphosate (SRG) em função da aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 (S30) dos herbicidas Rodeo, Roundup Original, Roundup Ready e controle (sem aplicação de herbicida) em E1 e E2, com todos os tratamentos agrupados para cada programa. Piracicaba 2007/2008.....97

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Plantas no momento da aplicação aos 25 dias após a emergência (DAE). Piracicaba, 2005/2006.....46

Figura 3.2 - Seringa de 50 µL e dispensador (A), modo de aplicação (B) e distribuição das gotas de 1 µL nos folíolos (C). Piracicaba, 2005/2006.....47

Figura 3.3 - Precipitações (mm) (A) e Temperatura (ºC) (B) registradas para local e período de condução para o experimento 1. * 0 indica a data da emergência de mais de 50% das sementes. Piracicaba, 2005/2006.....48

Figura 3.4 - Precipitações (mm) (A) e Temperatura (ºC) (B) registradas para local e período de condução para o experimento 2. * 0 indica a data da emergência de mais de 50% das sementes. Piracicaba, 2005/2006.....49

Figura 3.5 - Plantas no momento da colheita aos 112 dias após a emergência (DAE). Piracicaba, 2005/2006.....50

Figura 3.6 - Resíduos de ^{14}C-glyphosate (grãos, cascas das vagens, folhas, caules e raízes) em E1 (A) e E2 (B) em porcentagem da radioatividade inicial aplicada. Barras verticais mostram o erro padrão da média. Piracicaba, 2005/2006.....53

Figura 3.7 - Resíduos de ^{14}C-glyphosate em grãos em E1 (A) e E2 (B) em porcentagem da radioatividade inicial aplicada. Barras verticais mostram o erro padrão da média. Piracicaba, 2005/2006.....54

Figura 4.1 - Croqui do experimento (A); quatro blocos com quatro parcelas em cada bloco. Cada bloco possui 5 subparcelas. Cada subparcela corresponde a um tratamento diferente no total de 80 subparcelas (B); Subparcela no campo e Croqui da subparcela (C). Piracicaba, 2007/2008.....67

Figura 4.2 - Aplicação dos tratamentos herbicidas nas parcelas através do equipamento pulverizador costal pressurizado por CO_2, operado a 1 bar, utilizando-se quatro pontas de pulverização com jato do tipo plano, modelo TT 110.01, promovendo largura efetiva de 2,0 m e volume de aplicação proporcional a 100 L ha^{-1}(A) e proteção anti-deriva (B). Piracicaba, 2007/2008.....69

Figura 4.3 - Precipitações (mm) (A) e Temperatura (ºC) (B) registradas para local e período de condução para o experimento E1. * 0 indica a data da emergência de mais de 50% das sementes. Piracicaba, 2006/2007.....71

Figura 4.4 - Precipitações (mm) (A) e Temperatura (ºC) (B) registradas para local e período de condução para o experimento E2. * 0 indica a data da emergência de mais de 50% das sementes. Piracicaba, 2007/2008.....72

Figura 4.5- Equipamento Infratec (A). Leitura de 23 grãos (B). Piracicaba, 2008.....73

Figura 4.6 - Coleta das plantas de soja (A), três grupos de cinco plantas coletadas aleatoriamente (B) e acondicionamento e identificação (C). Piracicaba, 2007/2008.....74

Figura 4.7 - Curva de calibração para o glyphosate (A) e Curva de calibração para o AMPA (B). Piracicaba, 2009/2010.....77

Figura 4.8 - Tempo de retenção (minutos) para as fortificações dos padrões analíticos de glyphosate e AMPA a 0,05 mg kg^{-1} (A), 0,1 mg kg^{-1} (B) e 1,0 mg kg^{-1} (C). Piracicaba, 2009/2010.....78

Figura 4.9 - 30 g de cada repetição em cada erlenmeyer (A), bequer com 30 g de cada repetição e 100 mL de hexano (B), agitação mecânica do extrato (C), transferência para tubo de centrífuga (D), centrifugação (E), filtragem do sobrenadante com papel de filtro (F). Piracicaba, 2009/2010.....79

Figura 4.10 - Lavagem com ácido clorídrico 0,1 M (A), acerto do pH do sobrenadante com hidróxido de sódio 1 M (B), transferência para coluna de vidro com resina Chelex 100 (C), adição de ácido clorídrico 6 M (D), transferência para coluna de vidro com resina AG1-X8 (E), filtragem em membrana de celulose para injeção no cromatógrafo (F). Piracicaba, 2009/2010.....80

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 17
Referências 20
2 REVISÃO DE LITERATURA 22
2.1 Soja resistente ao glyphosate 22
2.2 Regulação e cultivo da soja resistente ao glyphosate no Brasil 23
2.3 Modo de ação, absorção, translocação e metabolismo do glyphosate nas plantas 25
2.4 Formulações de glyphosate 28
2.5 Conteúdo de aminoácidos e teor de óleo na soja resistente ao glyphosate.....29
2.6 Resíduos de glyphosate na cultura da soja.....30
2.7 Métodos de análise de resíduos de glyphosate e seus metabolitos.....32
Referências 33
3 RESÍDUOS DE ^{14}C-GLYPHOSATE NA SOJA RESISTENTE AO GLYPHOSATE APÓS APLICAÇÃO DE TRÊS FORMULAÇÕES DESTE HERBICIDA 39
3.1 Introdução 42
3.2 Material e Métodos.....44
3.3 Resultados e Discussão.....51
3.3 Conclusões.....57
Referências 58
4 RESÍDUOS DE GLYPHOSATE E AMPA, PRODUTIVIDADE, TEOR DE ÓLEO, CONTEÚDO DE PROTEÍNA BRUTA E AMINOÁCIDOS NA SOJA RESISTENTE AO GLYPHOSATE APÓS APLICAÇÃO DE FORMULAÇÕES DESTE HERBICIDA.....61
4.1 Introdução 63
4.2 Material e Métodos.....65
4.2.1 Produtividade 72
4.2.2 Teor de óleo dos grãos.....73
4.2.3 Determinação do teor de proteína bruta.....73
4.2.4 Determinação de aminoácidos 74
4.2.5 Análise de resíduos de glyphosate e AMPA nos grãos de soja 74
4.2.6 Análise estatística 81
4.3 Resultados e Discussão.....81
4.4 Conclusões.....98

Referências 98
5 CONCLUSÕES GERAIS 103
APÊNDICES 105

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merril) é a commoditie com maior potencial gerador de divisas para o Brasil, pela exportação do complexo grão-óleo-farelo. A safra 2009/10 apresentou produção de 62 milhões de toneladas de grãos com produtividade média de 2.798 kg ha^{-1} em uma área cultivada de 22,4 milhões de hectares (FNP, 2010). Uma das práticas mais importantes para maximizar o potencial produtivo é o controle das plantas daninhas, já que estas reduzem a produção qualitativa e quantitativamente, além de aumentar os custos de produção. O controle químico, por meio da utilização de herbicidas, é o método mais empregado no manejo da cultura da soja (DURIGAN; VICTORIA FILHO; MATUO, 1983; EMBRAPA, 2005).

A soja resistente ao glyphosate (SRG), que permite a aplicação deste herbicida em pós-emergência e em área total para o controle das plantas daninhas, é adotada em 75% da área destinada a esta cultura nos Estados Unidos e em 90% na Argentina, primeiro e terceiro maiores produtores mundiais, respectivamente. Após a liberação da comercialização da SRG no Brasil em 2005, 9,4 milhões de ha foram plantados com a SRG em 2006. Na safra 2009/2010, esta área aumentou para 16,2 milhões de ha. Deste modo, o glyphosate é o herbicida mais empregado na cultura da soja, aplicado em 72% da área cultivada em 2009 (BENBROOK, 2002; BRASIL, 2005; SCHUESTER et al., 2007; JAMES, 2009).

O glyphosate (N-fosfonometil-glicina) é um herbicida não seletivo, pós-emergente, sistêmico, de aplicação foliar, altamente efetivo no controle da maioria das plantas daninhas anuais e perenes. Após a aplicação, o glyphosate é absorvido pelas folhas e translocado para os tecidos meristemáticos, culminando na morte das plantas (RODRIGUES; ALMEIDA, 2005).

Através da tecnologia do DNA recombinante foi possível produzir a SRG, que completa seu ciclo normalmente após a aplicação de produtos que contenham glyphosate. Como a translocação desta ocorre preferencialmente pelo floema, há a possibilidade de acúmulo de resíduos nos grãos da SRG e conseqüentemente na cadeia alimentar humana, já que os grãos são matéria-prima para produção de óleo, carne e leite de soja, entre outros produtos industrializados consumidos pela população. A ingestão de resíduos desta

molécula por humanos também pode ocorrer pelo consumo de carne proveniente de animais alimentados com ração de farelo de soja ou ainda de soja *in natura* (EMBRAPA, 2005).

O nível de resíduos de glyphosate nos grãos pode ser relacionado com o estádio de desenvolvimento das plantas e com a quantidade absorvida do princípio ativo. Em 2003, o Limite Máximo de Resíduos (LMR) para o glyphosate em grãos de soja foi alterado de 0,2 para 10 mg kg^{-1} após teste que utilizou cultivar convencional, não-transgênica (BRASIL, 2003; ARREGUI et al., 2004; BOHM et al., 2008).

A eficiência herbicida do glyphosate depende do estádio de desenvolvimento da planta e da quantidade absorvida, que por sua vez está relacionada com variações nas concentrações do ingrediente ativo e dos surfactantes presentes nas formulações comerciais. As duas classes de surfactantes mais encontradas nas formulações com glyphosate são: as taloaminas polietoxiladas e os alquilpoliglicosídeos, sendo a primeira a mais utilizada. Mais de trinta formulações contendo apenas glyphosate como princípio ativo possuem registro junto ao governo brasileiro. A grande maioria destas formulações está dentro da classe toxicológica IV, considerada pouco tóxica, porém das 4 formulações legalmente aprovadas para uso na SRG, 3 pertencem à classe toxicológica II, potencialmente mais tóxica a seres humanos. A *Roundup Ready* (Monsanto do Brasil Ltda.) é uma destas 3 formulações, sendo a que é utilizada há mais tempo, por ser a primeira registrada e única legalmente permitida para uso em SRG até a safra 2009/10. Nesta, 16,2 milhões de ha de SRG foram plantados e o crescimento da utilização destas 3 formulações pelo aumento da área plantada com a SRG representa um maior risco de segurança ocupacional (NALEWAJA; DEVILLIERS; MATYSIAK, 1996; LEAPER; HOLLOWAY, 2000; BRASIL, 2008; 2006; 2011, JAMES, 2009).

A técnica mais utilizada para a determinação de glyphosate é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com derivatização para produção de compostos que interajam com radiação eletromagnética. A CLAE com derivatização pós-coluna e detecção por fluorescência é um método eficiente na detecção de resíduos de glyphosate em grãos de soja, comprovado em estudos com SRG nos EUA e na Argentina. Até o momento, os trabalhos disponíveis na

literatura que avaliaram resíduos de glyphosate e ácido aminometilfosfônico (AMPA) na SRG utilizaram a CLAE (HOGENDOORN et al., 1998; AMARANTE JÚNIOR et al., 2002a; 2002b; ARREGUI et al., 2004; BOHM et al., 2008).

Arregui et al. (2004) encontraram 1,8 (± 0,4) e 0,9 (±0,8) mg kg^{-1} de glyphosate e AMPA, respectivamente, em SRG, utilizando formulação diferente da única legalmente autorizada no Brasil. Os grãos das plantas que receberam as doses mais altas neste trabalho não foram avaliados. Resultados preliminares, ainda não publicados, de uma pesquisa do Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP, Piracicaba-SP) mostram que o valor mais alto nos grãos de SRG foi de 1,95 mg kg^{-1} de resíduos de ^{14}C-glyphosate. Esta pesquisa avaliou apenas uma das situações previstas na bula da formulação *Roundup Ready*: a dose mais alta para a aplicação única.

A bula deste produto também prevê doses seqüenciais, que no total são superiores que a maior dose para a aplicação única. Como a aplicação seqüencial pode ser realizada trinta dias após a emergência (DAE) da cultura, ainda com a cultura em estádio vegetativo, existe a possibilidade do aumento de acúmulo de resíduos. Esta hipótese poderia justificar os valores entre 0,2 a 8,8 mg kg^{-1} encontrados por pesquisadores da Universidade Federal do Paraná em amostras de SRG da safra 2005/2006 (ARREGUI et al., 2004; BRASIL, 2003; PARANÁ, 2006).

Desta forma, foram conduzidos dois tipos de experimentos com a: em vasos sob condições de campo utilizando ^{14}C-glyphosate e sob condições de campo. Os principais objetivos foram:

a) <u>vasos em área de lisímetro sob condições de campo</u>: avaliar a radioatividade emitida por resíduos de ^{14}C-glyphosate nos grãos, cascas das vagens, folhas, caule e raízes após a aplicação de formulações diferenciadas de glyphosate 25 dias após emergência (DAE) da SRG ;

b) <u>em condições de campo</u>: determinar a quantidade residual de glyphosate e de seu principal metabólito (AMPA) nos grãos do cultivar de SRG, após a aplicação de formulações distintas e em estádios distintos de desenvolvimento da cultura.

Para ambos foi utilizado o seguinte teste de hipóteses:

Teste de Hipóteses

H_0 = não há diferença estatística significativa entre os tratamentos (formulações empregadas)

H_0: $\mu_{formulação\ 1} = \mu_{formulação\ 2} = \mu_{formulação\ 3} = \mu_{formulação\ n}$, a um $\alpha = 0,05$ (5%)

H_A = existe diferença estatística significativa entre pelo menos dois tratamentos

H_A: $\mu_i \neq \mu_j = (i \neq j)$, a um $\alpha = 0,05$ (5%)

REFERÊNCIAS

AMARANTE JÚNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L. Glifosato: propriedades, toxicidade, uso e legislação. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002a.

_____. Métodos de extração e determinação do herbicida glifosato: breve revisão. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 420-428, 2002b.

ARREGUI, M. C.; LENARDON, A.; SANCHEZ, D.; MAITRE, M. I.; SCOTTA, R.; ENRIQUE, S. Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate-resistant soybean. **Pest Management Science,** Chichester, v. 60, n. 2, p. 163-166, 2004.

BENBROOK, C. **Economic & environmental impacts of first-generation GMOs:** lessons from U.S. Geneva: ICTSD, 2002. Disponível em: <http://www.ictsd.org/issarea/ag/resources/docs/US1.pdf>. Acesso em: 16 nov. 2005.

BOHM, G. M. B.; GENOVESE, M. I.; PIGOSSO, G.; TRICHEZ, D.; ROMBALDI, C. V. Residues of glyphosate and aminomethylphosphonic acid and levels of isoflavones in BRS 244 RR and BRS 154 soybean. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 192-197, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 184, de 19 de setembro de 2003. Adequação da "Relação de monografias dos ingredientes ativos de agrotóxicos, domissanitários e preservantes de madeira", no tocante ao ingrediente ativo glifosato. **Diário Oficial da União**, Brasília, 19 set. 2003a.

_____. **Debates sobre a questão dos agrotóxicos no CONSEA**. Brasília, 2005. Disponível em: <http://www.pronaf.gov.br/dater/index.php?sccid=459>. Acesso em: 04 nov. 2005.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins. **AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Brasília, 2003. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 25 fev. 2008.

_____. Ministério da Ciência e Tecnologia. Agência CT. **Brasil é o terceiro no plantio de transgênicos**. Disponível em: <http://agenciact.mct.gov.br/index.php/content/view/32607.html>. Acesso em: 15 jul. 2006.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins. **AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Brasília, 2003. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 13 mar. 2011.

EMPRESA BRASILEIRA DE AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja -** região central do Brasil - 2005. Brasília: Embrapa Soja, 2005. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/>. Acesso em: 28 out. 2009.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **Agrianual:** anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2010. p. 475-481.

PARANÁ (Estado). **Quantidade de resíduos de agrotóxicos em soja transgênica preocupa especialistas**. Curitiba: Governo do Estado do Paraná, 2006. Disponível em: <http://www.parana.pr.gov.br/noticias2.php?storyid=20853>. Acesso em: 15 jul. 2006.

HOGENDOORN, E. A.; OSSENDRIJVER, F. M.; DIJKMAN, E.; BAUMANN, R. A. Rapid determination of glyphosate in cereal samples by means of pre-column derivatisation with 9-fluorenylmethyl chloroformate and coupled-column liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 833, p. 67-73, 1998.

JAMES, C. **Executive summary of global status of commercialized biotech/GM crops:** 2009. Ithaca: ISAAA, 2009. Disponível em: <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/41/default.asp>. Acesso em: 16 dez. 2010.

LEAPER, C.; HOLLOWAY, P. J. Adjuvants and glyphosate activity. **Pest Management Science**, Chichester, v. 56, n. 4, p. 313-319, 2000.

NALEWAJA, J. D.; DEVILLIERS, B.; MATYSIAK, R. Surfactant and salt affect glyphosate retention and absorption. **Weed Research**, Oxford, v. 36, n. 3, p. 241-247, 1996.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F.S. (Ed.). **Guia de herbicidas.** Londrina: Edição dos autores, 2005. 591 p.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Soja resistente ao glyphosate

Com os avanços das técnicas de biotecnologia vegetal, foi possível inserir, via tecnologia do DNA recombinante, um gene de *Agrobacterium sp.* que confere à soja um nível de resistência ao herbicida glyphosate, que passou a ser denominada de soja resistente ao glyphosate (SRG). O desenvolvimento desta permitiu o uso do glyphosate no campo durante o período de crescimento da cultura. A SRG também é conhecida como soja transgênica, soja RR ou soja *Roundup Ready*, que é a marca dada pela companhia Monsanto para o gene que expressa tolerência ao glyphosate (DELANNAY et al., 1995; PADGETTE et al., 1995; ARREGUI et al., 2004; DILL, 2004; BOHM et al., 2008).

O desenvolvimento da SRG era perseguido desde o início da década de 1980. O glyphosate é letal para as plantas cultivadas convencionais e por este motivo um método de proteção vegetal era necessário. A SRG foi obtida após a descoberta de um gene presente na cepa CP4 da bactéria de solo *Agrobacterium sp*. que codifica a enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato-sintetase (EPSPS), que é inibida na presença do glyphosate. Deste modo, a CP4 EPSPS foi inserida na SRG, permitindo que as plantas sobrevivam à aplicação de glyphosate (PADGETTE et al., 1995; DILL; CAJACOB; PADGETTE, 2008).

Em 1996, a SRG foi a primeira cultura geneticamente introduzida e comercializada nos Estados Unidos sob a marca Roundup Ready. Sua adoção pelos agricultores foi realizada num ritmo acelerado nos Estados Unidos, Brasil e Argentina, que são o primeiro, segundo e terceiro países de maior produção mundial, respectivamente. Do total da área plantada com esta oleaginosa nos Estados Unidos, a SRG ocupou 75% em 2002, 85% em 2004 e 91% em 2007. Na Argentina, a SRG representou cerca de 90% do total da área cultivada com esta cultura em 2002 e 98% em 2003. No Brasil, foram plantados 9,4 milhões de hectares com a SRG, aproximadamente 50% da área total plantada com a cultura da soja na safra 2005/2006 e 16,2 milhões de hectares em 2009 (BENBROOK, 2002; DILL, 2004; JAMES, 2009; BRASIL, 2006; BONNY, 2008).

As principais causas da adoção em larga escala da SRG foram: expectativa de redução da quantidade utilizada de herbicidas, possibilidade de plantio direto, flexibilidade de uso somente quando necessário, manejo facilitado das lavouras e redução dos custos de produção (SCHUSTER et al., 2007; BONNY, 2008).

2.2 Regulação e cultivo da soja resistente ao glyphosate no Brasil

A SRG é um Organismo Geneticamente Modificado (OGM), cujo material genético (DNA/RNA) tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética, envolvendo atividade de manipulação de DNA/RNA recombinante, mediante a modificação de segmentos de DNA/RNA natural ou sintético que possam multiplicar-se em uma célula viva. A primeira legislação regulando os OGMs foi a Lei nº 8.974, editada em 5 de janeiro de 1995 e mais conhecida como “primeira Lei de Biossegurança”. Esta lei criava a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), órgão colegiado multidisciplinar que teria a finalidade de prestar apoio técnico, consultivo e de assessoramento ao Governo Federal na formulação, atualização e implementação da Política Nacional de Biossegurança relativa a Organismos Geneticamente Modificados (OGMs). Seria competência da CTNBio, ainda e principalmente, a emissão de pareceres técnicos de processos relativos a atividades que envolvessem OGMs.

O cultivo e a comercialização da SRG foram autorizados no ano de 1998, através do comunicado nº 54 da CTNBio e em 16 de junho de 1999 a autorização de cultivo foi liminarmente suspensa pelo Poder Judiciário. Apesar desta liminar judicial, houve o ingresso clandestino no território brasileiro de sementes de SRG provenientes da Argentina. Para legitimar a comercialização das produções originadas por estas sementes, foi editada a Medida Provisória nº 113, transformada na Lei nº 10.688 em 13 de junho de 2003. Em 26 de setembro de 2003, foi editada a Medida Provisória nº 131 que regulamentou o primeiro plantio de OGMs em escala comercial no Brasil. A MP nº 131 que foi convertida na Lei nº 10.814, de 15 de dezembro de 2003, referia-se às sementes da safra de soja 2003, reservadas pelos agricultores para o uso próprio.

No ano de 2004 o Governo Federal liberou mais uma vez a produção e comercialização de soja, desta vez para a safra 2004/2005, mediante a edição da Medida Provisória nº 223, de 14 de outubro de 2004, que foi transformada na lei n° 11.092, de 12 de janeiro de 2005. Em 24 de março de 2005, após sete anos de contestações jurídicas e envolvimento de ministros, pesquisadores, ambientalistas, religiosos e produtores agrícolas, foi criada a lei vigente brasileira sobre o uso dos transgênicos. Esta é a Lei da Biossegurança nº 11.105 de 24 de março de 2005, regulamentada pelo Decreto Federal nº 5.591 de 22 de novembro de 2005 (MENASCHE, 2000; BRASIL, 2005a; 2005b; SCALZILLI; SCALZILLI; DIAS, 2005).

No caso específico do cultivo da SRG, os principais argumentos que têm sido apresentados para justificar sua adoção são: eliminação da necessidade de aplicação de vários tipos de herbicidas, economia nos custos, maior produtividade, simplicidade, flexibilidade do manejo, além da redução da contaminação ambiental diante da eliminação da variedade de herbicidas que seriam utilizados em uma plantação convencional. De outro lado, os que são contrários à SRG e de outros OGMs questionam a falta de estudos imparciais e aprofundados sobre o impacto destes organismos na saúde e no ambiente, além de colocar em dúvida os efeitos positivos sobre a economia individual e coletiva nacional. Permanecem os embates entre as duas correntes e a previsão é de que os mesmos prossigam por um longo período. Provavelmente, uma solução será resultado da avaliação dos efeitos positivos e negativos sobre a saúde humana, o ambiente e a economia (SCALZILLI; SCALZILLI; DIAS, 2005; BONNY, 2008).

Ainda sobre a regulação, existem as leis: a Lei de Propriedade Industrial (LPI) – Lei nº 9.279, de 14 de maio de 1996, que regula os direitos e obrigações relativas à propriedade industrial, alterada pela Lei nº 10.196, de 14/02/2001; a Lei de Proteção de Cultivares (LPC) – Lei nº 9.456, de 25 de abril de 1997, regulamentada pelo Decreto nº 2.366, de 05/11/1997. As duas leis, de forma diferente, criam direitos sobre a venda e a reprodução de sementes. A Lei de Propriedade Industrial (LPI), que inclui as patentes, confere direitos sobre produtos e processos ligados a microrganismos transgênicos, ou seja, sobre as variedades obtidas por esse processo. Já a Lei de Proteção de Cultivares (LPC)

oferece formas, objeto e prazos de proteção para os agricultores e para outros melhoristas. A Lei protege apenas um cultivar e não uma espécie inteira, como é o caso da patente, e permite ao melhorista cruzar uma variedade protegida com outras para obter uma terceira. É importante saber distinguir o cultivar registrada do cultivar protegido, pois nem todo cultivar registrado está protegido e vice-versa (SCALZILLI; SCALZILLI; DIAS, 2005).

A rotulagem para alimentos que contenham mais de 4% de OGMs em sua composição foi estabelecida como obrigatória pelo Decreto Lei nº 3.871 e o Decreto nº 4.680, de 24 de abril de 2003 revogou o anterior e estabeleceu um limite mais restritivo: 1%. Acima deste, a presença de OGMs em produtos processados ou in natura, a granel ou embalados, para alimentação humana ou animal, deve ser informada no rótulo (BRASIL, 2003a).

Os produtos agrotóxicos para a aplicação em culturas OGMs não são tratados de forma especial e, a exemplo das culturas convencionais, são regulados pela Lei 7.802 de 11 de julho de 1989. Esta lei é conhecida como a "Lei dos Agrotóxicos". O Limite Máximo de Resíduos (LMR) de glyphosate na SRG foi determinado pela Resolução nº 184, de 19 de setembro de 2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 1989; 2003b).

2.3 Modo de ação, absorção, translocação e metabolismo do glyphosate nas plantas

O principal modo de ação do glyphosate é o bloqueio do ciclo do ácido chiquímico. O glyphosate atua competindo pelo mesmo sítio de ação da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato-sintetase (EPSPS) na rota bioquímica dos aminoácidos aromáticos, promovendo a diminuição na síntese do ácido 5-enolpirúvico chiquímico-3-fosfato. Em plantas suscetíveis, há redução da síntese de proteínas que inicia uma série de processos que conduzem as plantas à morte. A SRG não sofre inibição da enzima EPSPS e que se desenvolve normalmente após a aplicação deste herbicida (PADGETTE et al., 1995; ARREGUI et al., 2004; VELINI et al., 2009).

Apenas uma pequena quantidade em relação à aplicada é necessária para que a ação herbicida ocorra. A maior parte do produto é perdida através de

vários processos que ocorrem entre a diluição no tanque até o sítio de ação no interior das plantas. Como o produto é aplicado em condições de pós-emergência, pulverizado sobre as folhas das plantas-alvo, a inclusão de adjuvantes, e dentro desta classe os surfactantes, auxilia os processos de penetração e absorção (NALEWAJA; DEVILLIERS; MATYSIAK, 1996; LEAPER; HOLLOWAY, 2000). A absorção do glyphosate dá-se principalmente através das folhas, podendo ocorrer também pelas raízes. A cutícula que reveste a superfície foliar é constituída de substâncias hidrofílicas e lipofílicas, tais como ceras, cutina, pectina e celulose, o que faz com que existam duas rotas de penetração através da mesma: a aquosa e a lipoidal, que ocorrem através das substâncias polares e apolares, respectivamente.

O glyphosate sendo um composto polar, penetra na cutícula predominantemente pela rota aquosa, sendo a difusão o principal processo de transporte de solutos através da cutícula. Uma penetração rápida seguida de uma longa fase de lenta absorção tem sido encontrada em estudos de absorção do glyphosate. Como exemplo, uma pesquisa que empregou ^{14}C-glyphosate na concentração de 4,4 g L^{-1} em folhas de *Agropyron repens*, resultou numa penetração de 34% de glyphosate após quatro horas, porém com absorção lenta nas 44 horas seguintes. A duração da fase lenta depende de alguns fatores, como espécie da planta, idade, condições ambientais e concentração do ingrediente ativo e do surfactante (SPRANKLE; MEGGITT; PENNER, 1975; PENN; LYNCH, 1982; CASELEY; COUPLAND, 1985).

A translocação do glyphosate na planta é apo-simplástica, com preferência simplástica tanto para folhas e pontos de crescimento aéreo como para órgãos subterrâneos. Estudos com ^{14}C-glyphosate determinam a translocação deste princípio ativo, qualitativamente por autoradiografia e quantitativamente pela medida da radioatividade. Vários estudos mostram que uma vez absorvido, o glyphosate atinge folhas, caules e raízes. Em toda planta, a absorção precede a translocação. Assim, os fatores que afetam a absorção também interferem na translocação. Os fatores que influenciam a translocação do glyphosate são: espécie da planta, estádio de desenvolvimento e condições ambientais.

Existem poucos estudos comparando a translocação do glyphosate em diferentes espécies de plantas. Sandberg et al. (1980) encontraram quantidades distintas de ^{14}C-glyphosate translocadas: 3,5% em *Convolvulus arvensis*, 21,6% em *Cirsium sepium*, 7,8% em *Cirsium arvense*, 6,5% em *Ipomoea purpurea* e 5,0% em *Polygonum convolvulus*. Pesquisas com *Convolvulus arvensis* e *Lolium rigidum* não mostraram diferenças nas quantidades absorvidas e translocadas entre plantas suscetíveis e resistentes ao glyphosate (GELMINI, 1988; WESTWOOD et al., 1997; FENG; PRATLEY; BOHN, 1999).

Os resultados dos estudos sobre o metabolismo do glyphosate em plantas mostram ausência ou presença de metabolismo, através da detecção de metabólitos. Trabalhos realizados com extratos das raízes e brotos de *Cirsium arvense* e *Euphorbia escula* após cromatografia de camada delgada (CCD ou TLC - Thin Layer Chromatography) e com *Agropyron repens* não detectaram metabolismo do glyphosate. Algodão e soja em solução nutritiva contendo ^{14}C-glyphosate não metabolizaram a maioria do carbono-14 (^{14}C), porém plantas de milho apresentaram o ácido aminometilfosfônico (AMPA) como forma dominante de ^{14}C encontrada. Pesquisas com *Convolvulus arvensis*, *Ipomoea purpurea* e *Cirsium arvense* mostram que o AMPA foi o principal metabólito detectado, entre 7% e 11% do total de ^{14}C-glyphosate aplicado. Glicina e sarcosina foram outros metabólitos detectados, porém em proporções menores a 5% (GOTTRUP et al., 1976; SPRANKLE et al., 1978; SANDBERG; MEGGITT; PENNER, 1980; DEVINE; BANDEEN, 1983).

Feng, Pratley e Bohn (1999), após estudo de *Lolium rigidum* resistente e suscetível ao glyphosate, a partir da análise do extrato dos tecidos de folhas, raízes e brotos por meio de CLAE, encontraram dois picos identificados como glyphosate e AMPA. A distribuição da radioatividade entre o glyphosate e o AMPA foi de 78,4% e 16,6%, respectivamente, na planta resistente, e 86,6% e 12,2% na planta suscetível. A planta resistente mostrou maior quantidade de AMPA do que a suscetível, mas segundo os autores essa diferença é insuficiente para explicar o nível de resistência observada em toda planta.

Trabalhos nos Estados Unidos, Argentina e Brasil mostram resíduos de 1,8 a 32 mg kg^{-1} de glyphosate e AMPA em grãos da SRG, respectivamente. Nestes estudos, obtidos através da CLAE, somente uma formulação à base de

glyphosate foi utilizada e as doses mais altas empregadas não foram avaliadas nos grãos. Adicionalmente, as épocas de aplicação não foram as mesmas das recomendadas para o produto registrado no Brasil para uso na SRG (FENG; PRATLEY; BOHN, 1999; DUKE et al., 2003; ARREGUI et al., 2004; BRASIL, 2003; BOHM et al., 2008).

2.4 Formulações de glyphosate

Pela legislação brasileira vigente, formulação é definida como o produto resultante da transformação dos produtos técnicos, mediante adição de ingredientes, inertes, com ou sem adjuvantes. Adjuvante pode ser qualquer substância que, quando adicionada ao agrotóxico, melhore a ação final deste. Surfactante é um tipo de adjuvante que atua modificando as forças interfaciais, promovendo um ajustamento mais íntimo das duas substâncias consideradas. Desta forma, todo surfactante é um adjuvante, porém nem todos os aditivos têm ação interfacial e, consequentemente, não podem ser considerados surfactantes. A palavra surfactante é um neologismo da língua inglesa, formado por partes da expressão “surface active agent”. Desde o início de sua comercialização na década de 70, as formulações com o ingrediente ativo glyphosate empregam surfactantes. Esta prática é justificada pelo fato destas substâncias aumentarem a atividade do glyphosate em certas condições. Vários fatores ambientais, biológicos e relacionados à aplicação influenciam o desempenho dos surfactantes (BRASIL, 1990; DURIGAN, 1993; WOODBURN, 2000; MOLIN; HIRASE, 2005; SHARMA; SINGH, 2007).

Duas classes de surfactantes comumente utilizados como componentes das formulações comerciais de glyphosate, taloaminas e alquilpoliglicosídeos, são agentes da deposição do produto pulverizado em folhas com propriedades hidrofóbicas. No mundo, o surfactante predominante nas formulações com este ingrediente ativo é uma taloamina polietoxilada (LEAPER; HOLLOWAY, 2000; MOLIN; HIRASE, 2005).

Há várias formulações de glyphosate com registro junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento brasileiro. Numerosas patentes e publicações aparecem a cada ano descrevendo novas formulações com este

ingrediente ativo ou adjuvantes que podem ser empregados com este herbicida. Porém, poucos destes provavelmente serão comercializados, devido aos altos custos industriais, impactos ecotoxicológicos e por não apresentarem estabilidade ou diferenciação em relação aos produtos utilizados atualmente (LEAPER; HOLLOWAY, 2000; BRASIL, 2003; CORREIA; DURIGAN, 2007).

As formulações de glyphosate disponíveis no mercado apresentam o mesmo mecanismo de ação, independentemente dos sais utilizados. Destes, destacam-se o sal de isopropilamina, sal de amônio e sal potássico. Em relação ao sal de glyphosate, o utilizado no desenvolvimento da SRG foi o de isopropilamina. Nos Estados Unidos, em 1999, o sal de trimetilsulfônio também obteve registro para uso em SRG. No entanto, em 2001, este foi retirado do mercado e substituído pelo sal de diamônio de glyphosate, também registrado para aplicação em SRG naquele país. No Brasil, o Roundup Ready, um sal de isopropilamina, foi o primeiro herbicida à base de glyphosate registrado para aplicação em SRG. Entretanto, outros produtos comerciais à base de glyphosate com ou sem registro para uso na SRG estão sendo utilizados nas diferentes regiões produtoras do Brasil. Dentre as formulações à base de glyphosate produzidas no Brasil estão: Roundup Original (sal de isopropilamina), GLIZ 480 SL (sal de isopropilamina), Roundup WG (sal de amônio), Roundup Transorb (sal de isopropilamina), Roundup Transorb R (sal de isopropilamina), Roundup Ultra (sal de amônio) e Roundup Ready (sal de isopropilamina) (WILLIAMS; KROES; MUNRO, 2000; CORREIA; DURIGAN, 2007; SANTOS; FERREIRA; OLIVEIRA et al., 2007; BRASIL, 2011).

2.5 Conteúdo de aminoácidos e teor de óleo na soja resistente ao glyphosate

A soja (*Glycine max* (L.) Merril) é a mais importante leguminosa cultivada no mundo, graças aos seus teores de proteínas e óleo comestível. Após seu esmagamento, os produtos de interesse são farelo e o óleo. As frações de proteína e óleo de soja compreendem aproximadamente 60% do total do peso seco da semente. Os grãos maduros contêm cerca de 40% de proteína, 22% de óleo, 10% de açúcares totais, 7% de fibra e cerca de 6% de cinzas e 31% de

carboidratos em base seca. A composição química da soja pode variar com as condições climáticas, tipo de solo, localização geográfica, variedades e práticas agronômicas, entre outros fatores (VIEIRA; CABRAL; DE PAULA, 1999; FARIAS NETO; VELLO, 2001)

Após análise de amostras de soja e farelo de soja provenientes da Argentina, Brasil, China, Índia e Estados Unidos, Kjeldahl, Karr-Lilienthal et al. (2004) concluíram que não houve diferenças na matéria seca (90,1 a 93,2%). A maior concentração de proteína bruta foi encontrada na China (44,9%) e a menor na Argentina (32,6%). As concentrações de aminoácidos seguiram a mesma tendência da proteína bruta. Lisina, que é o primeiro aminoácido limitante na dieta de suínos quando o farelo de soja é a fonte protéica, foi encontrada em maiores níveis na China e em menores na Argentina.

O glyphosate interfere na biosíntese de aminoácidos aromáticos pela inibição da enzima EPSPS e sua aplicação em plantas suscetíveis ocasiona deficiência de triptofano, fenilalanina, tirosina e produtos secundários da rota do chiquimato até resultar na morte das mesmas. A proteína da SRG CP4 EPSPS consiste de um único polipeptídeo com 455 aminoácidos e a sequência deste é 48,5 a 59,3% similar e 23,3 a 41,1% idêntica à EPSPS nativa de plantas e bactérias (TAN; EVANS; SINGH, 2006).

2.6 Resíduos de glyphosate na cultura da soja

Resíduo é definido pela legislação como: “substância ou mistura de substâncias remanescentes ou existentes em alimentos ou no meio ambiente, decorrente do uso ou não de agrotóxicos e afins, inclusive qualquer derivado específico, tais como produtos de conversão e de degradação, metabólitos, produtos de reação e impurezas, considerados toxicológica e ambientalmente importantes”.

O estabelecimento de Limites Máximos de Resíduos (LMR), quantidade máxima de resíduo de agrotóxico legalmente aceita no alimento, em decorrência da aplicação adequada numa fase específica, desde sua produção até o consumo, considera fatores toxicológicos na avaliação de risco durante o processo de registro. Os parâmetros toxicológicos levados em consideração na

avaliação de risco são: a ingestão diária aceitável (IDA) e o consumo alimentar. A IDA é definida como: “quantidade de uma substância que pode ser ingerida diariamente, por toda a vida, sem que ocorra risco ao consumidor com base nos fatos conhecidos no momento da avaliação”. A IDA é geralmente calculada dividindo-se por um fator de 100 ou mais o nível sem efeito tóxico (NOEL) que é obtido a partir de dados de ensaios alimentares em espécies animais de laboratório.

No âmbito internacional, estes estudos são conduzidos pela FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação) e pela OMS (Organização Mundial de Saúde), e os resultados são avaliados pelo Comitê do *Codex Alimentarius*. Como os Limites Máximos de Resíduos são nacionais, o risco crônico da ingestão de resíduos, caracterizado quando a exposição ultrapassa o parâmetro toxicológico de ingestão de alimentos, depende do consumo alimentar em cada país. Os LMRs em alimentos devem refletir o nível de resíduos encontrados na época da colheita, após a cultura ter sido tratada de acordo com as boas práticas agrícolas e com as instruções contidas no rótulo e na bula do produto.

Há 20 anos, a falta de tecnologias mais eficientes fazia dos níveis toleráveis de agrotóxicos em alimentos uma verdadeira incógnita. Atualmente, as taxas aceitáveis são revistas a todo o momento, porém há a necessidade de mais estudos para obter valores de níveis de resíduos em alimentos e dados sobre consumo que reflitam o hábito alimentar da população brasileira (CALDAS; SOUZA, 2000; ANVISA, 2006).

O atual Limite Máximo de Resíduos (LMR) de glyphosate na cultura soja é de 10 mg kg^{-1}, estabelecido pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), órgão vinculado ao Ministério da Saúde. Conforme a Retificação RE nº 184, de 19 de setembro de 2003, a ANVISA considerou um estudo com cultivar de soja não-transgênica para definir este atual LMR. Em relação à saúde humana, a monografia do glyphosate junto à ANVISA mostra que a ingestão diária aceitável (IDA) é de 0,042 mg kg^{-1} de peso corpóreo.

Nas pesquisas sobre disponibilidade nutricional de alimentos no Brasil, a soja não aparece de forma destacada, apesar do consumo desta leguminosa estar sendo estimulado por programas públicos como “Soja na mesa” do

Governo Federal e o “Leite para Todos” do Governo do Estado do Mato Grosso. Adicionalmente, existem recomendações de consumo de proteína de soja para prevenir doenças cardiovasculares. Um consumo de 350 g de alimentos com 10 mg kg^{-1} de glyphosate, por uma pessoa de 70 kg, esgotaria os limites de ingestão máxima sem danos à saúde (KLEBA, 1998; CALDAS; SOUZA, 2000; BRASIL, 2003b; 2006a; 2006b; EMBRAPA, 2005; MATO GROSSO, 2006; IBGE 2006).

2.7 Métodos de análise de resíduos de glyphosate e seus metabolitos

Embora o herbicida glyphosate seja o de maior consumo em nível global e uma das moléculas mais pesquisadas no mundo, poucos trabalhos são encontrados sobre sua absorção, translocação e metabolismo na soja. Isto é surpreendente, levando-se em consideração a importância desta cultura e a quantidade de glyphosate empregada na mesma. Provavelmente, a dificuldade de análise do glyphosate e seus metabólitos sejam a principal razão para isto.

Para estudos sobre a dinâmica de pesticidas no ambiente (solo, planta e água), o uso da técnica de marcação de moléculas com o radioisótopo ^{14}C fornece resultados confiáveis de alta resolução e com sensibilidade dos resíduos totais na cultura. A translocação do glyphosate tem sido estudada com ^{14}C-glyphosate, determinada qualitativamente por autoradiografia e quantitativamente pela medida da radioatividade. Vários estudos mostram que uma vez absorvido, o glyphosate se distribui para as folhas, caules e raízes (WESTWOOD et al., 1997; FENG; PRATLEY; BOHN, 1999).

Apesar de permitir a verificação da distribuição de resíduos na planta, o glyphosate marcado (^{14}C-glyphosate) não é indicado para a identificação e quantificação precisa de glyphosate e seus metabólitos formados durante o processo de degradação da molécula, se utilizado isoladamente. Para tal finalidade, métodos cromatográficos são os mais adequados. A escolha do método deve considerar os processos de extração, purificação e análise. A técnica mais utilizada para a determinação de glyphosate é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Certamente a determinação por fluorescência é o método de detecção mais aplicado na análise cromatográfica do glyphosate

devido à maior sensibilidade e seletividade deste tipo de detecção. Desta forma, glyphosate e seu produto de degradação podem ser devidamente transformados em compostos fluorescentes através de reações de derivação específicas. Dentre os reagentes mais utilizados estão o *o*-ftaldeído (OPA), o FMOC-Cl e o cloreto de *p*-toluenosulfonila. A derivação com OPA, prévia oxidação de glyphosate a glicina em meio alcalino e em temperaturas superiores a 40 °C, tem várias citações na literatura. Para a formação de composto fluorescente mais estável, a reação é feita em presença de mercaptoetanol. A CLAE com derivação pós-coluna com detecção por fluorescência e derivação com OPA é uma técnica eficiente na detecção de resíduos de glyphosate em grãos de soja que vem sendo utilizada em estudos com cultivares resistentes a este herbicida nos EUA e na Argentina (HOGENDOORN et al., 1998; AMARANTE JÚNIOR et al., 2002; ARREGUI et al., 2004).

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Resíduos de agrotóxicos em alimentos - Informe Técnico Institucional. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 40, n. 2, p. 361-363, 2006.

AMARANTE JÚNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L. Métodos de extração e determinação do herbicida glifosato: breve revisão. **Quimica Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 420-428, 2002.

ARREGUI, M. C.; LENARDON, A.; SANCHEZ, D.; MAITRE, M. I.; SCOTTA, R.; ENRIQUE, S. Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate-resistant soybean. **Pest Management Science**, Chichester, v. 60, n. 2, p. 163-166, 2004.

BENBROOK, C. **Economic & environmental impacts of first-generation GMOs:** lessons from U.S. Geneva: ICTSD, 2002. Disponível em: <http://www.ictsd.org/issarea/ag/resources/docs/US1.pdf>. Acesso em: 16 nov. 2005.

BOHM, G. M. B.; GENOVESE, M. I.; PIGOSSO, G.; TRICHEZ, D.; ROMBALDI, C. V. Resíduos de glifosato e ácido aminometilfosfônico e teores de isoflavonas em soja BRS 244 RR e BRS 154. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 192-197, 2008.

BONNY, S. Genetically modified glyphosate-tolerant soybean in the USA: adoption factors, impacts and prospects. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, Les Ulis, v. 28, n. 1, p. 21-32, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Adequação da "Relação de monografias dos ingredientes ativos de agrotóxicos, domissanitários e preservantes de madeira", no tocante ao ingrediente ativo glifosato. Resolução nº 184, de 19 de setembro de 2003. **Diário Oficial da União**, Brasília, 19 set. 2003b.

_____. **Monografias de Produtos Agrotóxicos**. G01 - Glifosato. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/g01.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2006a.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Consulta Pública n° 55, de 11 de setembro de 2006. **Diário Oficial da União**, Brasília, 12 set. 2006b.

_____. Decreto nº 98.816, de 11 de janeiro de 1990. Regulamenta a Lei n° 7.802, de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 jan. 1990.

_____. Decreto nº 4.680, de 24 de abril de 2003. Regulamenta o direito à informação assegurado pela Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990, quanto aos ingredientes alimentares destinados ao consumo humano ou animal que contenham ou sejam produzidos a partir de organismos geneticamente modificados, sem prejuízo do cumprimento das demais normas aplicáveis. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 25 abr. 2003a, Seção I, p. 2.

_____. Decreto Federal nº 5.591, de 22 de novembro de 2005. Regulamenta dispositivos da Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005, que regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 22 nov. 2005a.

_____. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 jul. 1989.

_____. Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados - OGM e seus derivados, cria o Conselho Nacional de Biossegurança - CNBS, reestrutura a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança - PNB, revoga a Lei nº 8.974, de 5 de janeiro de 1995, e a Medida Provisória nº 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5º, 6º, 7º, 8º, 9º, 10 e 16 da Lei nº 10.814, de 15 de dezembro de 2003, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 mar. 2005b, Seção 1, p.1.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins. **AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Brasília, 2003. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 25 fev. 2008.

_____. Ministério da Ciência e Tecnologia. Agência CT. **Brasil é o terceiro no plantio de transgênicos**. Disponível em: <http://agenciact.mct.gov.br/index.php/content/view/32607.html>. Acesso em: 15 jul. 2006.

CALDAS, E. D.; SOUZA, L. C. K. R. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 529-537, 2000.

CASELEY, J. C.; COUPLAND, D. Environmental and plant factors affecting glyphosate uptake, movement and activity. In: GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. (Ed.). **The herbicide glyphosate**. London, UK: Butterworths, 1985. p. 92-124.

CORREIA, N. M.; DURIGAN, J. C. Seletividade de diferentes herbicidas à base de glyphosate a soja RR. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 2, p. 375-379, 2007.

DELANNAY, X.; BAUMAN, T. T.; BEIGHLEY, D. H.; BUETTNER, M. J.; COBLE, H. D.; DEFELICE, M. S.; DERTING, C. W.; DIEDRICK, T. J.; GRIFFIN, J. L.; HAGOOD, E. S.; HANCOCK, F. G.; HART, S. E.; LAVALLEE, B. J.; LOUX, M. M.; LUESCHEN, W. E.; MATSON, K. W.; MOOTS, C. K.; MURDOCK, E.; NICKELL, A. D.; OWEN, M. D. K.; PASCHALL, E. H.; PROCHASKA, L. M.; RAYMOND, P. J.; REYNOLDS, D. B.; RHODES, W. K.; ROETH, F. W.; SPRANKLE, P. L.; TAROCHIONE, L. J.; TINIUS, C. N.; WALKER, R. H.; WAX, L. M.; WEIGELT, H. D.; PADGETTE, S. R. Yield evaluation of a glyphosate-tolerant soybean line after treatment with glyphosate. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 5, p. 1461-1467, 1995.

DILL, G. M. Glyphosate-resistant crops: history, status and future. In: SYMPOSIUM ON HERBICIDE-RESISTANT CROPS FROM BIOTECHNOLOGY HELD AT ACS NATIONAL MEETING, 227., 2004, Anaheim. **Proceedings...** Chicago: American Chemical Society, 2004. p. 219-224.

_____.; CAJACOB, C. A.; PADGETTE, S. R. Glyphosate-resistant crops: adoption, use and future considerations. **Pest Management Science**, Chichester, v. 64, n. 4, p. 326-331, 2008.

DUKE, S. O.; RIMANDO, A. M.; PACE, P. F.; REDDY, K. N.; SMEDA, R. J. Isoflavone, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid levels in seeds of glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 1, p. 340-344, 2003.

DURIGAN, J. C. **Efeitos de adjuvantes na aplicação e eficácia dos herbicidas.** Jaboticabal: FUNEP, 1993. 42 p.

EMBRAPA. **Tecnologias de Produção de soja - região central do Brasil - 2005**. Brasília: Embrapa Soja, 2005. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/>. Acesso em: 28 out. 2009.

FARIAS NETO, J. T.; VELLO, N. A. Avaliação de progênies F4:3 e F5:3 e estimativa de parâmetros genéticos com ênfase para porcentagem de óleo, produtividade de grãos e óleo em soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 4, p. 812-820, 2001.

FENG, P. C. C.; PRATLEY, J. E.; BOHN, J. A. Resistance to glyphosate in Lolium rigidum. II. Uptake, translocation, and metabolism. **Weed Science**, Lawrence, v. 47, n. 4, p. 412-415, 1999.

GELMINI, G. A. **Herbicidas**: Indicações básicas. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 334 p.

GOTTRUP, O.; OSULLIVAN, P. A.; SCHRAA, R. J.; VANDENBORN, W. H. Uptake, translocation, metabolism and selectivity of glyphosate in canada thistle and leafy spurge. **Weed Research**, Oxford, v. 16, n. 3, p. 197-201, 1976.

HOGENDOORN, E. A.; OSSENDRIJVER, F. M.; DIJKMAN, E.; BAUMANN, R. A. Rapid determination of glyphosate in cereal samples by means of pre-column derivatisation with 9-fluorenylmethyl chloroformate and coupled-column liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 833, p. 67-73, 1998.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003**. Análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil. Brasília, 2006. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/>. Acesso em: 15 jul. 2006.

JAMES, C. **Executive summary of global status of commercialized biotech/GM crops:** 2009**.** Ithaca: ISAAA, 2009. Disponível em: <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/41/default.asp>. Acesso em: 16 dez. 2010.

KARR-LILIENTHAL, L. K.; GRIESHOP, C. M.; MERCHEN, N. R.; MAHAN, D. C.; FAHEY, G. C. Chemical composition and protein quality comparisons of soybeans and soybean meals from five leading soybean-producing countries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 20, p. 6193-6199, 2004.

KLEBA, J. B. Riscos e benefícios de plantas transgênicas resistentes a herbicidas: o caso da soja RR da Monsanto. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 15, n. 3, p. 9-42, 1998.

LEAPER, C.; HOLLOWAY, P. J. Adjuvants and glyphosate activity. **Pest Management Science**, Chichester, v. 56, n. 4, p. 313-319, 2000.

MATO GROSSO (Estado). **Famílias carentes serão beneficiadas com fábrica de leite de soja e derivados**. Cuiabá, 2006. Disponível em: <http://www.secom.mt.gov.br/conteudo2.php?sid=25&cid=8520&parent=0>. Acesso em: 15 jul. 2006.

MENASCHE, R. **Transgênicos**: uma cronologia. Porto Alegre, 2000. Disponível em: <http://www.agrisustentavel.com/trans/crono.htm>. Acesso em: 24 maio 2009.

MOLIN, W. T.; HIRASE, K. Effects of surfactants and simulated rainfall on the efficacy of the Engame formulation of glyphosate in johnsongrass, prickly sida and yellow nutsedge. **Weed Biology and Management**, Richmond, v. 5, n. 3, p. 123-127, 2005.

NALEWAJA, J. D.; DEVILLIERS, B.; MATYSIAK, R. Surfactant and salt affect glyphosate retention and absorption. **Weed Research**, Oxford, v. 36, n. 3, p. 241-247, 1996.

PADGETTE, S. R.; KOLACZ, K. H.; DELANNAY, X.; RE, D. B.; LAVALLEE, B. J.; TINIUS, C. N.; RHODES, W. K.; OTERO, Y. I.; BARRY, G. F.; EICHHOLTZ, D. A.; PESCHKE, V. M.; NIDA, D. L.; TAYLOR, N. B.; KISHORE, G. M. Development, identification, and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 5, p. 1451-1461, 1995.

PENN, D. J.; LYNCH, J. M. Toxicity of glyphosate applied to roots of barley seedlings. **New Phytologist**, Oxford, v. 90, n. 1, p. 51-55, 1982.

SANDBERG, C. L.; MEGGITT, W. F.; PENNER, D. Absorption, translocation and metabolism of glyphosate-14C in several weed species. **Weed Research**, Oxford. v. 20, n. 4, p. 195-200, 1980.

SANTOS, J. B.; FERREIRA, E. A.; OLIVEIRA, J. A.; SILVA, A. A.; FIALHO, C. M. T. Efeito de formulações na absorção e translocação do glyphosate em soja transgênica. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 2, p. 381-388, 2007.

SCALZILLI, J. C. L.; SCALZILLI, J. P. S.; DIAS, L. M. Soja transgênica no Brasil: anotações sobre a legislação de plantio, comercialização e direitos da propriedade intelectual. **Boletim Jurídico**, Uberaba, n. 145, 2005. Disponível em: <http://www.boletimjuridico.com.br/doutrina/texto.asp?id=829>. Acesso em: 24 mai. 2009.

SCHUSTER, I.; VIEIRA, E. S. N.; SANTANA, H.; SINHORATI, D.; DA SILVA, R. B.; DE OLIVEIRA, M. A. R. Fluxo gênico em soja na Região Oeste do Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 4, p. 515-520, 2007.

SHARMA, S. D.; SINGH, M. Effects of two surfactant series on the absorption and translocation of 14C-glyphosate in sicklepod and prickly sida. **Weed Biology and Management**, Richmond, v. 7, n. 4, p. 219-225, 2007.

SPRANKLE, P.; MEGGITT, W. F.; PENNER, D. Absorption, action, and translocation of glyphosate. **Weed Science**, Lawrence, v. 23, n. 3, p. 235-240, 1975.

SPRANKLE, P.; SANDBERG, C. L.; MEGGITT, W. F.; PENNER, D. Separation of glyphosate and possible metabolites by thin-layer chromatography. **Weed Science**, Lawrence, v. 26, n. 6, p. 673-674, 1978.

TAN, S.; EVANS, R.; SINGH, B. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. **Amino Acids**, Viena, v. 30, n. 2, p. 195-204, 2006.

VELINI, E. D.; DUKE, S. O.; TRINDADE, M. L. B.; MESCHEDE, D. K.; CARBONARI, C. A. Modo de ação do glyphosate. In: VELINI, E. D.; MESCHEDE, D. K.; CARBONARI, C. A.; TRINDADE, M. L. B. **Glyphosate**. Botucatu: FEPAF, 2009. cap. 5, p. 113-133.

VIEIRA, C. R.; CABRAL, L. C.; DE PAULA, A. C. O. Composição centesimal e conteúdo de aminoácidos, ácidos graxos e minerais de seis cultivares de soja destinadas à alimentação humana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 7, p. 1277-1283, 1999.

WESTWOOD, J. H.; YERKES, C. N.; DEGENNARO, F. P.; WELLER, S. C. Absorption and translocation of glyphosate in tolerant and susceptible biotypes of field bindweed (Convolvulus arvensis). **Weed Science**, Lawrence, v. 45, n. 5, p. 658-663, 1997.

WILLIAMS, G. M.; KROES, R.; MUNRO, I. C. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, San Diego, v. 31, n. 2, p. 117-165, 2000.

WOODBURN, A. T. Glyphosate: production, pricing and use worldwide. Pest **Management Science**, Chichester, v. 56, n. 4, p. 309-312, 2000.

3 RESÍDUOS DE ^{14}C-GLYPHOSATE NA SOJA RESISTENTE AO GLYPHOSATE APÓS APLICAÇÃO DE TRÊS FORMULAÇÕES DESTE HERBICIDA

Resumo

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de quantificar resíduos de três formulações de ^{14}C-glyphosate em soja transgênica resistente a este herbicida (SRG) em área de lisímetro sob condições de campo. Dois experimentos foram desenvolvidos, o primeiro experimento (E1) foi plantado em 26 de dezembro de 2005 e colhido em 21 de Abril de 2006. Já o segundo experimento (E2) foi plantado em 13 de Janeiro de 2006 e colhido em 10 de Maio de 2006. O cultivar de soja utilizado foi MSOY a 7575RR (resistente ao glyphosate), as parcelas constaram de vasos plásticos com capacidade para 16 L, preenchidos com mistura de solo, areia e matéria orgânica. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições para ambos os experimentos. Os tratamentos aplicados em E1 e E2 foram: glyphosate (sal de isopropilamina), Roundup Original e Roundup Ready na dose de 1,2 kg e.a ha^{-1} para as três formulações. A aplicação foi realizada aos 25 DAE, cada planta recebeu 10 µL em cada folíolo das quatro primeiras folhas trifoliadas verdadeiras (estádio V4), totalizando 0,96 mg de equivalente ácido de glyphosate em 120 µL de solução com radioatividade total aplicada de 18,33 kBq em cada planta. A colheita dos grãos e a retirada das estruturas analisadas (cascas das vagens, caule, folhas e raízes) foram realizadas no estádio de maturação plena (R8). A coleta das folhas tratadas ocorreu entre 40 e 55 DAE. As avaliações das quantidades residuais de glyphosate foram realizadas separando as duas plantas de cada vaso em grãos, cascas de vagens, caule, raízes e folhas que receberam a aplicação e folhas que não receberam aplicação. Todas as estruturas das plantas foram moídas e uma alíquota de cada repetição foi oxidada e quantificada por espectrometria de cintilação líquida. Não houve diferença estatística entre as formulações para ambos os experimentos. Os tratamentos com adjuvantes aumentaram os resíduos de glyphosate. O valor máximo de resíduos de glyphosate encontrado nos grãos foi de 1,95 mg kg^{-1}, aproximadamente 5 vezes menor do que o Limite Máximo de Resíduos (LMR) permitido pela legislação brasileira de 10,0 mg kg^{-1}.

Palavras-chave: Agrotóxicos. Segurança alimentar. Soja transgênica. Limite Máximo de Resíduo.

Abstract

^{14}C-glyphosate residues in glyphosate-resistant soybean after application of three formulations of this herbicide

The aim of this work was to quantify residues of three ^{14}C-glyphosate formulations in glyphosate-resistant soybean (GRS) in lysymeter under field conditions. Two tests were developed, E1 and E2. E1 was set up on December 26, 2005 and harvested on April 21, 2006. E2 was planted on January 13, 2006 and finished on May 10, 2006. In a completely randomized design, MSOY 7575RR SRG were planted in 16 L plastic pots with a soil mix compounded by clay, sand and organic matter. E1 and E2 had four treatments with four replicates each: control (without herbicide application), glyphosate (isopropylamine salt), Roundup Original and Roundup Ready at 1.2 kg of glyphosate acid equivalent (a. e.) ha^{-1}. The application was performed at 25 days after emergence (25 DAE) when each plant received 10 µL on each leaflet of the first four true leaves (V4 stage). The total amount of a. e. glyphosate per plant was 0.96 mg in 120 µL solution and 18.33 kBq radioactivity. Harvest of grains, stems, pod husks, leaves and roots was done at the stage of full maturity (R8). Treated leaves were collected between 40 and 55 DAE. The glyphosate residues analyses were performed by each part of the plant collected (grains, pod husks, stems, roots, leaves and treated leaves). All analysed material was grounded. Aliquotes were oxidized and quantified by liquid scintillation spectrometry. There was not statistical difference among treatments. Treatments with adjuvants have increased glyphosate residues. The highest glyphosate residual level found in grains was 1.95 mg kg^{-1}, roughly 5 fold lower than the Brazilian MRL of 10.0 mg kg^{-1}.

Keywords: Agrotóxicos. Food safety, transgenic soybean, maximum residue limit.

3.1 Introdução

A planta geneticamente modificada mais cultivada no Brasil é a soja [*Glycine max* (L.) Merr.] resistente ao herbicida glyphosate, com 16,2 milhões de hectares cultivados em 2009 (JAMES, 2009). A soja geneticamente modificada resistente ao glyphosate (SRG) foi obtida através da técnica do DNA recombinante, genes que conferem resistência ao glyphosate são transferidos de bactérias para as plantas de soja. Estas plantas transgênicas apresentam uma variação da EPSPS, que permite continuarem seu desenvolvimento mesmo após a aplicação de glyphosate em pós-emergência, sem ou com poucos efeitos metabólicos adversos (DELANNAY et al., 1995; ARREGUI et al., 2004).

O glyphosate é um herbicida sistêmico, de amplo espectro, não seletivo, pós-emergente, com atividade em plantas anuais e perenes. Seu modo de ação em plantas daninhas suscetíveis é baseado na ligação e bloqueio da atividade da 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato-sintetase (EPSPS), uma enzima da via da biossíntese de aminoácidos. Sua ação inibitória resulta numa série de processos que leva as plantas à morte (RODRIGUES; ALMEIDA, 2005). As propriedades herbicidas do glyphosate foram descobertas pela Monsanto em 1970 e as primeiras formulações comerciais foram introduzidas em 1974, sob a marca Roundup® (FARM, 2009).

A absorção de glyphosate ocorre através das folhas e a massa absorvida é relacionada à prévia penetração cuticular, principalmente pela via hidrofílica, sendo a difusão o principal processo de transporte de solutos através da cutícula (CASELEY; COUPLAND, 1985). Somente uma pequena quantidade em relação à inicial aplicada é necessária para que a ação herbicida ocorra. A maior parte é perdida através de processos desde diluição no tanque até o local de ação dentro das plantas. Como o glyphosate é aplicado em pós-emergência, pulverizado sobre as plantas, surfactantes aumentam a penetração e a absorção (NALEWAJA; DEVILLIERS; MATYSIAK, 1996; LEAPER; HOLLOWAY, 2000). A fase de absorção é lenta e sua duração depende de alguns fatores como idade e espécie da planta daninha, condições climáticas, ingrediente ativo e concentração de surfactantes (SPRANKLE; MEGGITT; PENNER, 1975; CASELEY; COUPLAND, 1985).

A translocação de glyphosate vem sendo estudada com ^{14}C-glyphosate, determinada quantitativamente por mensuração radioativa. Trabalhos científicos mostram que o glyphosate é distribuído nas folhas, caules e raízes após a absorção (SANDBERG; MEGGITT; PENNER, 1980; WESTWOOD et al., 1997; FENG; PRATLEY; BOHN, 1999). Como a absorção precede a translocação, os fatores que influenciam a absorção também agem sobre a translocação (NALEWAJA; DEVILLIERS; MATYSIAK, 1996; LEAPER; HOLLOWAY, 2000).

O Limite Máximo de Resíduos (LMR) de glyphosate em grãos de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) no Brasil era 2,0 mg kg^{-1} (AMARANTE JÚNIOR et al., 2002) o que equivale a 50% do LMR do *Codex Alimentarius.* Porém em 2003, este valor foi aumentado para 10,0 mg kg^{-1} (BRASIL, 2006). Dentro deste contexto, o assunto torna-se mais relevante ao constatar que em 2009 cerca de 21,4 milhões de ha, 70% do total da área brasileira cultivada com soja, foi plantada com a soja geneticamente modificada resistente ao glyphosate (SRG) (JAMES, 2009; SANTOS et al., 2007a; SCHUSTER et al., 2007).

Um estudo realizado na Argentina mostra 1,8 (± 0,4) mg kg^{-1} de resíduos de glyphosate e 0,9 (± 0,8) mg kg^{-1} de resíduos de seu principal metabólito, o ácido aminometilfosfônico (AMPA) foram encontrados em grãos da SRG. Esta pesquisa testou somente uma formulação de glyphosate, diferente daquela legalmente autorizada no Brasil (herbicida Roundup Ready) para controle de plantas daninhas em pós-emergência na SRG. Adicionalmente, resíduos da dose mais alta aplicada (1,68 kg ha^{-1}) não foram avaliados nos grãos e as épocas de aplicação não foram as mesmas daquelas aprovadas pelo órgão regulatório brasileiro para a formulação Roundup Ready (ARREGUI et al., 2004; BRASIL, 2003).

Outro trabalho, conduzido no Brasil, avaliou a fitotoxicidade de diferentes formulações de glyphosate 15 dias após tratamento (15 DAT), onde as mesmas foram aplicadas 25 dias após a emergência (25 DAE) das plantas cultivadas em vasos. Conclusões deste estudo mostram que o herbicida Roundup Ready não deveria ser aplicado em doses elevadas, devido à redução de alguns nutrientes nas folhas (SANTOS et al., 2007a; 2007b).

Desta forma, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar em área de lisímetro sob condições de campo, o efeito de três formulações de

glyphosate marcados com ^{14}C-glyphosate aplicado em folhas individuais de SRG aos 25 dias após a emergência (25 DAE) avaliando a quantidade de resíduos deste ingrediente ativo em diferentes órgãos das plantas após o final do seu ciclo de vida.

3.2 Material e Métodos

Dois experimentos foram desenvolvidos em área de lisímetro sob condições de campo na estação experimental do Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Energia Nuclear na Agricultura CENA/USP, em Piracicaba – SP – Brasil, no período compreendido entre dezembro de 2005 a maio de 2006. O primeiro experimento (E1) foi semeado em 26 de dezembro de 2005 e colhido em 21 de abril de 2006. Já o segundo experimento (E2) foi semeado em 13 de janeiro de 2006 e colhido em 10 de maio de 2006.

O cultivar de soja utilizado foi o MSOY 7575RR (resistente ao glyphosate) para ambos os experimentos, foram distribuídas 10 sementes de soja onde deveriam restar duas plantas por vaso, visando a assegurar a população final dos tratamentos. Aos 15 dias após a emergência (15 DAE) realizou-se o desbaste nas parcelas, mantendo-se duas plantas por parcela.

As parcelas constaram de vasos plásticos com capacidade para 16 L, preenchidos com mistura de solo, areia e matéria orgânica na proporção 2:1:1, devidamente fertilizado com 3,46 g de NH_4SO_4, 9,23 g de Superfosfato Simples e 2,08 g de KCl. Para a correção do pH e fornecimento de Ca e Mg foi adicionado o equivalente a 9,17 g por parcela de calcário dolomítico PRNT 120 aos 15 dias antes da instalação do experimento E1 e E2.

A análise química e física do solo utilizado nos experimentos está apresentada na Tabela 3.1. Os vasos foram irrigados manualmente, sem a ocorrência de deficiência hídrica para o desenvolvimento normal das plantas.

Tabela 3.1 – Propriedades químicas e físicas* do substrato utilizado nos experimentos E1 e E2. Piracicaba, 2005/2006

Propriedades Químicas									
pH	**M.O**	**P resina**	**K**	**Ca**	**Mg**	**H+AL**	**CTC**	**V**	**m**
$CaCl_2$	g dm^{-3}	mg dm^{-3}			$mmol_c$ dm^{-3}			%	
6,1	56	91	2,2	46	20	16	84,2	81	0
S	B	Cu	Zn	Mn	Fe				
				mg dm^{-3}					
78	102	2,09	4,79	13,2	25				
Propriedades Físicas									
Argila		**Silte**		**Areia Total**					
				%					
20%		6%		74%					

* Análise realizada pelo Departamento de Solos e Nutrição de Plantas da ESALQ/USP

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições para ambos os experimentos. As doses e quantidades do ingrediente ativo glyphosate utilizadas nos experimentos estão descritas na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 - Tratamentos, doses e quantidades do ingrediente ativo glyphosate aplicado nos experimentos E1 e E2. Piracicaba, 2005/2006

Tratamento	**Aplicação Única**	
	Dose (p.c.) * L ha^{-1}	**equivalente kg ha^{-1}**
Glyphosate (sal de isopropilamina)	2,50	1,2
Roundup Original	3,33	1,2
Roundup Ready	2,50	1,2

* p.c.– produto comercial

As doses de todos os tratamentos foram ajustadas pela quantidade de ingrediente ativo correspondente à dose máxima para aplicação única do produto Roundup Ready (Monsanto do Brasil Ltda.), determinada no registro do produto concedido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA): 1,2 kg ha^{-1} (BRASIL, 2003). Nos tratamentos Roundup Original e

Roundup Ready, o ^{14}C-glyphosate foi fortificado a 0,50% em equivalente ácido da dose total estabelecida.

A aplicação foi realizada aos 25 DAE através de uma seringa de 50 µL (Microliter #705, Hamilton Company) acoplada a um dispensador manual (multidispenser) de 1 µL (PB 600-1, Hamilton Company). Cada planta recebeu 10 µL em cada folíolo (MCWHORTER; JORDAN; WILLS, 1980; NORSWORTHY, 2004) das quatro primeiras folhas trifoliadas verdadeiras (estádio V4), totalizando 0,96 mg de equivalente ácido de glyphosate em 120 µL de solução por planta. Esta quantidade corresponde à dose de 1,2 kg ha^{-1} de ácido de glyphosate diluída em 187 L ha^{-1} (MCWHORTER; JORDAN; WILLS, 1980; SANDBERG; MEGGITT; PENNER, 1980). A radioatividade total aplicada foi de 18,33 kBq em cada planta, ou seja, 36,66 kBq por parcela.

A condição das plantas aos 25 DAE é apresentada na Figura 3.1, e o conjunto seringa-dispensador, o modo de aplicação e a distribuição das gotas de 1 µL nos folíolos é apresentada na Figura 3.2.

Figura 3.1 - Plantas no momento da aplicação aos 25 dias após a emergência (DAE). Piracicaba, 2005/2006

Figura 3.2 - Seringa de 50 µL e dispensador (A), modo de aplicação (B) e distribuição das gotas de 1 µL nos folíolos (C). Piracicaba, 2005/2006

As condições de temperatura e umidade relativa no momento da aplicação para ambos os experimentos estão detalhadamente descritas na Tabela 3.3. Os dados de temperatura e precipitação registrados para o período de condução dos experimentos estão apresentados nas Figuras 3.3 e 3.4, para os experimento 1 e 2, respectivamente.

Tabela 3.3 - Condições ambientais no momento da aplicação dos experimentos E1 e E2. Piracicaba, 2005/2006.

Tratamento	**Temperatura Média (ºC)**		**Umidade Relativa (%)**	
	E1(*)	**E2(**)**	**E1**	**E2**
Controle	----	----	----	----
Glyphosate (Sal de isopropilamina)	33	34	52	53
Roundup Original	28	28	62	72
Roundup Ready	32	29	54	63

(*) Experimento 1. (**) Experimento 2.

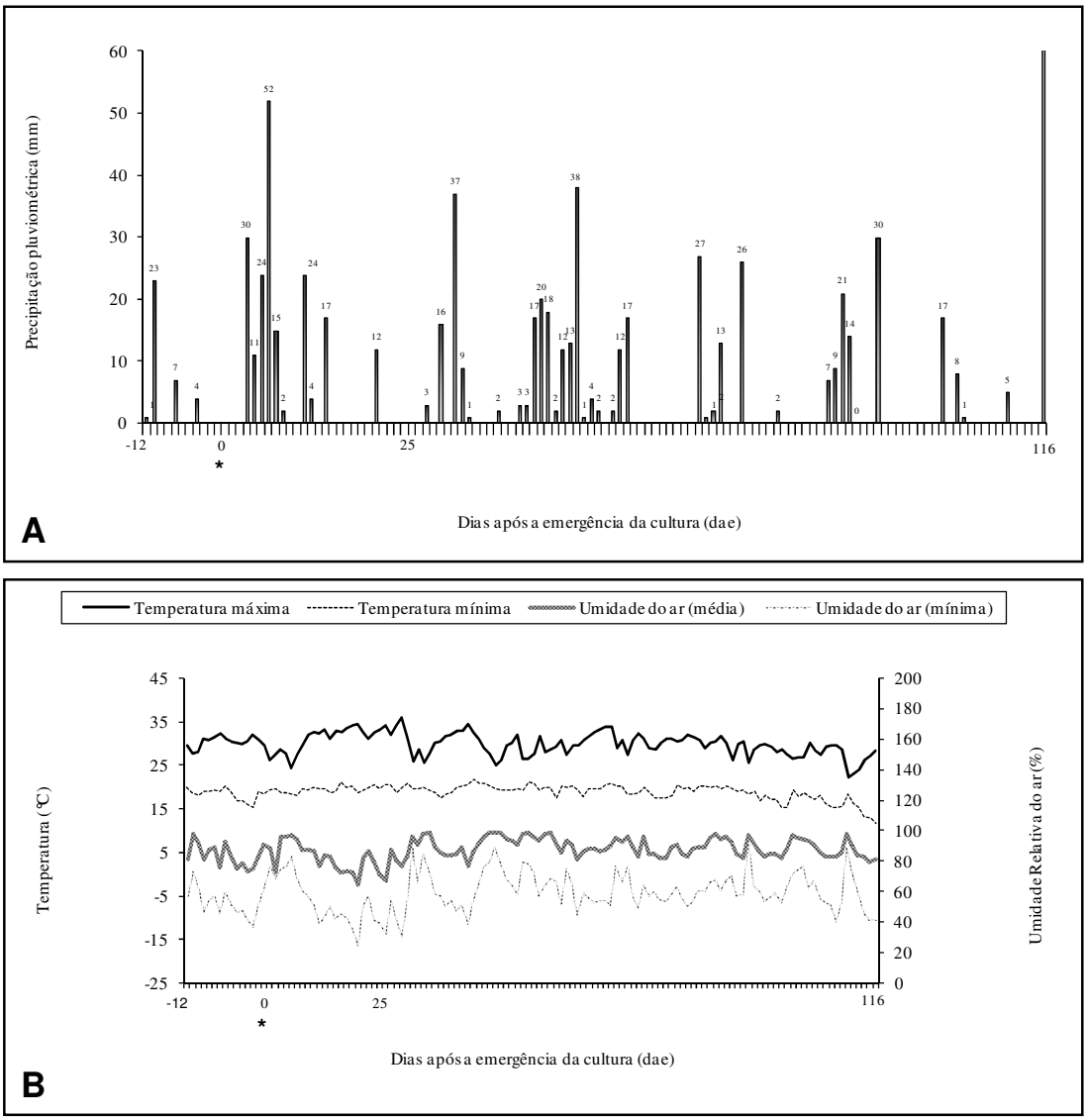

Figura 3.3 - Precipitações (mm) (A) e Temperatura (ºC) (B) registradas para local e período de condução para o experimento E1. * 0 indica a data da emergência de mais de 50% das sementes. Piracicaba, 2005/2006

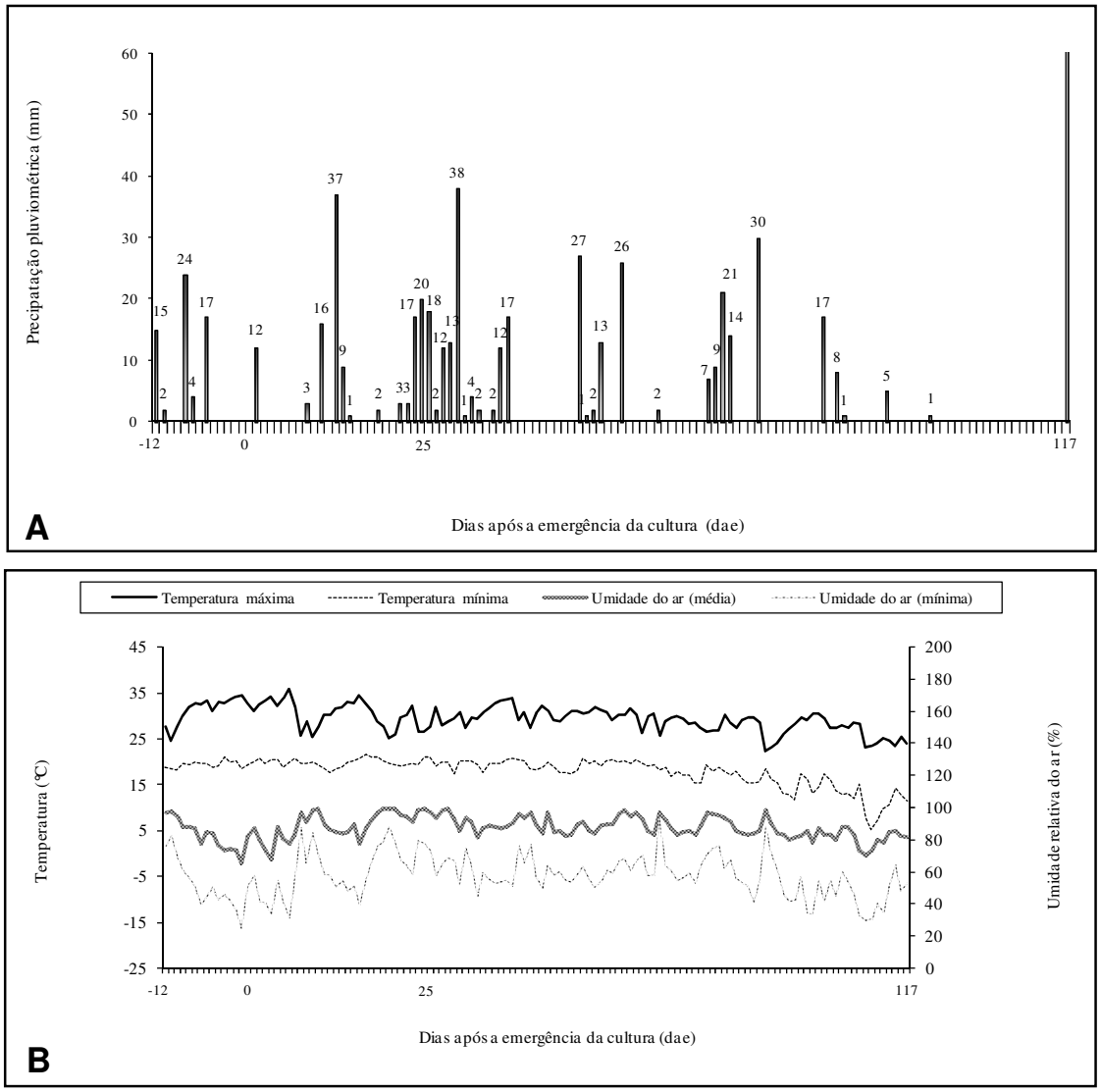

Figura 3.4 - Precipitações (mm) (A) e Temperatura (ºC) (B) registradas para local e período de condução para o experimento E2. * 0 indica a data da emergência de mais de 50% das sementes. Piracicaba, 2005/2006

A colheita dos grãos e a retirada das estruturas analisadas (cascas das vagens, caule, folhas e raízes) foram realizadas manualmente no estádio de maturação plena (R8) (Figura 3.5). A única exceção foi a coleta das folhas tratadas, que ocorreu entre 40 e 55 DAE, à medida que as mesmas foram se destacando naturalmente das plantas.

Figura 3.5 - Plantas no momento da colheita aos 112 dias após a emergência (DAE). Piracicaba, 2005/2006

As avaliações das quantidades residuais de glyphosate nos grãos foram realizadas no Laboratório de Ecotoxicologia do CENA/USP. As duas plantas de cada parcela foram separadas em grãos, cascas de vagens, caule, raízes e folhas. As folhas foram separadas em dois grupos: um composto pelas que receberam aplicação de glyphosate e o outro pelas que não receberam. A coleta das mesmas foi realizada após sua senescência e destacamento natural das plantas de soja.

Cada uma das estruturas das plantas de cada parcela foi homogeneizada em moinho apropriado e logo após uma alíquota de 0,05 g das folhas e 0,10 g de cada uma das demais estruturas foi oxidada em Oxidador Biológico modelo OX 500 da Harvey Instruments e coletados em monoetanolamina mais solução cintiladora, após este processo a radiação foi quantificada por espectrometria de

cintilação líquida (ECL, Packard TR-1600). A quantidade residual do glyphosate foi expressa em termos de porcentagem em relação à inicialmente aplicada.

Para cada experimento, os dados foram submetidos à análise da variância com aplicação do teste 'F', com o auxílio do programa estatístico SAS - Statistical Analysis System (SAS INSTITUTE, 1988). Quando significativos, os níveis qualitativos foram comparados pelo teste de 'tukey', com 5% de significância.

3.3 Resultados e Discussão

Em ambos os experimentos, a aplicação do teste F na análise da variância não indicou a significância (5%) entre as formulações Roundup Ready e Roundup Original em todas as situações analisadas para ambos os experimentos (E1 e E2).

Os resíduos de ^{14}C-glyphosate, expressos em porcentagem da radioatividade inicial aplicada aos 25 DAE, em cada tecido analisado (grãos, cascas de vagens, caules, folhas que receberam a aplicação e folhas que não receberam aplicação), por tratamento e experimento são apresentados na Tabela 3.4, exceto para o tratamento controle que não apresentou níveis de resíduos acima de 0,01%.

O tratamento glyphosate sem surfactante diferiu significativamente dos demais que empregaram o surfactante, resultando em menores quantidades de resíduos em todas as situações analisadas (NALEWAJA; DEVILLIERS; MATYSIAK, 1996; LEAPER; HOLLOWAY, 2000). Estes compostos também auxiliaram no maior acúmulo de glyphosate na SRG. Os resíduos de ^{14}C-glyphosate permaneceram em grande quantidade nas folhas que receberam a aplicação.

Arregui et al. (2004) constataram que as plantas de SRG acumulam resíduos deste herbicida e de seu principal metabólito (AMPA) nos grãos e, principalmente, nas folhas. No presente trabalho, a quantidade encontrada nos grãos não foi significativamente diferente daquelas nas cascas das vagens, caules e folhas que não receberam aplicação. Por outro lado, considera-se que o metabolismo do glyphosate pode ocorrer em plantas de soja, tornando

necessária a identificação dos resíduos envolvidos (KOMOBA; GENNITY; SANDERMANN, 1992; ARREGUI et al., 2004).

Tabela 3.4 - Resíduos de ^{14}C-glyphosate na SRG após aplicação aos 25 DAE (% da radioatividade inicial aplicada). Piracicaba, 2005/2006

Órgão	Glyphosate (sem surfactante)		Roundup Original		Roundup Ready	
	E1	E2	E1	E2	E1	E2
Grãos	1,83 (0,26)	0,82 (0,42)	2,46 (0,49)	4,34 (0,69)	2,69 (0,53)	4,88 (0,50)
Vagens (cascas)	1,28 (0,19)	0,64 (0,37)	1,92 (0,23)	3,16 (1,74)	1,83 (0,51)	3,72 (0,31)
Caule	2,92 (0,64)	1,18 (0,22)	4,17 (0,83)	3,79 (1,37)	4,03 (0,65)	5,09 (0,75)
Raízes	0,85 (0,54)	0,39 (0,26)	1,03 (0,67)	1,25 (0,79)	1,12 (0,46)	0,82 (0,41)
Folhas*	2,80 (0,66)	0,87 (0,32)	3,75 (0,59)	3,45 (0,92)	3,18 (0,25)	4,07 (0,48)
Folhas**	2,82 (1,09)	1,35 (0,66)	3,87 (1,09)	8,01 (1,50)	4,96 (1,88)	7,73 (1,82)

Dados entre parênteses indicam o erro padrão da média. * Folhas que não receberam aplicação.
** Folhas que receberam aplicação.

Tabela 3.5 - Resíduos de ^{14}C-glyphosate na SRG após aplicação aos 25 DAE (mg kg^{-1}). Piracicaba, 2005/2006

Órgão	Glyphosate (sem surfactante)		Roundup Original		Roundup Ready	
	E1	E2	E1	E2	E1	E2
Grãos	0,65 (0,08)	0,38 (0,13)	0,94 (0,13)	1,72 (0,19)	0,82 (0,98)	1,95 (0,20)
Vagens (cascas)	1,21 (0,12)	0,57 (0,18)	1,81 (0,14)	2,85 (0,99)	1,55 (0,14)	3,26 (0,19)
Caule	1,48 (0,28)	0,66 (0,11)	2,13 (0,34)	2,19 (0,48)	1,97 (0,31)	3,07 (0,39)
Raízes	2,24 (0,72)	0,35 (0,03)	2,85 (0,36)	1,11 (0,46)	3,26 (0,73)	0,79 (0,12)
Folhas*	1,80 (0,34)	0,76 (0,07)	2,36 (0,52)	2,48 (0,46)	1,96 (0,08)	3,38 (0,58)
Folhas**	13,11 (1,95)	5,71 (1,50)	16,21 (1,75)	31,69 (6,53)	26,62 (3,67)	33,87 (3,86)

Dados entre parênteses indicam o erro padrão da média. * Folhas que não receberam aplicação.
** Folhas que receberam aplicação.

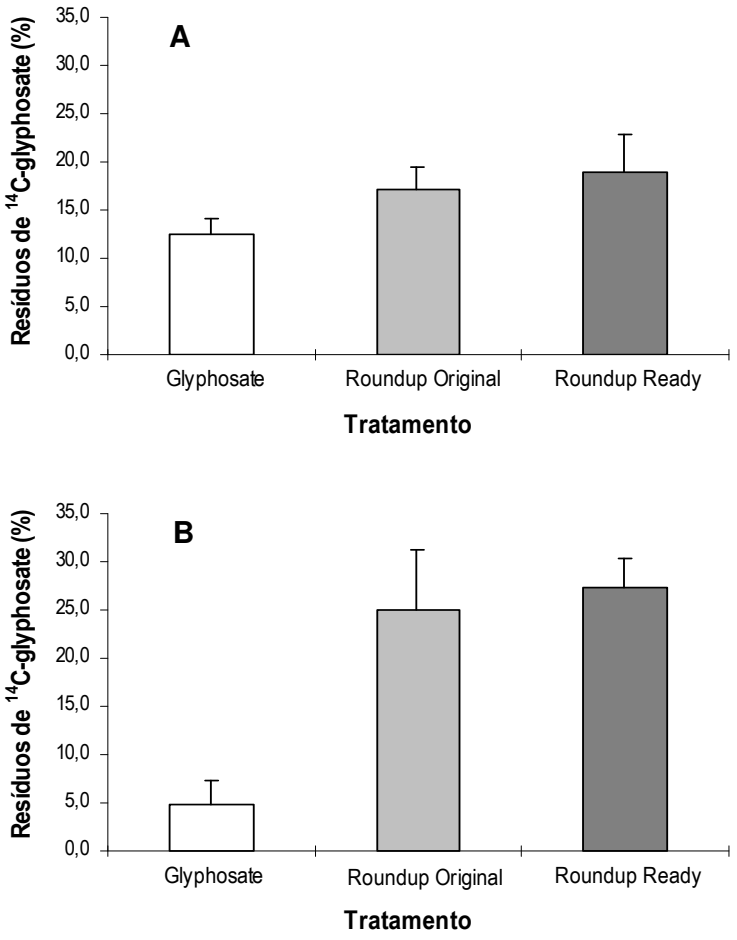

Figura 3.6 - Resíduos de ^{14}C-glyphosate (grãos, cascas das vagens, folhas, caules e raízes) em E1 (A) e E2 (B) em porcentagem da radioatividade inicial aplicada. Barras verticais mostram o erro padrão da média. Piracicaba, 2005/2006

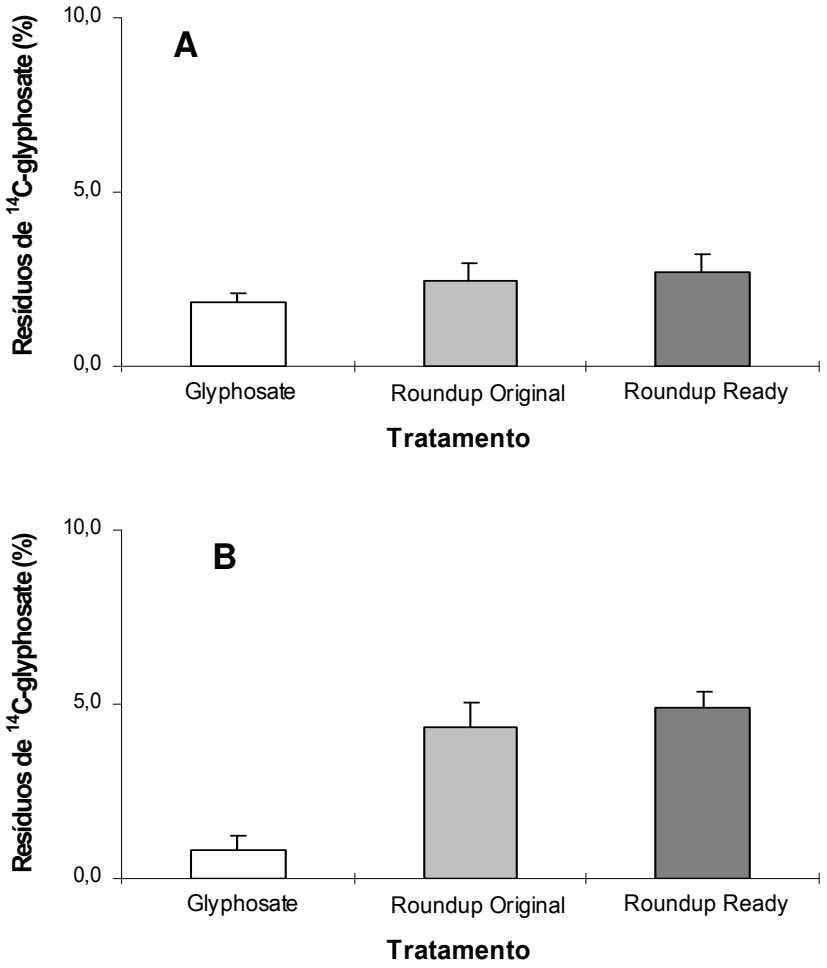

Figura 3.7 - Resíduos de ^{14}C-glyphosate em grãos em E1 (A) e E2 (B) em porcentagem da radioatividade inicial aplicada. Barras verticais mostram o erro padrão da média. Piracicaba, 2005/2006.

Em relação aos diferentes experimentos, o segundo experimento (E2) apresentou porcentagem da radioatividade inicial aplicada bem mais elevada do que os observados no primeiro experimento (E1) nas folhas, cascas e grãos que receberam aplicação dos tratamentos Roundup Ready e Roundup Original. A explicação aparentemente está nas condições climáticas diferentes em E1 e E2 que pode ter alterado a velocidade de penetração e a quantidade absorvida do glyphosate.

Foram observados mais pontos de necrose nas folhas tratadas com a formulação Roundup Ready em E2 do que em E1. O forte ácido causa manchas

necróticas abaixo dos depósitos das gotas pulverizadas e inutiliza o efeito herbicida do glyphosate. A teoria é de que a absorção mais rápida do glyphosate permite menores perdas por precipitação pluviométrica e mais glyphosate é translocado antes deste ingrediente ativo inibir sua própria absorção e translocação. Porém, a maior parte da quantidade aplicada retida nas camadas lipofílicas da epiderme foliar pode apresentar relação direta com a maior quantidade absorvida (GREEN; BEESTMAN, 2007). Deste modo, pode-se inferir que houve uma maior disponibilidade de produto para absorção em E2.

Em relação à quantidade total de radioatividade recuperada, em um estudo desenvolvido em casa de vegetação com objetivo de avaliar o crescimento do algodão [*Gossypium hirsutum* (L.)] resistente ao glyphosate após a absorção e translocação deste ingrediente ativo, Pline et al. (2001) observaram que até 30% do glyphosate aplicado quando as plantas encontravam-se no estádio V4 foi recuperado nos tecidos analisados das plantas de algodão. A perda de ^{14}C no tempo pode ser explicada por um possível metabolismo do herbicida na planta, pela degradação de ^{14}C-glyphosate não absorvido pelas plantas por microrganismos presentes na superfície das folhas, exsudação de ^{14}C-glyphosate das raízes ou diretamente para atmosfera.

Adicionalmente, umidade e temperatura podem influenciar a natureza dos depósitos de glyphosate nas folhas após a pulverização e a permeabilidade da cutícula. Assim, a perda de ^{14}C pode acontecer pela secagem das gotas ou durante o processo de penetração e antes do processo de absorção. Sob condições de campo, lavagem por precipitação pluviométrica também pode reduzir a recuperação de ^{14}C após a aplicação de ^{14}C-glyphosate (RODRIGUES; WORSHAM; CORBIN, 1982; MCALLISTER; HADERLIE, 1985; KOMOBA; GENNITY; SANDERMANN, 1992; PLINE et al., 2001). O tipo e concentração de adjuvantes também podem afetar a taxa de secagem das gotas. O efeito potencial dos adjuvantes é maior em condições de campo do que em casa de vegetação (LEAPER; HOLLOWAY, 2000; SCHONHERR, 2002; FENG; CHIU, 2005). No presente trabalho esta última afirmação pode ser confirmada. Independentemente das condições ambientais no momento da aplicação, as formulações com adjuvantes mostraram níveis de resíduos mais altos em todos os tecidos vegetais analisados (Tabelas 3.4 e 3.5), em ambos os experimentos

(E1 e E2). Comparando os resíduos entre E1 e E2, os dados mostram níveis duas vezes mais altos nos órgãos reprodutivos (grãos e cascas das vagens) em E2. Resultados similares foram obtidos com o algodão resistente ao glyphosate por Pline et al., 2001.

O tratamento glyphosate sem surfactante em E2 precisa ser analisado separadamente. Apesar da utilização de cobertura de plástico durante a aplicação para evitar a perda por lavagem causada por precipitação pluviométrica, ventos acima de 10 km h^{-1} sacudiram fortemente as plantas deste tratamento, logo após sua aplicação. A influência do vento após a aplicação pode reduzir a penetração e absorção dos produtos aplicados. Provavelmente, este deve ter sido o fato que deve ter influenciado os níveis de resíduos mais baixos deste tratamento em E2.

O efeito da deriva, comum em aplicações a campo pode ser excluído como uma possível causa, devido à aplicação das gotas ter sido realizada diretamente sobre a superfície das folhas. A diferença entre os experimentos E1 e E2 parece estar relacionada com as condições ambientais. Provavelmente, os níveis de resíduos mais altos nas folhas tratadas com Roundup Ready e Roundup Original em E2 são resultado da menor precipitação pluviométrica (aproximadamente 30%) daquela ocorrida em E1 (Figuras 3.6 e 3.7) no período após a aplicação (25 DAE) até o momento da queda das folhas tratadas (entre 45 e 55 DAE). Este fato também pode ser correlacionado com os níveis aproximadamente duas vezes mais alto nos grãos em E2. Os níveis mais altos das folhas tratadas em E2 podem ser um indício de que uma maior quantidade de glyphosate ficou disponível para ser absorvido e translocado. Alguns autores provaram que maior retenção nas folhas aumenta a absorção de glyphosate (SPRANKLE; MEGGITT; PENNER, 1975; CASELEY; COUPLAND, 1985; NALEWAJA; DEVILLIERS; MATYSIAK, 1996; LEAPER; HOLLOWAY, 2000).

Pline et al. (2001) mostraram que as folhas tratadas de algodão resistente ao glyphosate com as mais altas recuperações de ^{14}C-glyphosate também possuíam os mais altos índices nos órgãos reprodutivos. Este padrão também foi observado no presente trabalho. Pesquisas em condições de campo consideram que a injúria causada por surfactantes associada à aplicação manual com gotas maiores do que as pulverizadas por equipamentos mecanizados podem resultar

em quantidades maiores de glyphosate nas folhas tratadas. Gotas de diâmetro maior também aumentam a retenção, absorção e translocação do ^{14}C-glyphosate (FENG et al., 2003; FENG; CHIU, 2005). Independentemente dos tratamentos, notou-se que o tratamento Roundup Ready apresentou a tendência de aumentar os resíduos de ^{14}C-glyphosate nos grãos e a recuperação total de ^{14}C nas SRG.

Apesar da possibilidade do metabolismo de glyphosate ocorrer na SRG, ainda não há relatos na literatura sobre este fato. Por este motivo, considera-se os resíduos encontrados nos diferentes órgãos como resíduos de glyphosate. A Tabela 3.5 mostra a porcentagem da radioatividade inicial aplicada convertida em mg kg^{-1} de resíduos de glyphosate em todos os tecidos analisados (DUKE et al., 2003; REDDY et al., 2008). Após a análise da Tabela 3.5, fica evidenciado que a maior parte do produto aplicado fica retida nas folhas tratadas e é translocada para os órgãos reprodutivos (grãos e cascas das vagens). Adicionalmente, o maior valor encontrado nos grãos, 1,95 mg kg^{-1} é aproximadamente cinco vezes menor do que o Limite Máximo de Resíduos (LMR) estabelecido pela legislação brasileira, 10 mg kg^{-1}.

3.3 Conclusões

Em conclusão, as formulações com adjuvantes aumentaram os resíduos de glyphosate na SRG. Mesmo se todos os resíduos fossem detectados como glyphosate, o valor máximo em grãos seria de 1,95 mg kg^{-1}, aproximadamente cinco vezes menor do que o Limite Máximo de Resíduos (LMR) permitido pela legislação brasileira de 10 mg kg^{-1}.

REFERÊNCIAS

AMARANTE JÚNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L. Glyphosate: Properties, toxicity, use and legislation. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002.

ARREGUI, M. C.; LENARDON, A.; SANCHEZ, D.; MAITRE, M. I.; SCOTTA, R.; ENRIQUE, S. Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate-resistant soybean. **Pest Management Science**, Chichester, v. 60, n. 2, p. 163-166, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins. **AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Brasília, 2003. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 04 nov. 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Monografias de Produtos Agrotóxicos**. G01 - Glifosato. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/g01.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2006.

CASELEY, J. C.; COUPLAND, D. Environmental and plant factors affecting glyphosate uptake, movement and activity. In: GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. (Ed.). **The herbicide glyphosate**. London, UK: Butterworths, 1985. p. 92-124.

DELANNAY, X.; BAUMAN, T. T.; BEIGHLEY, D. H.; BUETTNER, M. J.; COBLE, H. D.; DEFELICE, M. S.; DERTING, C. W.; DIEDRICK, T. J.; GRIFFIN, J. L.; HAGOOD, E. S.; HANCOCK, F. G.; HART, S. E.; LAVALLEE, B. J.; LOUX, M. M.; LUESCHEN, W. E.; MATSON, K. W.; MOOTS, C. K.; MURDOCK, E.; NICKELL, A. D.; OWEN, M. D. K.; PASCHALL, E. H.; PROCHASKA, L. M.; RAYMOND, P. J.; REYNOLDS, D. B.; RHODES, W. K.; ROETH, F. W.; SPRANKLE, P. L.; TAROCHIONE, L. J.; TINIUS, C. N.; WALKER, R. H.; WAX, L. M.; WEIGELT, H. D.; PADGETTE, S. R. Yield evaluation of a glyphosate-tolerant soybean line after treatment with glyphosate. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 5, p. 1461-1467, 1995.

DUKE, S. O.; RIMANDO, A. M.; PACE, P. F.; REDDY, K. N.; SMEDA, R. J. Isoflavone, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid levels in seeds of glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 1, p. 340-344, 2003.

FARM, D. R. Toxicologia do glyphosate e análise de risco. In: VELINI, E. D.; MESCHEDE, D. K.; CARBONARI, C. A.; TRINDADE, M. L. B. **Glyphosate.** Botucatu: FEPAF, 2009. cap. 6, p. 135-144.

FENG, P. C. C.; CHIU, T. Distribution of [^{14}C] glyphosate in mature glyphosate-resistant cotton from application to a single leaf or over-the-top spray. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 82, n. 1, p. 36-45, 2005.

_____; SAMMONS, R. D.; RYERSE, J. S. Droplet size affects glyphosate retention, absorption, and translocation in corn. **Weed Science**, Lawrence, v. 51, n. 3, p. 443-448, 2003.

_____; PRATLEY, J. E.; BOHN, J. A. Resistance to glyphosate in Lolium rigidum. II. Uptake, translocation, and metabolism. **Weed Science**, Lawrence, v. 47, n. 4, p. 412-415, 1999.

GREEN, J. M.; BEESTMAN, G. B. Recently patented and commercialized formulation and adjuvant technology. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 26, n. 3, p. 320-327, 2007.

JAMES, C. **Executive summary of global status of commercialized biotech/GM crops:** 2009**.** Ithaca: ISAAA, 2009. Disponível em: <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/41/default.asp>. Acesso em: 16 dez. 2010.

KOMOBA, D.; GENNITY, I.; SANDERMANN, H. Plant-metabolism of herbicides with C-P bonds - Glyphosate. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 43, n. 2, p. 85-94, 1992.

LEAPER, C.; HOLLOWAY, P. J. Adjuvants and glyphosate activity. **Pest Management Science**, Chichester, v. 56, n. 4, p. 313-319, 2000.

MCALLISTER, R. S.; HADERLIE, L. C. Translocation of ^{14}C-glyphosate and (CO_2)- ^{14}C -labeled photoassimilates in canada thistle (*Cirsium arvense*). **Weed Science**, Lawrence, v. 33, n. 2, p. 153-159, 1985.

MCWHORTER, C. G.; JORDAN, T. N.; WILLS, G. D. Translocation of glyphosate-^{14}C in soybeans (*Glycine max*) and johnsongrass (*Sorghum halepense*). **Weed Science**, Lawrence, v. 28, n. 1, p. 113-118, 1980.

NALEWAJA, J. D.; DEVILLIERS, B.; MATYSIAK, R. Surfactant and salt affect glyphosate retention and absorption. **Weed Research**, Oxford, v. 36, n. 3, p. 241-247, 1996.

NORSWORTHY, J. K. Soil-applied herbicide use in wide- and narrow-row glyphosate-resistant soybean (Glycine max). **Crop Protection**, Amsterdam, v. 23, n. 12, p. 1237-1244, 2004.

PLINE, W. A.; PRICE, A. J.; WILCUT, J. W.; EDMISTEN, K. L.; WELLS, R. Absorption and translocation of glyphosate in glyphosate-resistant cotton as influenced by application method and growth stage. **Weed Science**, Lawrence, v. 49, n. 4, p. 460-467, 2001.

REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O.; NANDULA, V. K. Aminomethylphosphonic acid accumulation in plant species treated with glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, n. 6, p. 2125-2130, 2008.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. (Ed.). **Guia de herbicidas.** Londrina: Edição dos autores, 2005. 591 p.

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**, Lawrence, v. 30, n. 3, p. 316-320, 1982.

SANDBERG, C. L.; MEGGITT, W. F.; PENNER, D. Absorption, translocation and metabolism of glyphosate-^{14}C in several weed species. **Weed Research**, Oxford, v. 20, n. 4, p. 195-200, 1980.

SANTOS, J. B.; FERREIRA, E. A.; OLIVEIRA, J. A.; SILVA, A. A.; FIALHO, C. M. T. Effect of formulations on the absorption and translocation of glyphosate in transgenic soybean. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 2, p. 381-388, 2007a.

_____; REIS, M. R.; SILVA, A. A.; FIALHO, C. M. T.; FREITAS, M. A. M. Effects of glyphosate formulations on transgenic soybean. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 1, p. 165-171, 2007b.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide, release 6.03**. Cary, NC: SAS Institute, 1988. 1028 p.

SCHONHERR, J. A mechanistic analysis of penetration of glyphosate salts across astomatous cuticular membranes. **Pest Management Science**, Chichester, v. 58, n. 4, p. 343-351, 2002.

SCHUSTER, I.; VIEIRA, E. S. N.; SANTANA, H.; SINHORATI, D.; DA SILVA, R. B.; DE OLIVEIRA, M. A. R. Soybean gene flow in the Western Region of Parana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 4, p. 515-520, 2007.

SPRANKLE, P.; MEGGITT, W. F.; PENNER, D. Absorption, action, and translocation of glyphosate. **Weed Science**, Lawrence, v. 23, n. 3, p. 235-240, 1975.

WESTWOOD, J. H.; YERKES, C. N.; DEGENNARO, F. P.; WELLER, S. C. Absorption and translocation of glyphosate in tolerant and susceptible biotypes of field bindweed (*Convolvulus arvensis*). **Weed Science**, Lawrence, v. 45, n. 5, p. 658-663, 1997.

4 RESÍDUOS DE GLYPHOSATE E AMPA, PRODUTIVIDADE, TEOR DE ÓLEO, CONTEÚDO DE PROTEÍNA BRUTA E AMINOÁCIDOS NA SOJA RESISTENTE AO GLYPHOSATE

Resumo

Este trabalho foi desenvolvido com objetivo de avaliar, sob condições de campo, o efeito da aplicação de quatro formulações de glyphosate na cultura da soja, geneticamente modificada resistente ao glyphosate (SRG), na produtividade, teor de óleo, conteúdo de proteína bruta, aminoácidos e o nível de resíduos de glyphosate e seu principal metabólito, o ácido aminometilfosfônico (AMPA). Dois experimentos foram desenvolvidos em campo, o primeiro experimento (E1) foi instalado em 13 de dezembro de 2006 e colhido em 19 de abril de 2007. Já o segundo experimento (E2) foi instalado em 31 de outubro de 2007 e colhido em 27 de março de 2008. O cultivar de soja utilizado foi o MSOY 8000 RR (resistente ao glyphosate). O delineamento experimental adotado foi de parcelas subdivididas em blocos ao acaso, com quatro repetições para ambos os experimentos. Cada uma das subparcelas foi dimensionada com 6,0 m de comprimento e 3,0 m de largura, instaladas em solo classificado como Latossolo Vermelho Escuro. Todos os tratamentos foram ajustados as maiores doses para a formulação Roundup Ready (Monsanto do Brasil Ltda.). As subparcelas foram os tratamentos aplicados para ambos os experimentos: Rodeo, Roundup Original, Roundup Ready, Roundup WG e Controle nas seguintes parcelas (programas): Única - U20 (aplicação única aos 20 dias após a emergencia – DAE na dose de 1,2 kg e.a. glyphosate ha^{-1}), Única - U30 (aplicação única aos 30 DAE na dose de 1,2 kg e.a. glyphosate ha^{-1}), Seqüencial - S20 (aplicação de 0,96 kg e.a. glyphosate ha^{-1} aos 20 DAE e aplicação seqüencial de 0,72 kg e.a. glyphosate ha^{-1} aos 35 DAE) e Seqüencial - S30 (aplicação de 0,96 kg e.a. glyphosate ha^{-1} aos 30 DAE e aplicação seqüencial de 0,72 kg e.a. glyphosate ha^{-1} aos 45 DAE). Durante o desenvolvimento dos experimentos em campo, as variáveis analisadas foram: produtividade, teor de óleo, proteína bruta, aminoácidos, resíduos de glyphosate e AMPA. Para a análise de resíduos foi utilizada metodologia adaptada de Cowell et al. (1986). Não houve diferença significativa entre os tratamentos quanto à produtividade, massa de 100 grãos, teor de óleo, conteúdo de proteína bruta e aminoácidos. Houve metabolismo de glyphosate em AMPA e translocação de ambos para os grãos da soja resistente ao glyphosate (SRG), exceto para os tratamentos Roundup Original e Roundup Ready, nos programas U20 e S20 do experimento E2. As maiores concentrações de resíduos de glyphosate nos tratamentos Roundup Original e Roundup Ready, nos programas U20 e S20 do experimento E2, são devido à presença de adjuvantes destas formulações e à baixa produtividade de grãos. A maior concentração de resíduos de glyphosate encontrado (0,28 mg kg^{-1}) foi menor do que o limite máximo de resíduos estabelecido pela legislação brasileira, 10 mg kg^{-1}.

Palavras-chave: Segurança alimentar. Soja transgênica. Roundup. Surfactantes. Limite Máximo de Resíduo.

Abstract

Glyphosate and AMPA residues, yield, oil, crude protein content and amino acids in glyphosate-resistant soybean

The aim of this work was to evaluate residues of glyphosate and its main metabolite, aminomethylphosponic acid (AMPA) in glyphosate-resistant soybean (GRS) grains after four glyphosate formulations application under field conditions. Yield, 100 grains mass, amino acids levels, oil and crude protein were included in analysis. The first experiment (E1) was stablished on December 13, 2006 and harvested on April 19, 2007. The second (E2) was planted on October 31, 2007 and finished on March 27, 2008. Both used the MSOY 8000 RR GRS. Control, Rodeo, Roundup Original, Roundup WG and Roundup Ready were the treatments in a split-plot design, where the herbicide programmes were the plots and the treatments were the subplots with four replicates each. Subplots had 6.0 m of lenght and 3.0 m of width. The herbicides programs were: U20 (unique application of 1.2 kg ha^{-1} a.e. glyphosate at 20 DAE), U30 (unique application of 1.2 kg ha^{-1} a.e. glyphosate ha^{-1} at 30 DAE), S20 (apllication of 0.96 kg ha^{-1} a.e. glyphosate at 20 dae followed by a sequential application of 0.72 kg ha^{-1} a.e. glyphosate at 35 DAE) and S30 (apllication of 0.96 kg ha^{-1} a.e. glyphosate at 30 dae followed by a sequential application of 0.72 kg ha^{-1} a.e. glyphosate at 45 DAE). Residues analyses were performed according to the adopted method of Cowell et al. (1986). Field experiments have not shown statistical difference for yield, 100 grains mass, amino acids levels, crude protein and oil content. There was glyphosate metabolism in AMPA and translocation of both to GRS grains. The exceptions were Roundup Original and Roundup Ready treatments U20 and S20 programmes in E2, most likely due the adjuvants of these formulations and the E2 yield lower than the Brazilian average. The highest residue concentration found, 0.28 mg kg^{-1}, is smaller than the Brazilian maximum residue level (MRL), 10 mg kg^{-1}.

Keywords: Food safety. Transgenic soybean. Roundup. Surfactants. Maximum Residue Limit.

4.1 Introdução

A soja (*Glycine max* (L.) Merril) é a mais importante leguminosa cultivada no mundo, graças aos seus teores de proteínas e óleo comestível. Após seu esmagamento, os produtos de interesse são farelo e o óleo. As frações de proteína e óleo de soja compreendem aproximadamente 60% do total do peso seco da semente. Os grãos maduros contêm cerca de 40% de proteína, 22% de óleo, 10% de açúcares totais, 7% de fibra e cerca de 6% de cinzas e 31% de carboidratos em base seca. A composição química da soja pode variar com as condições climáticas, tipo de solo, localização geográfica, variedades e práticas agronômicas, entre outros fatores. (VIEIRA; CABRAL; DE PAULA, 1999; FARIAS NETO; VELLO, 2001; KARR-LILIENTHAL et al., 2004).

Assim como a composição química, a produtividade também pode variar. Dentre as causas do baixo rendimento da cultura da soja, pode-se destacar a presença de plantas daninhas, as quais contribuem com reduções significativas de produção e representam um dos problemas economicamente mais importantes para os produtores de soja (RIZZARDI et al., 2003), sendo que a principal forma de controle de plantas daninhas na cultura da soja é o controle químico, com aplicação de herbicidas.

Através da tecnologia do DNA recombinante foi possível produzir a soja resistente ao glyphosate (SRG), que completa seu ciclo normalmente após a aplicação de produtos que contenham esta molécula. Como a translocação desta ocorre preferencialmente pelo floema, há a possibilidade de acúmulo de resíduos nos grãos da SRG e conseqüentemente na cadeia alimentar humana, já que os grãos são matéria-prima para produção de óleo, carne e leite de soja, entre outros produtos industrializados consumidos pela população. A ingestão de resíduos desta molécula por humanos também pode ocorrer pelo consumo de carne proveniente de animais alimentados com ração de farelo de soja ou ainda de soja *in natura*. O nível de resíduos de glyphosate nos grãos pode ser relacionado com o estádio de desenvolvimento das plantas e com a quantidade absorvida do princípio ativo (BRASIL, 2003; ARREGUI et al., 2004; BRASIL, 2005a; 2005b).

A eficiência herbicida do glyphosate depende do estádio de desenvolvimento da planta e da quantidade absorvida, que por sua vez está relacionada com variações nas concentrações do ingrediente ativo e dos surfactantes presentes nas

formulações comerciais. As duas classes de surfactantes mais encontradas nas formulações de glyphosate são: as taloaminas polietoxiladas e os alquilpoliglicosídeos, sendo a primeira a mais utilizada. Em abril de 2005, trinta e uma formulações contendo apenas glyphosate como princípio ativo estavam registradas junto ao governo brasileiro. A grande maioria está dentro da classe toxicológica IV, considerada pouco tóxica, porém a única registrada para o uso na SRG, a Roundup Ready (Monsanto do Brasil Ltda.), é de classe toxicológica II, potencialmente mais tóxica a seres humanos.

Em 2009, 21,4 milhões de ha de SRG foram plantados, portanto a formulação Roundup Ready seria a única legalmente aprovada para o uso na área citada, representando um maior risco de segurança ocupacional e à segurança alimentar (NALEWAJA; DEVILLIERS; MATYSIAK, 1996; LEAPER; HOLLOWAY, 2000; BRASIL, 2005b; 2006; JAMES, 2009). Outro agravante é que em 2003, o limite máximo de resíduos (LMR) para o glyphosate em grãos de soja foi alterado de 0,2 para 10 mg kg^{-1}, com base em estudos com soja não transgênica. Este fato gerou mais uma discussão científica ao redor da soja resistente ao glyphosate, liberada comercialmente no Brasil em 2005 (BRASIL, 2005c).

Nos Estados Unidos, onde a SRG foi liberada comercialmente aproximadamente uma década antes do Brasil, várias pesquisas já foram realizadas e os resultados variam entre a ausência de impacto e a redução de produtividade na SRG em função da aplicação de glyphosate (ELMORE et al., 2001; NELSON; RENNER, 2001; KING; PURCELL; VORIES, 2001) e segundo Zobiole; Oliveira e Visentainer (2010), o glyphosate pode alterar o teor de óleo, conteúdo de proteína bruta e aminoácidos da SRG.

Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar, sob condições de campo, o efeito da aplicação de quatro formulações de glyphosate na cultura da soja geneticamente modificada resistente ao glyphosate, na produtividade, teor de óleo, conteúdo de proteína bruta, aminoácidos e o nível de resíduos de glyphosate e seu principal metabólito, o ácido aminometilfosfônico (AMPA).

4.2 Material e Métodos

Dois experimentos foram desenvolvidos em área pertencente à Fazenda Experimental Areão (22° 41,716' latitude sul, 47° 38,478' longitude oeste e 560 m de altitude) anexo à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (Universidade de São Paulo), Piracicaba- SP – Brasil, no período compreendido entre dezembro de 2006 a março de 2008. O clima da região é classificado como subtropical úmido com estiagem no inverno, a precipitação pluviométrica média anual é de 1.247 mm, temperatura de 21,1 °C, umidade relativa média de 74%.

O primeiro experimento (E1) foi instalado em 13 de dezembro de 2006 e colhido em 19 de abril de 2007. Já o segundo experimento (E2) foi instalado em 31 de outubro de 2008 e colhido em 27 de março de 2008. Os experimentos E1 e E2 foram instalados em área com solo classificado como Latossolo Vermelo Escuro (LE3) de textura argilosa (55% de argila, 18% de silte e 27% de areia), cuja análise química está detalhadamente descrita na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Propriedades químicas* do solo utilizado nos experimentos E1 e E2. Piracicaba, 2007/2008

	Propriedades Químicas										
Solo	**pH**		**Materia orgânica**	**P resina**	**K**	**Ca**	**Mg**	**Al**	**CTC**	**V**	**M**
			g dm^{-3}	mg dm^{-3}		mmol$_c$/dm^{-3}				%	
E1[(1)]	5,2		26	31	5,0	49	17	0	100	71	0
E2[(2)]	5,3		24	23	2,2	40	13	0	88,2	63	0
	S	**B**	**Cu**	**Fe**	Mn	Zn					
					mg dm^{-3}						
E1[(1)]	13	0,53	0,6	24	14	1,8					
E2[(2)]	9	0,21	0,6	18	7,0	1,0					

[(1)] Experimento 1. [(2)] Experimento 2. * Análise realizada pelo Departamento de Solos e Nutrição de Plantas da ESALQ/USP

O cultivar de soja utilizado para ambos os experimentos foi o MSOY 8000 RR (resistente ao glyphosate - Monsoy Ltda). Logo aos 10 dias após a emergência (DAE), a densidade de plantas foi ajustada através de desbaste manual, sendo que a população final apresentou aproximadamente 370.000 plantas ha^{-1} para ambos os experimentos (E1 e E2).

A adubação e a calagem foram realizadas de acordo com os resultados da análise química do solo, baseado na recomendação de adubação da EMBRAPA (2005). As sementes foram tratadas com o inseticida fipronil (Standak®) e com os fungicidas carbendazin + thiram (Derosal Plus®), ambos com dose de 200 ml de produto comercial por 100 kg de sementes. Após a secagem das sementes à sombra, foi realizada a aplicação de inoculante turfoso comercial (*Bradyrhizobium japonicum* – SEMIA 5079 + SEMIA 5019) na dose de 400 g por 100 kg de sementes. O resumo de todos os tratos culturais é apresentado nos apêndices A (E1) e B (E2).

O delineamento experimental utilizado foi de parcelas subdivididas em blocos ao acaso, adaptado de Norsworthy (2004). As parcelas foram chamadas de programa herbicida, combinação da dose com a época de aplicação, e as diferentes formulações (tratamentos) foram as subparcelas. Cada parcela constou de uma das quatro repetições de cada subparcela, também inteiramente casualizadas. Em cada parcela, uma subparcela controle não recebeu aplicação. Cada uma das subparcelas foi dimensionada com 6,0 m de comprimento e 3,0 m de largura. Os tratamentos foram aplicados numa faixa de 4,0 m de comprimento por 2,15 m de largura, respeitando uma bordadura interna de 1,0 m no comprimento (Figura 4.1).

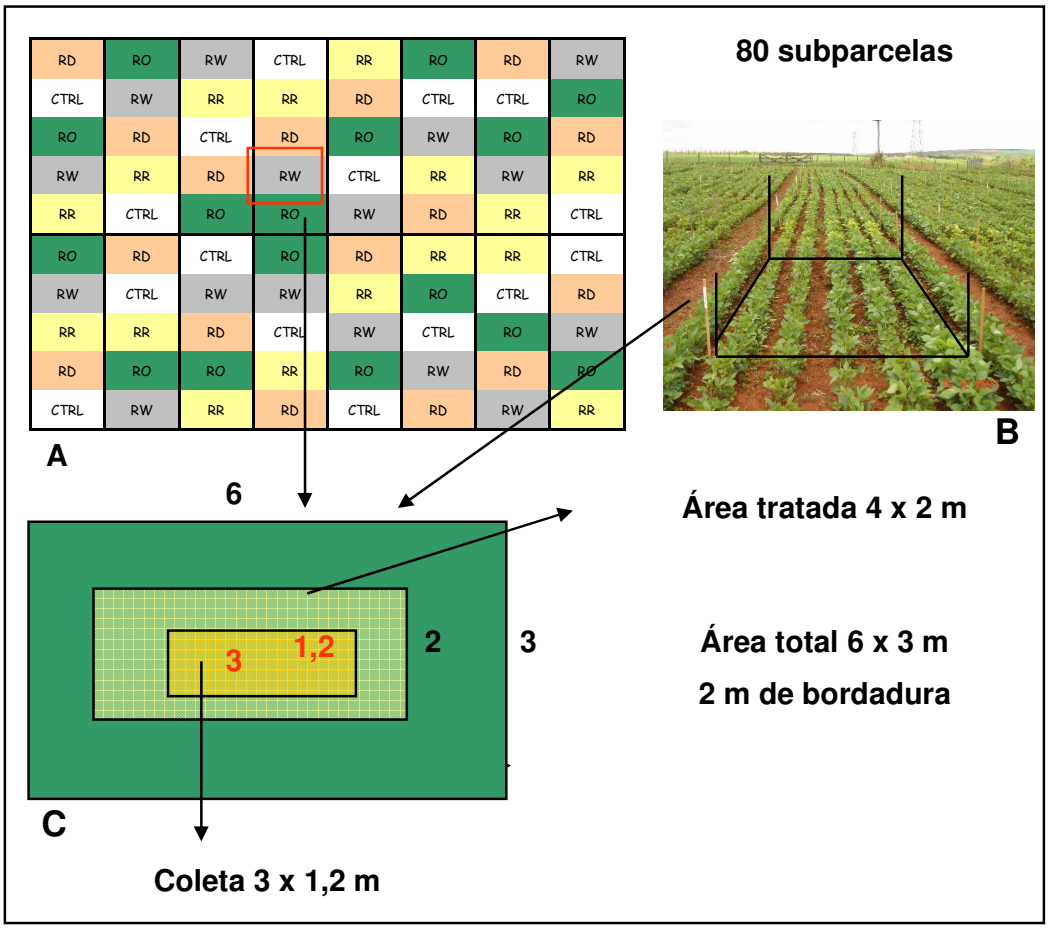

Figura 4.1 - Croqui do experimento (A); quatro blocos com quatro parcelas em cada bloco. Cada bloco possui 5 subparcelas. Cada subparcela corresponde a um tratamento diferente no total de 80 subparcelas (B); Subparcela no campo e Croqui da subparcela (C). Piracicaba, 2007/2008

Todos os tratamentos foram ajustados para as maiores doses para a formulação Roundup Ready (Monsanto do Brasil Ltda.) recomendadas para aplicação única ou seqüencial na bula aprovada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003). Os tratamentos aplicados para ambos os experimentos foram: Rodeo, Roundup Original, Roundup Ready, Roundup WG e Controle para os seguintes programas: Única - U20 (aplicação única aos 20 dias após a emergencia – DAE na dose de 1,2 kg e.a glyphosate ha^{-1}), Única - U30 (aplicação única aos 30 DAE na dose de 1,2 kg e.a glyphosate ha^{-1}), Seqüencial - S20 (aplicação de 0,96 kg e.a glyphosate ha^{-1} aos 20 DAE e aplicação seqüencial de 0,72 kg e.a glyphosate ha^{-1} aos 35 DAE) e Seqüencial - S30 (aplicação de 0,96 kg

e.a glyphosate ha^{-1} aos 30 DAE e aplicação seqüencial de 0,72 kg e.a glyphosate ha^{-1} aos 45 DAE).

As épocas de aplicação foram às datas iniciais e finais dos intervalos previstos na bula citada. Os programas herbicidas com as doses e épocas de aplicação recomendadas para a formulação Roundup Ready, as características das formulações que foram utilizadas, e as doses e suas respectivas concentrações em equivalente ácido de glyphosate são apresentadas nas Tabelas 4.2, 4.3 e 4.4, respectivamente.

Tabela 4.2 - Doses máximas e épocas de aplicação da formulação Roundup Ready. Piracicaba, 2007/2008

Programa	**Dose Máxima (L ha^{-1})**		**Época (dae)***	
	1ª aplic.	**2ª aplic.**	**1ª aplic.**	**2ª aplic.**
Única (U20)	2,5	---	20	---
Única (U30)	2,5	---	30	---
Seqüencial (S20)	2,0	1,5	20	35
Seqüencial (S30)	2,0	1,5	30	45

* dae – dias após emergência da cultura.

Tabela 4.3 - Formulações utilizadas nos experimentos E1 e E2 e suas características. Piracicaba, 2007/2008

Formulação	**Tipo ***	**Ingrediente ativo (i.a.)**	**i.a.**		**Eq. ácido**		**Inertes**	
			Conc.	**%**	**Conc.**	**%**	**Conc.**	**%**
Rodeo	**CS**	Sal de isopropilamina de glyphosate (não contém surfactante)	648 $g.L^{-1}$	64,8 m/v	480 $g.L^{-1}$	48,0 m/v	558 $g\ L^{-1}$	55,80 m/v
Roundup Original	**CS**	Sal de isopropilamina de glyphosate (contém surfactante)	480 $g\ L^{-1}$	48,0 m/v	360 $g\ L^{-1}$	36,0 m/v	684 $g.L^{-1}$	68,4 m/v
Roundup WG	**GRDA**	Sal de amônio de glyphosate (contém surfactante)	792,5 $g\ kg^{-1}$	79,2 m/m	720 $g\ kg^{-1}$	72,0 m/m	207,5 $g\ kg^{-1}$	20,75 m/m
Roundup Ready	**CS**	Sal de isopropilamina de glyphosate (contém surfactante)	648 $g.L^{-1}$	64,8 m/v	480 $g.L^{-1}$	48,0 m/v	594 $g\ L^{-1}$	59,4 m/v

* CS – concentrado solúvel; GRDA – grânulos dispersíveis em água; i.a. – ingrediente ativo; Eq. – equivalente.

Tabela 4.4 - Doses e concentrações do ingrediente ativo glyphosate dos tratamentos. Piracicaba, 2007/2008

Formulação	Aplicação Única				Aplicação Sequencial			
	Dose (p.c.) *		kg ha^{-1} eq. ácido		Dose (p.c.) *		kg ha^{-1} eq. ácido	
	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª
Rodeo	2,50 L ha^{-1}	---	1,2	---	2,00 L ha^{-}	1,50 L ha^{-1}	0,96	0,72
Roundup Original	3,33 L ha^{-1}	---	1,2	---	2,67 L ha^{-}	2,00 L ha^{-1}	0,96	0,72
Roundup WG	1,67 kg ha^{-}	---	1,2	---	1,33 kg	1,00 kg ha^{-}	0,96	0,72
Roundup Ready	2,50 L ha^{-1}	---	1,2	---	2,00 L ha^{-}	1,50 L ha^{-1}	0,96	0,72

* p.c.– produto comercial; Eq. – equivalente.

Os tratamentos herbicidas foram aplicados em todas as parcelas, com exceção daquelas do tratamento controle, com o auxílio de um pulverizador costal pressurizado com CO_2 equipado com pontas de pulverização tipo leque TT 11001 (Spraying Systems Co., Wheaton, IL) e calibrado para dispensar 100 L ha^{-1} a 1,0 bar a uma velocidade de 3,6 km h^{-1} (Figura 4.2).

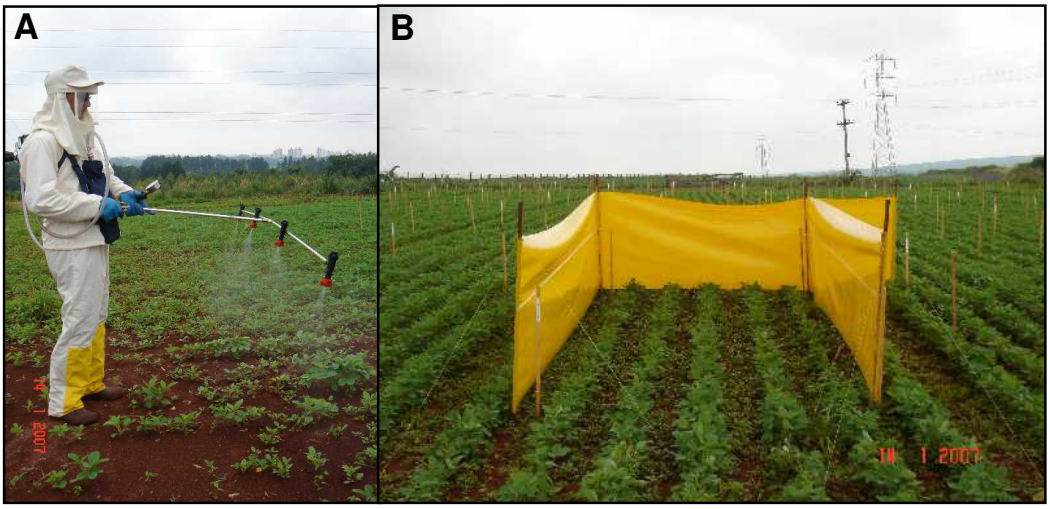

Figura 4.2 - Aplicação dos tratamentos herbicidas nas parcelas através do equipamento pulverizador costal pressurizado por CO_2, operado a 1,0 bar, utilizando-se quatro pontas de pulverização com jato do tipo plano, modelo TT 110.01, promovendo largura efetiva de 2,0 m e volume de aplicação proporcional a 100 L ha^{-1}(A) e proteção anti-deriva (B). Piracicaba, 2007/2008

Para E1 e E2, todos os tratamentos herbicidas foram aplicados com velocidade do vento abaixo de 10 m s^{-1}, conforme orientações da bula do produto Roundup Ready (BRASIL, 2003). Não houve ocorrência de precipitação puviométrica antes de 4 horas da aplicação de todos os tratamentos.

As condições de temperatura e umidade relativa no momento da aplicação para ambos os experimentos estão detalhadamente descritas na Tabela 4.5. Os dados de temperatura e precipitação registrados para o período de condução dos experimentos estão apresentados nas Figuras 4.3 e 4.4, para o experimento E1 e E2, respectivamente.

Tabela 4.5 - Condições ambientais no momento da aplicação (E1 e E2). Piracicaba, 2007/2008

Tratamento	**Temperatura Média (ºC)**								**Umidade Relativa (%)**							
	E1 (*)				E2 (**)				E1 (*)				E2 (**)			
	U20	U30	S20	S30	U20	U30	S20	S30	U20	U30	S20	S30	U20	U30	S20	S30
Rodeo	37	31	29	29	25	30	23	23	35	58	72	65	54	80	61	92
Roundup Orig.	27	30	32	29	25	26	22	22	57	60	64	63	51	80	72	80
Roundup WG	31	30	32	31	30	24	27	27	47	58	63	64	46	66	78	67
Round. Ready	25	31	33	34	32	27	27	27	60	53	63	59	35	61	73	66

(*) Experimento 1. (**) Experimento 2.

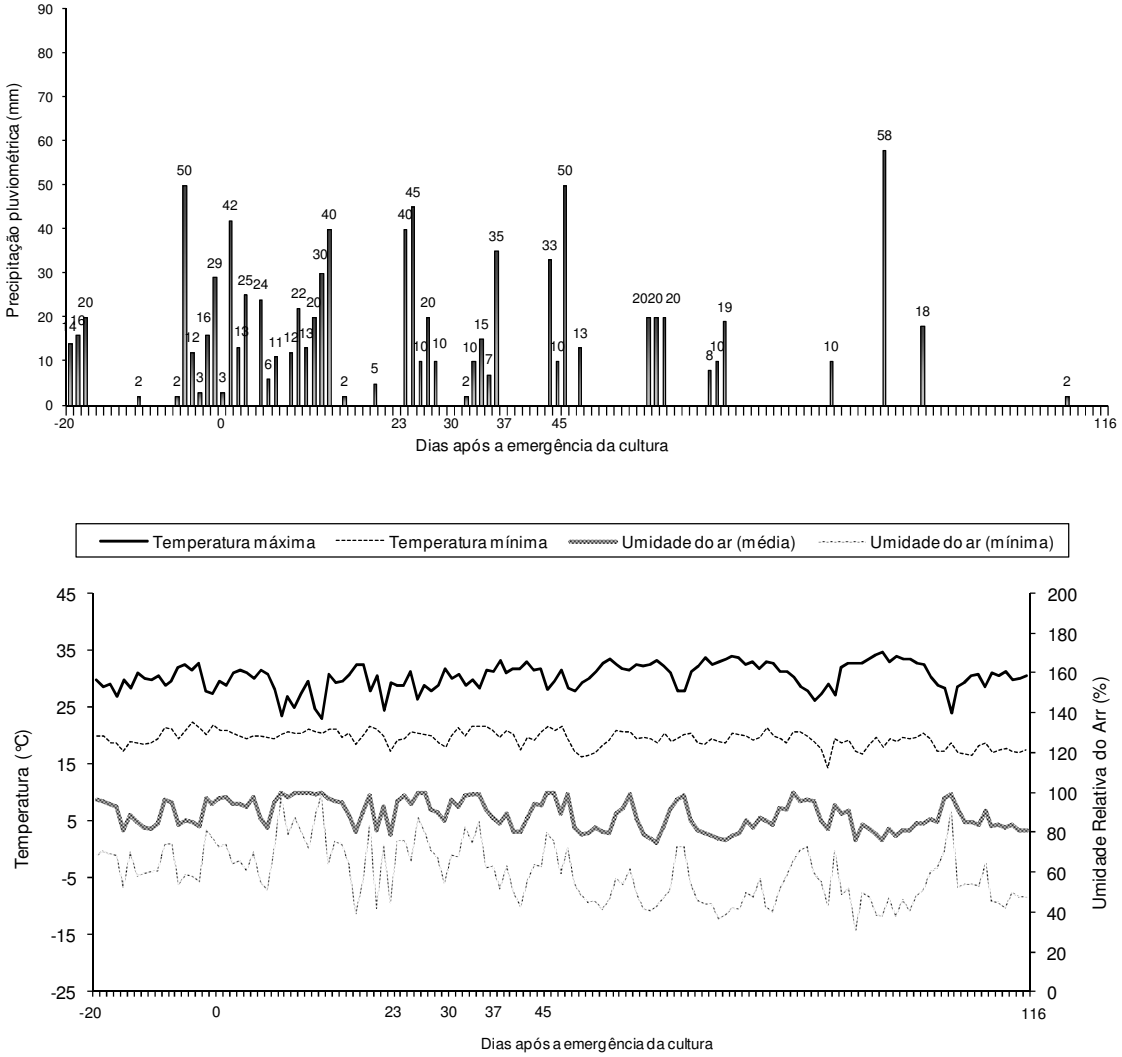

Figura 4.3 - Precipitações (mm) e Temperatura (ºC) registradas para local e período de condução para o experimento E1. * 0 indica a data da emergência de mais de 50% das sementes. Piracicaba, 2006/2007

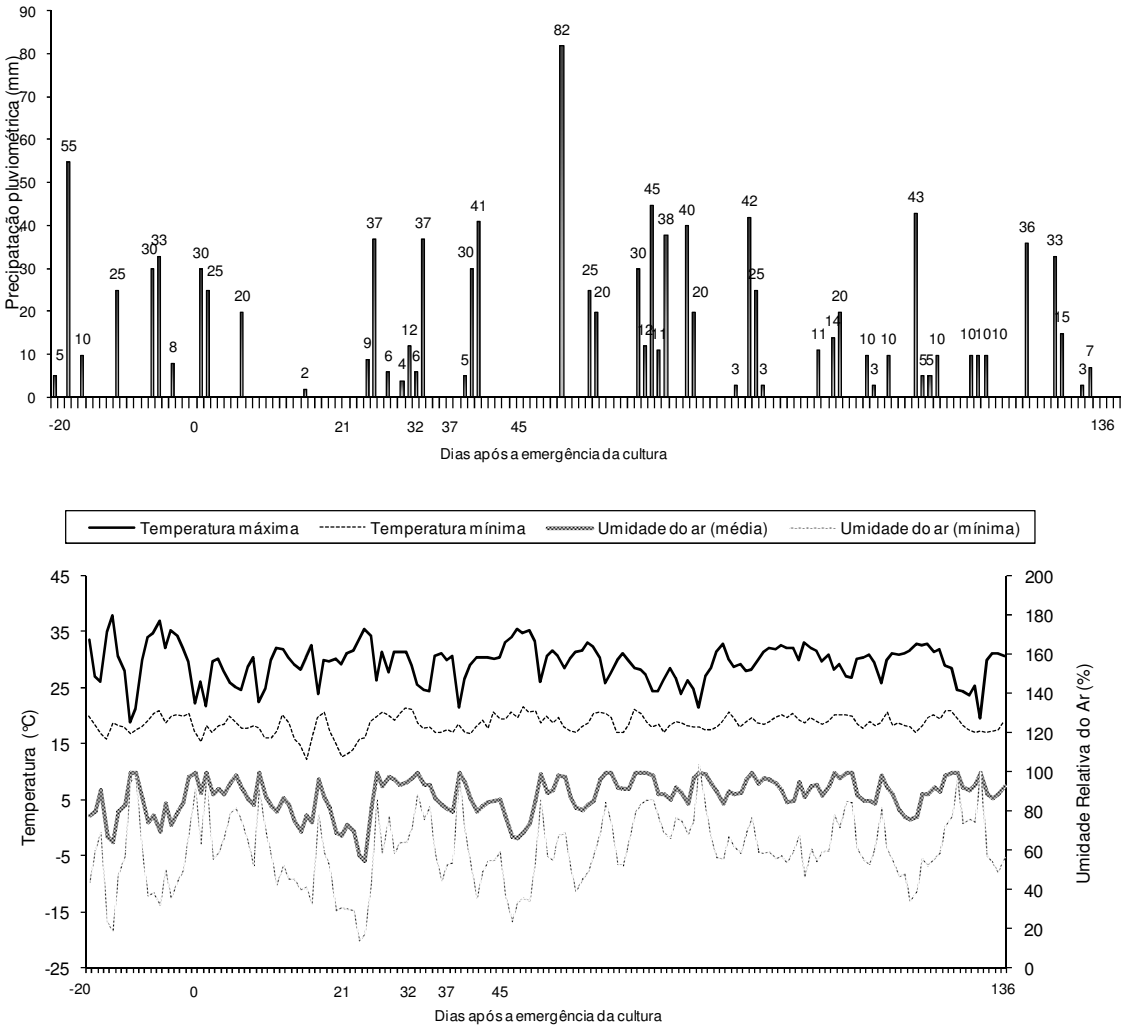

Figura 4.4 - Precipitações (mm) e Temperatura (ºC) registradas para local e período de condução para o experimento E2. * 0 indica a data da emergência de mais de 50% das sementes. Piracicaba, 2007/2008

As variáveis analisadas foram: produtividade, teor de óleo, proteína bruta, aminoácidos, resíduos de glyphosate e AMPA, detalhadamente descritos abaixo:

4.2.1 Produtividade

As parcelas foram colhidas com uma colhedora de parcelas do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP em uma área útil de 3 x 1 m (3 linhas). Posteriormente, os grãos foram limpos e acondicionados em sacos de papel kraft e

pesados em balança analítica no Laboratório de Ecotoxicologia do CENA/USP. Os valores obtidos foram transformados em kg ha^{-1} e corrigidos para 13% de umidade. A determinação do grau de umidade foi efetuada em estufa a 105 ± 3°C (BRASIL, 1992). Também foi avaliada a massa de 100 sementes, determinadas em balança com sensibilidade de centésimos de grama.

4.2.2 Teor de óleo dos grãos

Para a determinação do teor de óleo dos grãos, para cada subparcela, vinte e três grãos de soja foram analisados em triplicata, de forma não destrutiva, por infravermelho próximo (NIRS) no equipamento Feed and Food 1255 Infratec (Foss Tecator AB, Hönas, Sweden) no Departamento de Genética da ESALQ/USP (Figura 4.5).

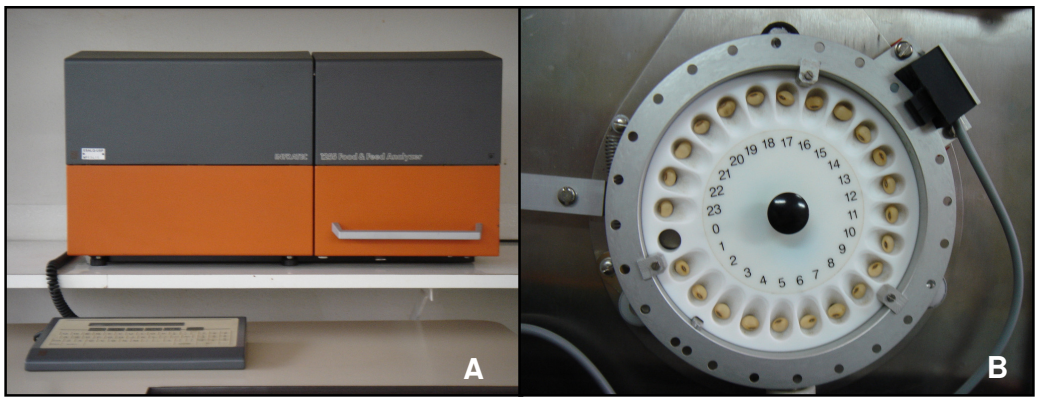

Figura 4.5- Equipamento Infratec (A). Leitura de 23 grãos (B). Piracicaba, 2008

4.2.3 Determinação do teor de proteína bruta

O teor de proteína bruta em amostras de 100 g de cada subparcela foi determinado pelo método de Dumas, em um auto analizador de nitrogênio marca LECO, modelo FP-528, no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP (WILES; GRAY; KISSLING, 1998).

4.2.4 Determinação de aminoácidos

Aminoácidos totais e digestíveis (arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina e cisteína) em amostras de 100 g de cada subparcela foram analisados pelo método de Espectroscopia de Refletância no Infravermelho Próximo (NIRS), realizado pelo Laboratório CEAN ADISSEO (Santa Maria, RS), segundo curvas-padrão propostas pelo Rhodimet TM NIRSA.

4.2.5 Análise de resíduos de glyphosate e AMPA nos grãos de soja

Com base no trabalho de Arregui et al. (2004), as amostras para determinação de resíduos de glyphosate foram formadas por 3 grupos de 5 plantas (Figura 4.6), coletadas aleatoriamente nos 3,0 m das 3 linhas centrais de cada subparcela, considerando 0,5 m de bordadura de cada lado da faixa aplicada.

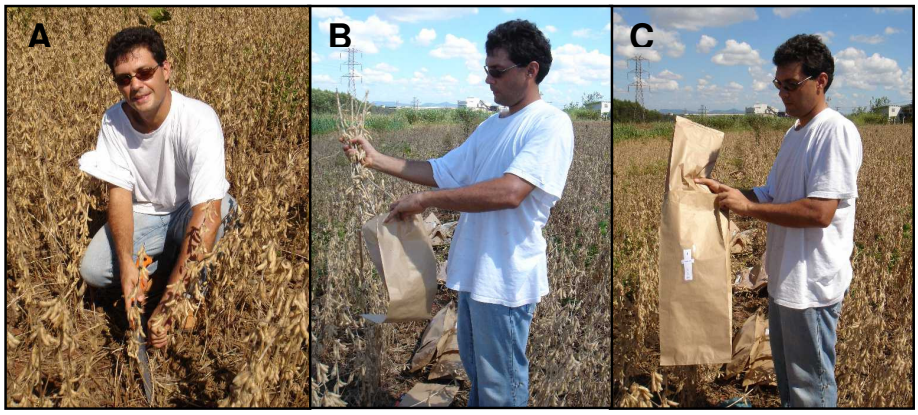

Figura 4.6 - Coleta das plantas de soja (A), três grupos de cinco plantas coletadas aleatoriamente (B) e acondicionamento e identificação (C). Piracicaba, 2007/2008

Para a análise de resíduos de glyphosate nos grãos de soja, os mesmos foram coletados com umidade abaixo de 14% após a cultura da soja atingir o estádio de maturação plena (R8). Após a homogeneização realizada em triturador de grãos Osterizer® modelo 4655 (Oster, México), as amostras foram armazenadas em freezer a -18° C (± 3°C) até a data de extração no Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP).

Após a chegada do equipamento necessário para as análises em junho de 2009, as extrações foram realizadas de acordo com a metodologia adaptada de Cowell et al. (1986). Para a extração, 30 g de cada repetição (amostra) foram pesadas e colocadas, separadamente, em erlenmeyer contendo 100 mL de hexano. O extrato foi agitado mecanicamente por 30 minutos e filtrado por sucção em um funil de Buchner, usando papel de filtro n° 4 (Whatman).

Após a filtragem, o extrato orgânico foi descartado. À amostra filtrada foram adicionados 100 mL de ácido clorídrico (HCl) 0,1 M antes da agitação mecânica por uma hora em mesa agitadora horizontal (Marconi) e posterior centrifugação a 3.000 rpm por 15 minutos e filtragem do sobrenadante com papel de filtro n° 4. O material resultante da amostra foi lavado com mais 50 mL de ácido clorídrico (HCl) 0,1 M e transferido para um tubo de centrífuga, no qual recebeu 50 mL de clorofórmio. Após agitação de 1 hora na mesa agitadora, as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm por 15 minutos. Em seguida, o clorofórmio foi descartado e o pH do sobrenadante foi acertado para 4,0, pela adição de solução de hidróxido de sódio 1 M.

Após o acerto do pH, o sobrenadante foi novamente centrifugado a 3.000 rpm por 10 minutos e posteriormente transferido para uma coluna de vidro medindo 300 mm de altura e 25 mm de diâmetro preenchida com 8 mL de água ultrapura e 4,5 cm de resina Chelex 100 (Bio-Rad) já complexada com cloreto férrico. Antes da transferência da amostra à coluna, todos os volumes eluídos tiveram a adequada destinação final de resíduos. Em seguida, a coluna recebeu uma alíquota de 20 mL de HCl 6 M. A velocidade de transferência para um Erlenmeyer de 100 mL foi de aproximadamente 6 mL min^{-1}. O eluato resultante foi homogeneizado na presença de 10 mL de HCl concentrado e aplicado a uma outra coluna (de vidro, 300 mm de altura e 11 mm de diâmetro) na seqüência, preenchida com 5 cm de resina AG1-X8 (Bio-Rad) e 8 mL de água ultrapura. Antes da aplicação do eluato resultante, a coluna foi eluída com três porções de 5 mL de HCl 6M. O frasco que conteve a amostra foi lavado com 5 mL de HCl 6M que foram transferidos para a coluna. Logo após, a coluna foi eluída com 20 mL de HCl 6M, em 4 eluições de 5 mL cada. O eluato foi coletado em balão volumétrico de 100 mL. Com o auxílio de um evaporador rotatório a vácuo regulado para operar na temperatura de 60°C, a amostra foi concentrada após a completa evaporação dos líquidos presentes. O extrato foi ressuspendido com 4 mL de água ultrapura e filtrado em membrana de celulose de 0,45 µm para um frasco do injetor automático do cromatógrafo líquido.

As condições cromatográficas foram: cromatógrafo líquido com injetor automático, bomba quaternária e detector de fluorescência; 330 nm de comprimento de onda de excitação e 464 nm de comprimento de emissão; coluna de aço inox de troca catiônica (cátion K^+) 150 mm x 4 mm, 5 µm.

Reagentes da fase móvel: K200 (A) e RG 019 (B). K200 é uma solução contendo menos de 0,2 % m/v de fosfato de potássio (KH_2PO_4) e menos de 0,2 % m/v de ácido fosfórico (H_3PO_4). RG 019 é uma solução contendo 0,3% m/v de hidróxido de potássio (KOH). Gradiente: equilíbrio com 100% do reagente A, tempo 0 (zero) com 100% do reagente A, período de 0 a 15 minutos com 100% do reagente A, período de 15 a 17 minutos com 100% do reagente B e período de 17 a 25 minutos com 100% do reagente A. Fluxo de 0,4 mL min^{-1}, volume de injeção ("loop") de 50 µL. Sistema de derivatização pós-coluna: reagente 1 - solução de hipoclorito de sódio (fluxo 0,3 mL min^{-1}); reagente 2 - solução de o-ftaldeído (fluxo 0,3 mL min^{-1}). Temperatura da coluna e do reator: 55 °C e 36 °C, respectivamente.

A linearidade do detector foi obtida através da curva de calibração, a partir dos injetados e as soluções de calibração (glyphosate e AMPA) em cromatógrafo líquido acoplado ao detector de fluorescência. O nível de resíduo das amostras foi calculado pela seguinte equação, (eq. 2);

$$\text{Resíduo } (mg.kg^{-1}) = \left[\frac{(C \times V)}{W}\right] \times f \quad \text{.....(2)}$$

Em que: C = concentração de ingrediente ativo na solução extraída de grãos de soja (µg mL^{-1}); V = volume da solução extraída (mL); W = peso da amostra extraída; f = fator de diluição.

As curvas de calibração para o glyphosate e para o AMPA são mostradas na Figura 4.7. Os cromatogramas com o tempo da recuperação dos padrões analíticos de glyphosate e AMPA para as concentrações 0,05 mg kg^{-1}, 0,1 mg kg^{-1} e 1,0 mg kg^{-1} são apresentados na Figura 4.8.

A recuperação do método foi de 94%, obtida através da aplicação de soluções padrão de glyphosate e AMPA em 30 g de amostras em branco. O limite de detecção do método foi 0,00921 mg kg^{-1};para o glyphosate e 0,00972 mg kg^{-1} para o

AMPA. O limite de quantificação para ambos foi de 0,05 mg kg^{-1}. Etapas da execução das análises são apresentadas nas Figuras 4.9 e 4.10.

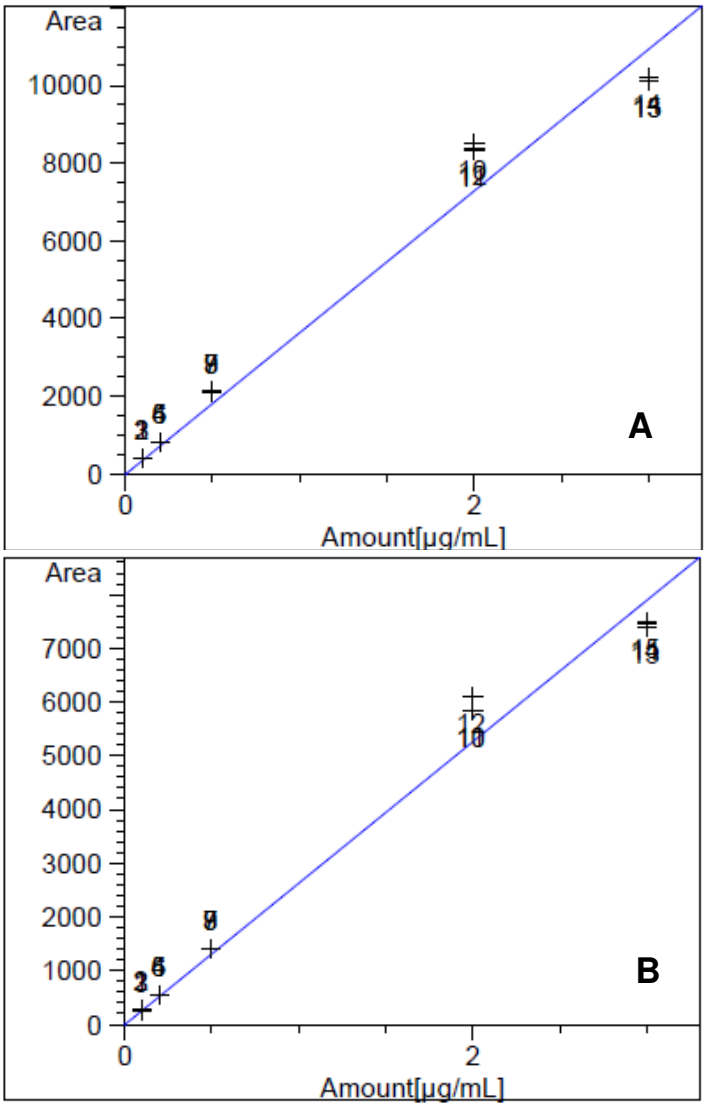

Figura 4.7 - Curva de calibração para o glyphosate (A) e Curva de calibração para o AMPA (B). Piracicaba, 2009/2010

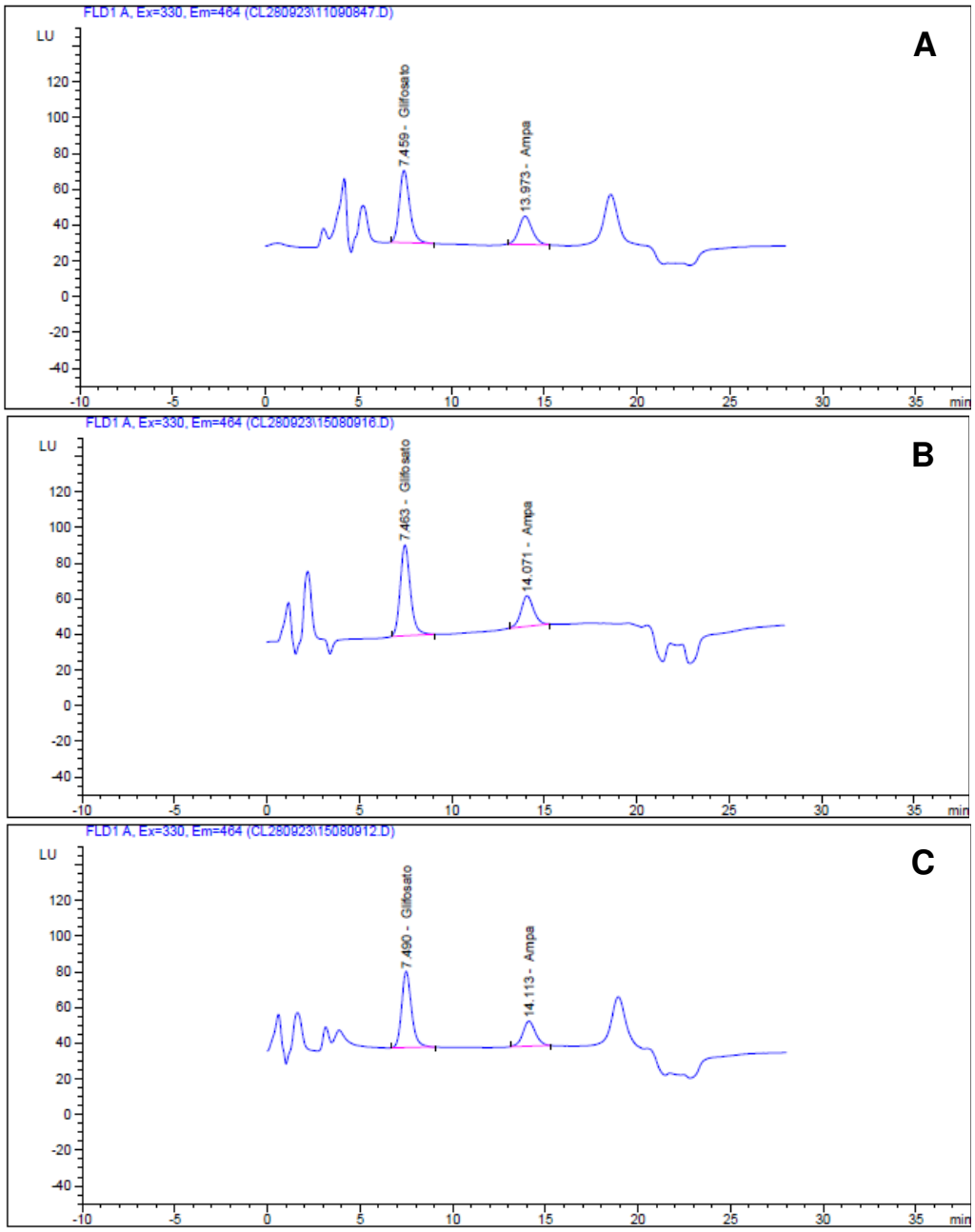

Figura 4.8 - Tempo de retenção (minutos) para as fortificações dos padrões analíticos de glyphosate e AMPA a 0,05 mg kg^{-1} (A), 0,1 mg kg^{-1} (B) e 1,0 mg kg^{-1} (C). Piracicaba, 2009/2010

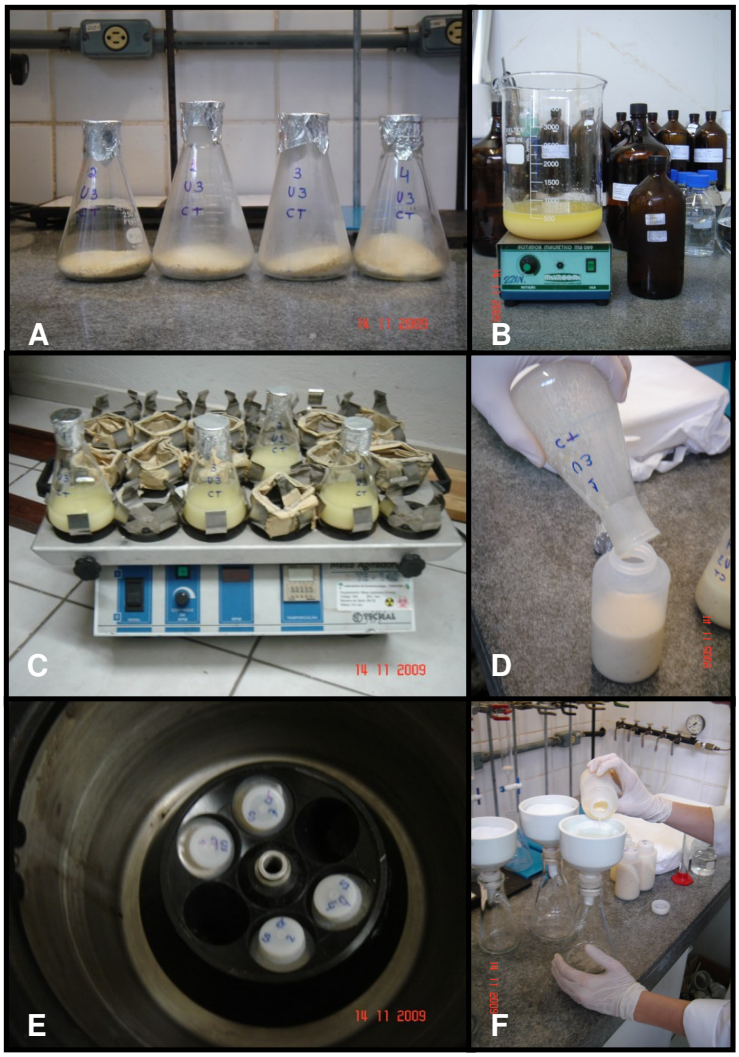

Figura 4.9 - 30 g de cada repetição em cada erlenmeyer (A), bequer com 30 g de cada repetição e 100 mL de hexano (B), agitação mecânica do extrato (C), transferência para tubo de centrífuga (D), centrifugação (E), filtragem do sobrenadante com papel de filtro (F). Piracicaba, 2009/2010

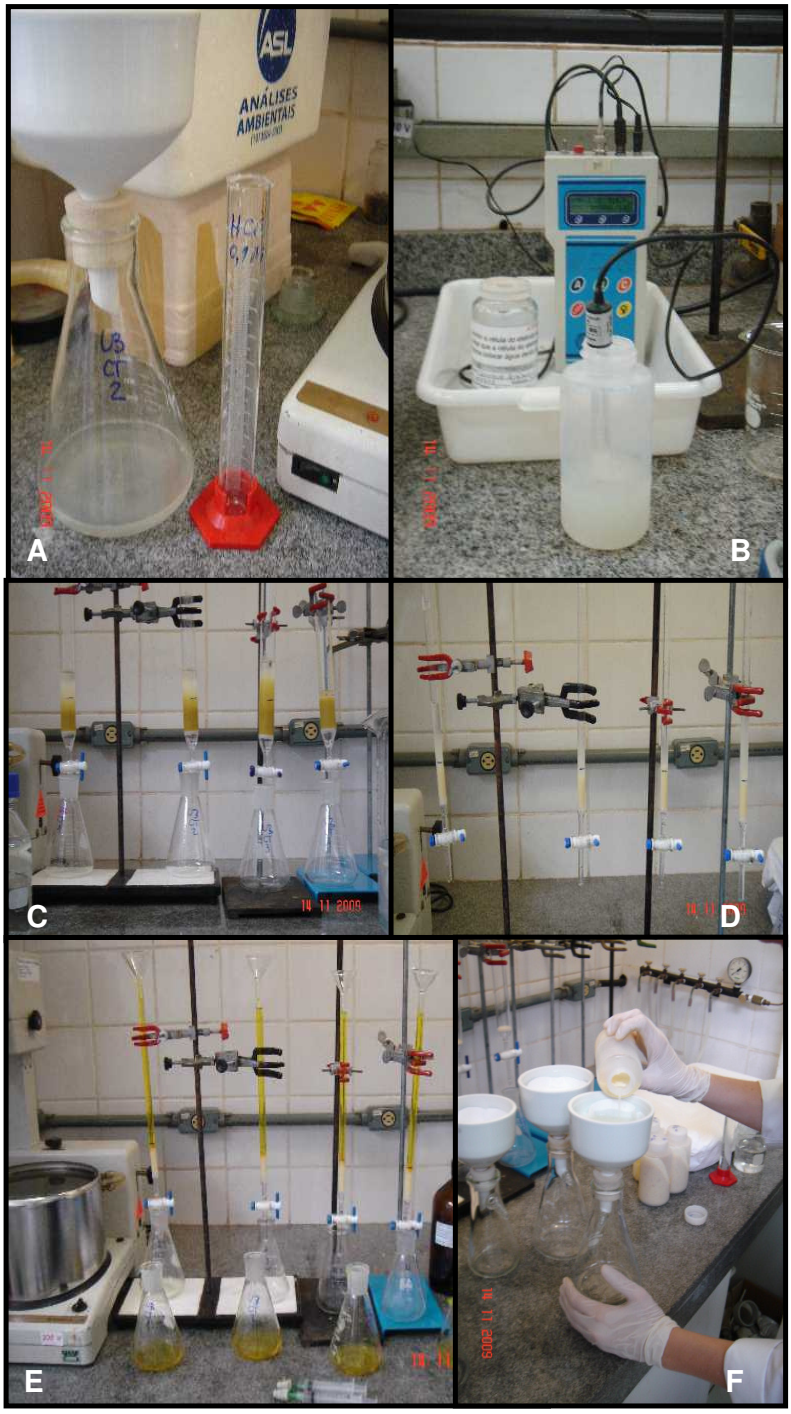

Figura 4.10 - Lavagem com ácido clorídrico 0,1 M (A), acerto do pH do sobrenadante com hidróxido de sódio 1 M (B), transferência para coluna de vidro com resina Chelex 100 (C), adição de ácido clorídrico 6 M (D), transferência para coluna de vidro com resina AG1-X8 (E), filtragem em membrana de celulose para injeção no cromatógrafo (F). Piracicaba, 2009/2010

4.2.6 Análise estatística

Para cada experimento, os dados foram submetidos à análise da variância com aplicação do teste 'F', com o auxílio do programa estatístico SAS - Statistical Analysis System (SAS INSTITUTE, 1988). Quando significativos, os níveis qualitativos foram comparados pelo teste de 'tukey', com 5% de significância. As formulações e épocas de aplicação foram comparadas de acordo com todas as interações possíveis.

4.3 Resultados e Discussão

A produtividade e a massa de 100 grãos encontram-se na Tabela 4.6. O teor de óleo e o conteúdo de proteína bruta são apresentados na Tabela 4.7. Os teores médios dos aminoácidos arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina e cisteína em grãos de SRG são observadas nas Tabelas 4.8 e 4.9. Não houve diferença estatística na produtividade (kg ha^{-1} de matéria seca) e massa (g) de 100 grãos, proteína bruta (g 100 g^{-1} matéria seca), óleo (g 100 g^{-1} matéria seca) e nos teores dos aminoácidos (g 100 g^{-1} matéria seca), para todos os tratamentos e épocas de aplicação nos dois experimentos, E1 e E2 (Tabelas 4.6, 4.7, 4.8 e 4,9).

As produtividades de E1 e E2 (Tabela 4.6) estão de acordo com Miller et al. (2008) que observaram que não há redução de produtividade ou aumento quando as aplicações de glyphosate são realizadas até o estádio R2. Agostinetto, Dal Magro e Galon (2009) também não constataram diferença na produtividade da SRG após a aplicação de diferentes formulações de glyphosate nem correlação entre a menor produtividade em E2 (média geral do experimento de 1713 kg ha^{-1}), em média 35% menor do que em E1 (média geral do experimento de 2636 kg ha^{-1}) e as épocas de aplicação S20 e S30. Como referência, a produtividade média brasileira da safra 2009/10 foi de 2798 kg ha^{-1}. Esta menor produtividade em E2 pode estar mais relacionada ao menor desenvolvimento da cultura no momento da aplicação dos programas U20 e S20 (estádio V2) do que em E1 (estádio V4). Uma causa provável é a quantidade de chuva aproximadamente quatro vezes menor em E2 nos primeiros 30 dias após a emergência (DAE) da SRG (Figuras 4.3 e 4.4).

Tabela 4.6 - Médias de produtividade (kg ha^{-1} de matéria seca) e massa (g) de 100 grãos de soja resistente ao glyphosate (SRG) após aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 (S30) dos herbicidas Rodeo, Roundup Original, Roundup WG e Roundup Ready e controle (sem aplicação de herbicida) em E1e E2. Piracicaba, 2007/2008

Tratamento	**Programa**	**Produtividade (±DP)[1]**		**Massa 100 grãos (±DP)[1]**	
		kg ha^{-1}		**g**	
		E1	**E2**	**E1**	**E2**
Controle	U20	2644,6 (208)	1612,4 (210)	13,83 (1,19)	16,39 (0,85)
	U30	2391,1 (573)	2185,0 (198)	14,63 (0,30)	16,69 (0,24)
	S20	2408,5 (270)	1632,0 (542)	14,97 (0,47)	16,48 (2,20)
	S30	2768,9 (189)	1758,0 (297)	15,43 (0,54)	15,96 (0,53)
Rodeo	U20	2560,0 (565)	1746,1 (377)	14,21 (0,76)	16,08 (0,98)
	U30	2550,5 (276)	1418,8 (415)	14,51 (0,73)	16,20 (0,61)
	S20	2692,5 (185)	1782,5 (195)	14,97 (0,52)	15,81 (1,35)
	S30	2675,0 (307)	1823,6 (243)	16,04 (1,29)	15,80 (0,78)
Roundup Original	U20	2636,7 (212)	1559,2 (555)	14,32 (0,46)	16,47 (2,35)
	U30	2911,9 (280)	1755,8 (78)	14,85 (0,31)	17,21 (0,90)
	S20	2696,9 (309)	1693,4 (211)	15,22 (0,17)	16,96 (2,28)
	S30	2698,2 (190)	1633,1 (201)	15,85 (0,39)	16,26 (0,42)
Roundup WG	U20	2622,5 (175)	1824,6 (195)	14,34 (0,24)	16,68 (0,49)
	U30	2444,9 (320)	1927,0 (276)	14,75 (0,37)	16,98 (0,56)
	S20	2633,3 (416)	1631,3 (145)	15,10 (0,34)	17,31(0,94)
	S30	2757,0 (68)	1606,00 (272)	16,02 (0,90)	16,55 (0,84)
Roundup Ready	U20	2713,8 (140)	1816,1 (186)	14,15 (0,58)	16,87 (0,67)
	U30	2599,6 (231)	1586,8 (400)	14,57 (0,07)	16,23 (0,99)
	S20	2721,0 (357)	1684,0 (628)	14,97 (0,37)	16,36 (1,97)
	S30	2583,8 (184)	1581,2 (422)	15,82 (1,11)	17,02 (1,28)
		NS	NS	NS	NS
CV%		9,19	20,95	3,66	6,52
DMS		361,5	273,9	0,87	1,57

[1] DP – Desvio Padrão. NS – não significativo pela ANOVA ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4.7 - Médias de produção de proteína bruta e óleo (g 100 g^{-1} matéria seca) de grãos de soja resistente ao glyphosate (SRG) após aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 (S30) das formulações Rodeo, Roundup Original, Roundup WG e Roundup Ready e controle (sem aplicação de herbicida) em E1 e E2. Piracicaba, 2007/2008.

Tratamento	Programa	g 100 g^{-1} matéria seca			
		Proteína Bruta [2] (±DP)[1]		Óleo [3] (±DP)[1]	
		E1	E2	E1	E2
Controle	U20	45,38 (0,24)	45,68 (0,55)	22,74 (0,15)	22,63 (0,08)
	U30	45,55 (0,46)	46,59 (1,84)	22,74 (0,15)	22,55 (0,09)
	S20	44,43 (0,78)	46,19 (0,29)	22,76 (0,10)	22,73 (0,13)
	S30	44,44 (1,74)	46,51 (1,55)	22,76 (0,10)	22,55 (0,07)
Rodeo	U20	44,46 (1,19)	44,91 (0,42)	22,76 (0,06)	22,67 (0,03)
	U30	44,86 (0,45)	46,16 (1,17)	22,76 (0,06)	22,65 (0,06)
	S20	44,33 (1,22)	44,91 (0,91)	22,78 (0,10)	22,71 (0,06)
	S30	44,74 (0,76)	44,71 (0,59)	22,78 (0,10)	22,64 (0,17)
Roundup Original	U20	45,01 (0,60)	46,28 (0,58)	22,76 (0,03)	22,64 (0,07)
	U30	44,86 (0,62)	46,77 (1,56)	22,76 (0,03)	22,66 (0,07)
	S20	44,15 (1,05)	45,03 (0,52)	22,75 (0,06)	22,58 (0,04)
	S30	45,63 (1,11)	45,19 (0,80)	22,75 (0,06)	22,63 (0,05)
Roundup WG	U20	45,11 (0,64)	45,59 (1,22)	22,78 (0,08)	22,60 (0,16)
	U30	45,17 (1,04)	44,99 (1,10)	22,78 (0,08)	22,64 (0,05)
	S20	43,84 (1,05)	45,86 (0,73)	22,70 (0,05)	22,67 (0,05)
	S30	45,28 (0,67)	45,35 (0,65)	22,70 (0,05)	22,59 (0,16)
Roundup Ready	U20	44,38 (0,77)	45,88 (0,71)	22,76 (0,06)	22,40 (0,21)
	U30	45,53 (1,19)	45,83 (0,45)	22,76 (0,06)	22,63 (0,05)
	S20	43,50 (0,90)	45,69 (1,04)	22,77 (0,06)	22,33 (0,05)
	S30	44,66 (0,55)	44,87 (0,14)	22,77 (0,06)	22,60 (0,05)
		NS	NS	NS	NS
CV%		1,75	1,96	0,33	0,39
DMS		1,73	1,69	0,09	0,09

[1] DP – Desvio Padrão. NS – não significativo pela ANOVA ao nível de 5% de probabilidade.
[2] Análise pelo método de Dumas.
[3] Análise por infravermelho próximo (NIR).

Tabela 4.8 – Médias[1] de produção de aminoácidos (g 100 g^{-1} matéria seca) arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina e cisteína de grãos de soja resistente ao glyphosate (SRG) após aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 dias (S30) dos herbicidas Rodeo, Roundup Original, Roundup WG e Roundup Ready e controle em E1 e E2. Piracicaba, 2007/2008.

(Continua)

Tratamento	Programa	g 100 g^{-1} matéria seca																					
		Arginina		Histidina		Isoleucina		Leucina		Lisina		Metionina		Fenilalanina		Treonina		Triptofano		Valina		Cisteína	
		E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2
Controle	U20	3,49	3,73	1,21	1,28	1,80	1,90	3,38	3,56	2,43	2,57	0,41	0,44	2,22	2,33	1,43	1,51	0,51	0,53	2,02	2,11	0,66	0,72
	U30	3,39	3,59	1,18	1,22	1,84	1,77	3,40	3,37	2,47	2,47	0,42	0,40	2,19	2,24	1,42	1,43	0,49	0,50	2,06	2,01	0,71	0,61
	S20	3,54	3,75	1,23	1,28	1,81	1,91	3,39	3,55	2,45	2,57	0,41	0,46	2,23	2,32	1,43	1,55	0,51	0,54	2,03	2,13	0,65	0,75
	S30	3,55	3,67	1,23	1,24	1,83	1,80	3,42	3,38	2,47	2,47	0,40	0,40	2,24	2,26	1,46	1,42	0,51	0,51	2,06	2,01	0,67	0,62
Rodeo	U20	3,42	3,70	1,20	1,26	1,79	1,88	3,35	3,51	2,44	2,57	0,40	0,43	2,17	2,31	1,40	1,49	0,49	0,52	2,00	2,11	0,64	0,72
	U30	3,52	3,76	1,24	1,26	1,85	1,85	3,46	3,49	2,51	2,50	0,43	0,42	2,14	2,31	1,47	1,48	0,52	0,52	2,07	2,08	0,70	0,68
	S20	3,42	3,62	1,20	1,21	1,76	1,83	3,29	3,39	2,39	2,47	0,40	0,41	2,17	2,25	1,41	1,41	0,50	0,51	1,97	2,04	0,63	0,63
	S30	3,45	3,61	1,20	1,21	1,74	1,75	3,27	3,33	2,40	2,41	0,39	0,39	2,17	2,24	1,39	1,38	0,50	0,51	1,95	2,00	0,61	0,59
Roundup Original	U20	3,47	3,73	1,22	1,28	1,78	1,88	3,37	3,52	2,43	2,53	0,40	0,45	2,20	2,30	1,41	1,53	0,50	0,54	1,99	2,12	0,63	0,69
	U30	3,49	3,69	1,22	1,26	1,80	1,86	3,38	3,48	2,47	2,50	0,40	0,43	2,21	2,30	1,42	1,49	0,50	0,53	2,01	2,07	0,66	0,64
	S20	3,44	3,65	1,22	1,26	1,79	1,86	3,36	3,47	2,45	2,51	0,39	0,43	2,19	2,27	1,41	1,48	0,49	0,53	2,01	2,06	0,64	0,65
	S30	3,47	3,76	1,21	1,28	1,81	1,89	3,36	3,52	2,43	22,54	0,42	0,44	2,20	2,33	1,45	1,51	0,52	0,54	2,08	2,11	0,65	0,69
Roundup WG	U20	3,47	3,64	1,23	1,26	1,82	1,86	3,42	3,47	2,46	2,50	0,42	0,44	2,21	2,28	1,46	1,51	0,51	0,53	2,03	2,08	0,68	0,67
	U30	3,47	3,66	1,21	1,25	1,81	1,83	3,38	3,44	2,47	2,53	0,42	0,41	2,21	2,26	1,43	1,46	0,51	0,50	2,04	2,07	0,68	0,67
	S20	3,44	3,77	1,22	1,28	1,83	1,91	3,41	3,54	2,47	2,56	0,41	0,45	2,20	2,33	1,44	1,54	0,51	0,55	2,02	2,10	0,70	0,69
	S30	3,50	3,69	1,22	1,26	1,81	1,88	3,39	3,52	2,43	2,57	0,43	0,43	2,22	2,31	1,44	1,52	0,52	0,53	2,02	2,10	0,67	0,71

Tabela 4.8 - Médias[1] de produção de aminoácidos (g 100 g^{-1} matéria seca) arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina e cisteína de grãos de soja resistente ao glyphosate (SRG) após aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 (S30) dos herbicidas Rodeo, Roundup Original, Roundup WG e Roundup Ready e controle em E1 e E2. Piracicaba, 2007/2008.

(Conclusão)

Tratamento	Programa	g 100 g^{-1} matéria seca																					
		Arginina		Histidina		Isoleucina		Leucina		Lisina		Metionina		Fenilalanina		Treonina		Triptofano		Valina		Cisteína	
		E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2
Roundup Ready	U20	3,49	3,67	1,24	1,26	1,84	1,83	3,42	3,44	2,49	2,48	0,42	0,43	2,24	2,28	1,49	1,46	0,51	0,52	2,07	2,05	0,71	0,65
	U30	3,51	3,79	1,22	1,29	1,82	1,90	3,42	3,56	2,45	2,60	0,40	0,45	2,23	2,33	1,40	1,54	0,50	0,54	2,05	2,12	0,64	0,72
	S20	3,53	3,61	1,24	1,26	1,84	1,89	3,46	3,52	2,53	2,53	0,40	0,44	2,24	2,29	1,44	1,51	0,50	0,53	2,05	2,11	0,71	0,70
	S30	3,50	3,76	1,21	1,27	1,82	1,87	3,38	3,52	2,48	2,53	0,41	0,43	2,23	2,33	1,43	1,51	0,50	0,54	2,04	2,10	0,66	0,66
		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

[1] Análise por infravermelho próximo (NIRS). NS – não significativo pela ANOVA ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4.9 - Desvio Padrão das Médias[1], CV% e DMS dos aminoácidos (g 100 g^{-1} matéria seca) arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina e cisteína de grãos de soja resistente ao glyphosate (SRG) após aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 (S30) dos herbicidas Rodeo, Roundup Original, Roundup WG e Roundup Ready e controle em E1 e E2. Piracicaba, 2007/2008.

(Continua)

Tratamento	Programa	g 100 g^{-1} matéria seca																					
		Arginina		Histidina		Isoleucina		Leucina		Lisina		Metionina		Fenilalanina		Treonina		Triptofano		Valina		Cisteína	
		E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2
Controle	U20	0,08	0,07	0,03	0,05	0,06	0,04	0,13	0,12	0,05	0,06	0,02	0,02	0,06	0,04	0,04	0,02	0,01	0,01	0,07	0,05	0,04	0,04
	U30	0,08	0,11	0,05	0,04	0,04	0,04	0,13	0,09	0,06	0,05	0,01	0,02	0,07	0,04	0,02	0,02	0,01	0,02	0,07	0,03	0,01	0,01
	S20	0,10	0,08	0,03	0,03	0,03	0,02	0,09	0,08	0,03	0,04	0,01	0,01	0,04	0,02	0,03	0,03	0,01	0,02	0,05	0,03	0,02	0,04
	S30	0,04	0,11	0,03	0,04	0,03	0,05	0,04	0,09	0,08	0,09	0,01	0,04	0,01	0,06	0,03	0,06	0,01	0,02	0,02	0,06	0,06	0,06
Rodeo	U20	0,05	0,04	0,03	0,03	0,03	0,09	0,09	0,14	0,04	0,06	0,01	0,02	0,02	0,03	0,01	0,05	0,01	0,02	0,05	0,07	0,03	0,04
	U30	0,10	0,19	0,03	0,02	0,06	0,04	0,10	0,07	0,09	0,03	0,01	0,02	0,06	0,06	0,02	0,04	0,01	0,01	0,06	0,05	0,06	0,03
	S20	0,06	0,08	0,04	0,03	0,06	0,06	0,10	0,06	0,08	0,04	0,03	0,05	0,05	0,01	0,09	0,08	0,02	0,04	0,06	0,04	0,07	0,07
	S30	0,04	0,04	0,02	0,02	0,06	0,06	0,08	0,07	0,07	0,08	0,03	0,05	0,03	0,04	0,05	0,09	0,02	0,02	0,08	0,05	0,08	0,07
Roundup Original	U20	0,15	0,08	0,04	0,05	0,10	0,06	0,14	0,13	0,08	0,08	0,03	0,03	0,06	0,06	0,08	0,04	0,04	0,02	0,08	0,07	0,08	0,06
	U30	0,07	0,11	0,02	0,02	0,07	0,05	0,06	0,09	0,08	0,04	0,03	0,03	0,05	005	0,05	0,08	0,01	0,04	0,06	0,04	0,06	0,03
	S20	0,12	0,13	0,04	0,07	0,12	0,07	0,19	0,15	0,13	0,06	0,06	0,02	0,06	0,06	0,10	0,06	0,02	0,02	0,15	0,06	0,13	0,02
	S30	0,03	0,06	0,03	0,03	0,05	0,02	0,04	0,07	0,09	0,06	0,01	0,01	0,02	0,03	0,03	0,05	0,01	0,01	0,03	0,02	0,02	0,04

Tabela 4.9 - Desvio Padrão das Médias[1], CV% e DMS dos aminoácidos (g 100 g^{-1} matéria seca) arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina e cisteína de grãos de soja resistente ao glyphosate (SRG) após aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 (S30) dos herbicidas Rodeo, Roundup Original, Roundup WG e Roundup Ready e controle em E1 e E2. Piracicaba, 2007/2008.

(Conclusão)

Tratamento	Programa	g 100 g^{-1} matéria seca																					
		Arginina		Histidina		Isoleucina		Leucina		Lisina		Metionina		Fenilalanina		Treonina		Triptofano		Valina		Cisteína	
		E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2
Roundup WG	U20	0,05	0,08	0,03	0,05	0,04	0,07	0,06	0,13	0,05	0,08	0,02	0,03	0,03	0,05	0,03	0,07	0,02	0,02	0,03	0,05	0,04	0,05
	U30	0,07	0,02	0,03	0,03	0,05	0,03	0,07	0,06	0,09	0,02	0,02	0,01	0,03	0,02	0,05	0,04	0,02	0,01	0,04	0,02	0,07	0,05
	S20	0,10	0,10	0,06	0,03	0,11	0,10	0,20	0,15	0,13	0,12	0,03	0,03	0,05	0,07	0,07	0,08	0,01	0,02	0,14	0,10	0,10	0,09
	S30	0,03	0,10	0,02	0,03	0,06	0,03	0,07	0,06	0,07	0,07	0,02	0,02	0,01	0,03	0,03	0,04	0,01	0,02	0,05	0,03	0,05	0,03
Roundup Ready	U20	0,13	0,14	0,05	0,07	0,10	0,09	0,16	0,20	0,13	0,10	0,03	0,03	0,06	0,07	0,07	0,06	0,02	0,02	0,11	0,11	0,07	0,08
	U30	0,11	0.15	0,06	0,05	0,15	0,07	0,28	0,14	0,17	0,05	0,03	0,02	0,09	0,07	0,10	0,05	0,01	0,03	0,17	0,09	0,11	0,05
	S20	0,10	0,09	0,04	0,02	0,11	0,05	0,17	0,09	0,13	0,09	0,03	0,02	0,06	0,05	0,06	0,05	0,02	0,02	0,12	0,04	0,10	0,09
	S30	0,13	0,07	0,05	0,04	0,10	0,04	0,13	0,06	0,12	0,03	0,05	0,02	0,05	0,03	0,10	0,04	0,03	0,02	0,09	0,02	0,10	0,02
		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV%		1,98	2,48	2,49	2,29	4,17	2,51	3,43	2,19	3,74	2,29	7,43	6,54	1,93	1,83	4,45	3,49	3,57	4,01	4,01	2,44	10,64	6,84
DMS Trat.		0,11	0,15	0,04	0,05	0,08	0,09	0,14	0,16	0,09	0,10	0,02	0,03	0,07	0,07	0,04	0,08	0,01	0,02	0,10	0,10	0,06	0,08
DMS Época		0,11	0,12	0,03	0,04	0,07	0,08	0,12	0,13	0,07	0,08	0,02	0,03	0,06	0,05	0,04	0,06	0,01	0,02	0,08	0,08	0,05	0,07

[1] NS – não significativo pela ANOVA ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados para os resíduos de glyphosate e AMPA em grãos de soja (mg kg^{-1}) encontram-se nas Tabelas 4.10 e 4.11. Os resultados por tratamento (Rodeo, Roundup Original e Roundup Ready e controle) e programa encontram-se na Tabela 4.11. A Tabela 4.10 mostra os dados com a comparação de médias dos tratamentos dentro de cada experimento (E1 e E2) considerando todas as parcelas (U20, U30, S20 e S30), no delineamento estatístico de parcelas subdivididas. A Tabela 4.11 apresenta os resultados com a comparação de média dos tratamentos dentro de cada parcela, em delineamento estatístico em blocos inteiramente casualizados. Devido às primeiras extrações terem se apresentado inadequadas para as análises de resíduos, houve necessidade de repetição de todas as extrações, com aumento de consumo de reagentes e tempo. Para que o orçamento e o cronograma fossem respeitados, o tratamento Roundup WG não foi analisado (E1 e E2).

Em E1, resíduos de glyphosate e AMPA em grãos de SRG foram detectados em níveis médios entre 0,01 a 0,02 e 0,13 e 0,15 mg kg^{-1}, respectivamente. Não houve diferença significativa entre as médias dos programas e entre as dos tratamentos para o glyphosate e AMPA. Já para o AMPA, as médias dos tratamentos herbicidas Roundup Ready e Roundup Original (0,14 e 0,18 mg kg^{-1}, respectivamente) foram iguais estatisticamente ao Controle (0,14 mg kg^{-1}) e significativamente diferente das médias do produto Rodeo. Em E2, as médias dos programas U20 e S20 apresentaram níveis de glyphosate de 0,12 e 0,15 mg kg^{-1}, respectivamente, sem diferença significativa entre si, porém distintos estatisticamente daqueles dos programas U30 e S30, ambos com valores médios de 0,01 mg kg^{-1} (Tabela 4.10).

Com relação às médias dos tratamentos herbicidas em E2, os níveis de glyphosate mais elevados foram obtidos para os produtos Roundup Ready (0,11 mg kg^{-1}) e Roundup Original (0,10 mg kg^{-1}), iguais entre si estatisticamente. Estes valores são significativamente distintos das médias do produto Rodeo e do Controle, iguais entre si (0,01 a 0,02 mg kg^{-1}, respectivamente). Os níveis de AMPA em E2 foi mais alto para as médias do produto Rodeo (0,21 mg kg^{-1}), igual estatisticamente ao Controle (0,16 mg kg^{-1}). Estes tratamentos foram significativamente diferentes das médias dos tratamentos Roundup Ready (0,09 mg kg^{-1}) e Roundup Original (0,11 mg kg^{-1}), iguais entre si (Tabela 4.10).

Tabela 4.10 - Resíduos de glyphosate e AMPA em grãos de soja (mg kg^{-1}) em função da aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 (S30) dos herbicidas Rodeo, Roundup Original, Roundup Ready e controle (sem aplicação de herbicida) em E1 e E2, agrupados por programa e tratamento. Piracicaba 2007/2008

		Resíduos (mg kg^{-1}) (±DP)[1]			
		Glyphosate		**AMPA**	
		E1	**E2**	**E1**	**E2**
Programa	**U20**	0,02 (±0,01)	0,12 (±0,02) a	0,15 (±0,02)	0,10 (±0,02) b
	U30	0,00 (±0,01)	0,01 (±0,02) b	0,14 (±0,02)	0,21 (±0,02)a
	S20	0,01 (±0,01)	0,15 (±0,02) a	0,13 (±0,02)	0,21 (±0,02) a
	S30	0,01 (±0,01)	0,01 (±0,02) b	0,13 (±0,02)	0,05 (±0,02) b
		NS		NS	
Tratamento	**Controle**	0,00 (±0,00)	0,01 (±0,02) b	0,14 (±0,02) ab	0,16 (±0,03) ab
	Rodeo	0,02 (±0,01)	0,02 (±0,02) b	0,09 (±0,02) b	0,21 (±0,02) a
	Roundup Original	0,01 (±0,01)	0,11 (±0,02) a	0,18 (±0,02) a	0,11 (±0,02) b
	Roundup Ready	0,01 (±0,01)	0,10 (±0,02) a	0,14 (±0,02) ab	0,09 (±0,02) b
		NS	NS	NS	NS
	CV%	215	40,8	40,5	39,7
	DMS	0,03	0,06	0,07	0,04

[1] Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem ente si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DP – Desvio Padrão NS – não significativo pela ANOVA ao nível de 5% de probabilidade.

A Tabela 4.11 mostra que todos os níveis mais altos de glyphosate foram obtidos em E2. O mais elevado e com diferença estatística de todos os demais valores é o do tratamento Roundup Original (0,28 mg kg^{-1}), programa U20. Logo após, seguem Roundup Ready (0,20 mg kg^{-1}), programa U20, e Roundup Original (0,18 mg kg^{-1}), programa S20, iguais entre si e ao nível obtido para Roundup Ready em S20 (0,16 mg kg^{-1}). Este último valor é estatisticamente igual ao do produto Rodeo, programa S20, porém com diferença não significativa em relação às demais médias, que por sua vez são iguais ao deste nível de Rodeo S20.

Porém, para o AMPA, todos os tratamentos acima citados, com exceção de Rodeo S20, apresentaram os menores níveis significativamente diferentes dos demais, 0,02 mg kg^{-1} , considerando os dois experimentos (E1 e E2). Os valores de AMPA para o Controle, em todos os programas, foram iguais estatisticamente entre si e similares entre os dois experimentos. Também foi observado que estes valores, entre 0,15 e 0,24 mg kg^{-1} não são diferentes estatisticamente dos valores encontrados em todos os tratamentos herbicidas. Os valores de AMPA sempre foram mais altos que os de glyphosate, com exceção dos quatro valores mais altos em E2 (Roundup Original U20, Roundup Ready U20, Roundup Original S20 e Roundup Ready S20, respectivamente) (Tabela 4.11).

Níveis de resíduos de glyphosate no E2 são próximos aos dos encontrados por Duke et al. (2003), quando glyphosate foi aplicado em doses sequenciais (1,2 kg ha^{-1} e.a. a 3 semanas após o plantio e 0,84 kg ha^{-1} e.a. a 6 semanas após o plantio) similares ao programa S20 do presente experimento. Por outro lado, o valor mais alto de AMPA neste estudo, 0,29 mg kg^{-1}, é bem menor do que os obtidos por Duke et al. (2003) e Arregui et al. (2004): 0,60 a 0,86 mg kg^{-1} para o primeiro e entre 0,4 e 0,9 mg kg^{-1} para o segundo, quando as aplicações sequenciais de glyphosate a 0,96 e 1,68 kg ha^{-1} e.a. aconteceram ao redor de 83 dias após o plantio. A dose de Duke et al. (2003) foi um pouco mais elevada e a segunda aplicação mais tardia do que o presente trabalho.

Ambos os autores afirmam que concentrações mais altas de glyphosate e AMPA são encontradas quando as pulverizações são aplicadas próximas à colheita. Os resíduos de glyphosate para Arregui et al. (2004) também foram mais elevadas, entre 1,6-1,8 mg kg^{-1}. Deste modo, afirmamos que no presente trabalho, houve metabolismo de glyphosate em AMPA e translocação de ambos para os grãos de

SRG, como constatado por Komoba, Gennity e Sandermann (1992), Duke et al. (2003) e Arregui et al. (2004).

Os resultados com a quase ausência de resíduos de glyphosate em grãos de SRG em E1 e valores maiores em alguns tratamentos em E2 também foram encontrados por Arregui et al. (2004). Conforme Reddy et al. (2008), maior produção de biomassa pode resultar em diluição deste ingrediente ativo nos tecidos vegetais. Deste modo, a maior produção de grãos em E1 do que em E2 (Tabela 4.6) pode justificar o maior nível de resíduos em E2.

Tabela 4.11 - Resíduos de glyphosate e AMPA em grãos de soja (mg kg^{-1}) em função da aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 (S30) dos herbicidas Rodeo, Roundup Original, Roundup Ready e controle (sem aplicação de herbicida) em E1 e E2, com todos os programas agrupados por tratamento. Piracicaba 2007/2008

(Continua)

Tratamento	Programa	Resíduos (mg kg^{-1}) (±DP)[1]							
		Glyphosate				AMPA			
		E1		E2		E1		E2	
Controle	U20	0,00	(±0,00)	0,00	(±0,00) d	0,15	(±0,10) ab	0,19	(±0,11) ab
	U30	0,00	(±0,00)	0,01	(±0,01) d	0,15	(±0,10) ab	0,24	(±0,06) ab
	S20	0,00	(±0,00)	0,02	(±0,00) d	0,11	(±0,08) ab	0,20	(±0,03) b
	S30	0,00	(±0,00)	0,00	(±0,01) d	0,15	(±0,10) ab	0,18	(±0,15) ab
Rodeo	U20	0,00	(±0,00)	0,01	(±0,01) d	0,13	(±0,09) ab	0,18	(±0,10) ab
	U30	0,00	(±0,00)	0,01	(±0,01) d	0,02	(±0,00) c	0,24	(±0,06) ab
	S20	0,00	(±0,00)	0,06	(±0,08) cd	0,17	(±0,01) a	0,12	(±0,08) b
	S30	0,01	(±0,01)	0,01	(±0,02) d	0,05	(±0,05) bc	0,29	(±0,04) a
Roundup Original	U20	0,01	(±0,01)	0,28	(±0,04) a	0,17	(±0,04) a	0,02	(±0,01) c
	U30	0,01	(±0,01)	0,00	(±0,01) d	0,19	(±0,05) a	0,19	(±0,02) b
	S20	0,01	(±0,01)	0,18	(±0,02) b	0,03	(±0,02) bc	0,02	(±0,00) c
	S30	0,00	(±0,00)	0,01	(±0,01) d	0,17	(±0,02) c	0,23	(±0,05) ab

Tabela 4.11 - Resíduos de glyphosate e AMPA em grãos de soja (mg kg^{-1}) em função da aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 (S30) dos herbicidas Rodeo, Roundup Original, Roundup Ready e controle (sem aplicação de herbicida) em E1 e E2, com todos os programas agrupados para cada tratamento. Piracicaba 2007/2008.

(Conclusão)

Tratamento	Programa	Resíduos (mg kg^{-1}) (±DP)[1]							
		Glyphosate				AMPA			
		E1		E2		E1		E2	
Roundup Ready	U20	0,00	(±0,00)	0,20	(±0,01) b	0,16	(±0,02) a	0,02	(±0,00) c
	U30	0,00	(±0,00)	0,01	(±0,01) d	0,21	(±0,02) a	0,18	(±0,05) b
	S20	0,03	(±0,02)	0,16	(±0,05) bc	0,03	(±0,02) bc	0,02	(±0,00) c
	S30	0,03	(±0,02)	0,01	(±0,01) d	0,17	(±0,07) ab	0,16	(±0,05) b
		NS		NS		NS		NS	
CV%		215		40,8		40,5		39,7	
DMS		0,03		0,06		0,07		0,04	

[1] Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem ente si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DP – Desvio Padrão NS – não significativo pela ANOVA ao nível de 5% de probabilidade.

Em E1 e E2, foram constatados maiores níveis de AMPA em relação aos de glyphosate (Tabelas 4.10 e 4.11), do mesmo modo que Duke et al. (2003) e ao contrário de Arregui et al. (2004). É provável que períodos muito curtos entre a aplicação e colheita para o completo metabolismo e dissipação do herbicida na planta, fato que explica os maiores valores de AMPA mostrados por Arregui et al. (2004). Além disso, com o passar do tempo, há mais AMPA do que resíduos de glyphosate nos grãos da SRG (DUKE et al., 2003).

Segundo Reddy et al. (2008), a detecção de AMPA em grãos de diversas culturas, incluindo a SRG, após a aplicação de glyphosate, sugere que a enzima glyphosate oxiredutase (GOX) ou outro tipo de enzima similar catalisa esta conversão e níveis diferenciados foram encontrados em espécies distintas de leguminosas. Algumas espécies apresentaram conversão, de glyphosate em AMPA e outras não. Nandula et al. (2007) não observaram diferenças significativas no metabolismo de glyphosate em AMPA em cultivares de SRG, é possível a sensibilidade diferencial a AMPA em SRG ser atribuída a diferenças nos cultivares de soja (REDDY; RIMANDO; DUKE, 2004).

Por outro lado, nenhuma planta GOX-derivada ainda foi descrita na literatura. Segundo Reddy et al. (2008), ainda é possível que a porção do AMPA tenha origem da degradação de glyphosate na superfície das folhas, seguida pela absorção do metabólito. Baseado nestas informações, os dados do presente trabalho justificam os valores mais altos de AMPA em relação aos de resíduos de glyphosate, além do cultivar de SRG utilizada possuir a GOX, embora não tenha ainda sido descrita pela literatura (DUKE et al., 2003; ARREGUI et al., 2004; NANDULA et al., 2007; REDDY et al., 2008).

O fato de todas as médias do tratamento controle para todos os programas apresentarem valores entre 0,15 e 0,24 mg kg^{-1} de AMPA (Tabela 4.11) e sem diferença estatística em relação aos demais tratamentos herbicidas não é inédito na literatura. Duke et al. (2003) já havia constatado valores similares em tratamento onde as plantas daninhas foram controladas manualmente e também em tratamento herbicida sem a presença de glyphosate. Este autor justificou o fato devido a uma possível deriva, mesmo a ocorrência ter sido observada em dois locais distintos.

Apesar de que esta hipótese não deva ser descartada para o presente trabalho, o uso da proteção para evitar deriva em conjunto com a observação de que esta situação ocorreu em dois anos consecutivos e em todas as médias de todas as

subparcelas do tratamento controle, sugere a realização de pesquisas para testar a hipótese de absorção de AMPA pelas raízes de plantas das parcelas controle após a aplicação de AMPA diretamente no solo em parcelas adjacentes.

Outra possibilidade é a movimentação do AMPA gerado após o metabolismo do glyphosate por microrganismos do solo. Vereecken (2005) relata que a meia vida do AMPA pode ser de alguns dias, meses e até anos, e que esta substância já foi detectada em quantidades de 5 a 18 mg kg^{-1} a 70 e 90 cm de profundidade. Huang et al. (2004) e Landry et al. (2005) também constataram a presença de AMPA de 20 a 50 cm de profundidade. Mamy, Gabrielle e Barriuso (2010), após modelagem, estimam que grandes quantidades de AMPA podem ser encontradas em solos após anos seguidos com aplicações de glyphosate e ressaltam que a SRG pode ter um maior impacto ambiental caso seja confirmado que o AMPA seja dez vezes mais tóxico que o glyphosate.

Simonsen et al. (2008) também endossam a possibilidade de encontrar AMPA em solos após a aplicação de glyphosate ao afirmar que resíduos de glyphosate e AMPA foram encontrados em solos previamente aplicados com glyphosate vinte e um meses antes (MAMY; GABRIELLE; BARRIUSO, 2010; DUKE et al., 2003; HUANG et al., 2004; LANDRY et al., 2005; VEREECKEN, 2005; SIMONSEN et al., 2008).

Segundo Duke et al. (2003), a falta de metabolismo de glyphosate em AMPA pode acontecer devido ao alto grau de toxicidade do tratamento glyphosate, fato comprovado por Cessna et al. (2002) após pesquisa com ervilha não resistente ao glyphosate, onde altos níveis deste herbicida e valores muitos baixos para AMPA foram encontrados nos grãos deste legume em plantas tratadas com 1,7 kg de glyphosate em estádio precoce de maturação dos grãos. A formulação de glyphosate utilizada há mais de três décadas, Roundup Original utiliza o surfactante polioxietilenoamina (MON 0818), que é adicionado ao sal de isopropilamina de glyphosate. Surfactantes aumentam a eficiência do glyphosate, que é dependente de condições ambientais e da aplicação (DE RUITER; UFFING; MEINEN, 1996; BAYLIS, 2000; CESSNA et al., 2002; DUKE et al., 2003; SHARMA; SINGH, 2007).

Porém, Leaper e Holloway (2000) e Sharma e Singh (2007) apontam que surfactantes que penetram rapidamente na cutícula cerosa da superfície foliar e a absorção foliar destes produtos afetam a absorção e translocação de um herbicida sistêmico, o que significa que um surfactante que promove a maior absorção pode

não propiciar a melhor eficácia. Rodeo é uma formulação sem surfactante, enquanto que Roundup Ready é uma formulação à base de sal isopropilamina de glyphosate, porém com adjuvante não encontrado na literatura (BRASIL, 2003).

Fundamentado com as informações acima, o presente trabalho sugere que não ocorreu metabolismo de glyphosate em AMPA na aplicação de glyphosate formulado com adjuvantes (tratamentos Roundup Original e Roundup Ready) quando a aplicação foi realizada ao redor dos 20 DAE, única ou sequencial em E2. Estas situações apresentaram os maiores níveis de resíduos de glyphosate e os menores valores para AMPA. Pelo fato do tratamento Rodeo não possuir surfactante, o metabolismo de glyphosate em AMPA ocorreu, ao contrário dos tratamentos Roundup Ready e Roundup Original, nos programas U20 e S20, ambos em E2 (Tabela 4.12). Provavelmente esta ausência de metabolismo também está associada à ausência do efeito de diluição observada em E1 (Tabela 4.6), notada pelo decréscimo de 35% da produtividade em kg ha^{-1} em média, abaixo da média nacional, de 2798 kg ha^{-1} na safra 2009/10 (LEAPER; HOLLOWAY, 2000; EMBRAPA, 2005; SHARMA; SINGH, 2007).

O maior nível de resíduos de glyphosate encontrado (0,28 mg kg^{-1}) é menor do que o limite máximo de resíduos estabelecido pela legislação brasileira, 10 mg kg^{-1}, e os maiores valores encontrados para esta substância foram resultantes da aplicação dos tratamentos Roundup Ready e Roundup Original no programa U20, iguais entre si estatisticamente. Provavelmente, os adjvantes presentes nas formulações à base de sal de isopropilamina determinaram estes maiores valores e a ausência de metabolismo de glyphosate em AMPA.

Tabela 4.12 - Resíduos de glyphosate e AMPA em grãos de soja (mg kg^{-1}) em função da aplicação única aos 20 dias (U20), única aos 30 dias (U30), seqüencial aos 20 + 15 dias (S20) e seqüencial 30 + 15 (S30) dos herbicidas Rodeo, Roundup Original, Roundup Ready e controle (sem aplicação de herbicida) em E1 e E2, com todos os tratamentos agrupados para cada programa. Piracicaba 2007/2008.

Tratamento	Resíduos (mg kg^{-1}) (±DP)[1]																							
	Glyphosate																							
	U20						U30						S20						S30					
	E1			E2			E1			E2			E1			E2			E1			E2		
Controle	0,00	(±0,00)	NS	0,00	(±0,00)	c	0,00	(±0,00)	NS	0,01	(±0,01)	NS	0,00	(±0,00)	NS	0,02	(±0,00)	c	0,00	(±0,00)	NS	0,00	(±0,01)	NS
Rodeo	0,00	(±0,00)	NS	0,01	(±0,01)	c	0,00	(±0,00)	NS	0,01	(±0,01)	NS	0,00	(±0,00)	NS	0,06	(±0,08)	bc	0,01	(±0,01)	NS	0,01	(±0,02)	NS
R. Original	0,01	(±0,01)	NS	0,28	(±0,04)	a	0,01	(±0,01)	NS	0,00	(±0,01)	NS	0,01	(±0,01)	NS	0,18	(±0,02)	a	0,00	(±0,00)	NS	0,01	(±0,01)	NS
R. Ready	0,00	(±0,00)	NS	0,20	(±0,01)	b	0,00	(±0,00)	NS	0,01	(±0,01)	NS	0,03	(±0,02)	NS	0,16	(±0,05)	ab	0,03	(±0,02)	NS	0,01	(±0,01)	NS
CV%	218			14,8			215			108			47,0			33,8			68,8			135		
DMS	0,00			0,03			0,01			0,01			0,01			0,02			0,01			0,00		

Tratamento	AMPA																							
	U20						U30						S20						S30					
	E1			E2			E1			E2			E1			E2			E1			E2		
Controle	0,15	(±0,10)	NS	0,19	(±0,11)	a	0,15	(±0,10)	a	0,24	(±0,06)	NS	0,11	(±0,08)	ab	0,20	(±0,03)	a	0,15	(±0,10)	ab	0,18	(±0,02)	b
Rodeo	0,13	(±0,09)	NS	0,18	(±0,10)	a	0,02	(±0,00)	b	0,24	(±0,06)	NS	0,17	(±0,01)	a	0,12	(±0,08)	a	0,05	(±0,05)	b	0,29	(±0,04)	a
R. Original	0,17	(±0,04)	NS	0,02	(±0,01)	b	0,19	(±0,05)	a	0,19	(±0,02)	NS	0,03	(±0,02)	b	0,02	(±0,00)	b	0,17	(±0,02)	a	0,23	(±0,05)	ab
R. Ready	0,16	(±0,02)	NS	0,02	(±0,00)	b	0,21	(±0,02)	a	0,18	(±0,05)	NS	0,03	(±0,02)	b	0,02	(±0,00)	b	0,17	(±0,07)	ab	0,16	(±0,05)	b
CV%	45,4			73,1			41,04			21,8			31,8			92,4,			48,6			20,5		
DMS	0,01			0,13			0,03			0,00			0,11			0,02			0,05			0,05		

[1] Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem ente si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DP – Desvio Padrão. NS – não significativo pela ANOVA ao nível de 5% de probabilidade.

4.4 Conclusões

Com o desenvolvimento deste trabalho, pôde-se concluir que não houve diferença significativa entre os tratamentos quanto à produtividade, massa de 100 grãos, teor de óleo, conteúdo de proteína bruta e dos aminoácidos arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina e cisteína de grãos da soja resistente ao glyphosate (SRG).

Houve metabolismo de glyphosate em AMPA e translocação de ambos para os grãos da soja resistente ao glyphosate (SRG), exceto para os tratamentos Roundup Original e Roundup Ready. As maiores concentrações de resíduos de glyphosate nos tratamentos Roundup Original e Roundup Ready, nos programas U20 e S20 do experimento E2, são devido à presença de adjuvantes nas formulações de glyphosate e à baixa produtividade de grãos. A maior concentração de resíduos de glyphosate encontrado (0,28 mg kg^{-1}) é menor do que o limite máximo de resíduos estabelecido pela legislação brasileira, 10 mg kg^{-1}.

Há necessidades de pesquisas para testar a hipótese de absorção de AMPA pelas raízes de plantas das parcelas controle após a aplicação de AMPA diretamente no solo em parcelas adjacentes.

REFERÊNCIAS

AGOSTINETTO, D.; DAL MAGRO, T.; GALON, L.; MORAES, P. V. D.; TIRONI, S. P. Performance of Transgenic Soybean Cultivars and Weed Control in function of Application Times and Glyphosate Formulations. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 27, n. 4, p. 739-746, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins. **AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Brasília, 2003. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 04 nov. 2005.

ARREGUI, M. C.; LENARDON, A.; SANCHEZ, D.; MAITRE, M. I.; SCOTTA, R.; ENRIQUE, S. Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate-resistant soybean. **Pest Management Science**, Chichester, v. 60, n. 2, p. 163-166, 2004.

BAYLIS, A. D. Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects. **Pest Management Science**, Chichester, v. 56, n. 4, p. 299-308, 2000.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura-LANARV/SNDA, 1992. 365 p.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Adequação da "Relação de monografias dos ingredientes ativos de agrotóxicos, domissanitários e preservantes de madeira", no tocante ao ingrediente ativo glifosato. Resolução nº 184, de 19 de setembro de 2003. **Diário Oficial da União**, Brasília, 19 set. 2003.

_____. **Debates sobre a questão dos agrotóxicos no CONSEA**. Brasília, 2005a. Disponível em: <http://www.pronaf.gov.br/dater/index.php?sccid=459>. Acesso em: 04 nov. 2005a.

_____. Decreto Federal nº 5.591, de 22 de novembro de 2005. Regulamenta dispositivos da Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005, que regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 22 nov. 2005b.

_____. Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados - OGM e seus derivados, cria o Conselho Nacional de Biossegurança - CNBS, reestrutura a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança - PNB, revoga a Lei nº 8.974, de 5 de janeiro de 1995, e a Medida Provisória nº 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5º, 6º, 7º, 8º, 9º, 10 e 16 da Lei nº 10.814, de 15 de dezembro de 2003, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 mar. 2005c, Seção 1, p. 1.

_____. Ministério da Ciência e Tecnologia. Agência CT. **Brasil é o terceiro no plantio de transgênicos**. Disponível em: <http://agenciact.mct.gov.br/index.php/content/view/32607.html>. Acesso em: 15 jul. 2006.

CESSNA, A. J.; DARWENT, A. L.; TOWNLEY-SMITH, L.; HARKER, K. N.; KIRKLAND, K. J. Residues of glyphosate and its metabolite AMPA in field pea, barley and flax seed following preharvest applications. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 82, n. 2, p. 485-489, 2002.

COWELL, J. E.; KUNSTMAN, J. L.; NORD, P. J.; STEINMETZ, J. R.; WILSON, G. R. Validation of an analytical residue method for analysis of glyphosate and metabolite - an interlaboratory study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 34, n. 6, p. 955-960, 1986.

DE RUITER, H.; UFFING, A. J. M.; MEINEN, E. Influence of surfactants and ammonium sulfate on glyphosate phytotoxicity to quackgrass (*Elytrigia repens*). **Weed Technology**, Lawrence, v. 10, n. 4, p. 803-808, 1996.

DUKE, S. O.; RIMANDO, A. M.; PACE, P. F.; REDDY, K. N.; SMEDA, R. J. Isoflavone, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid levels in seeds of glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 1, p. 340-344, 2003.

ELMORE, R. W.; ROETH, F. W.; KLEIN, R. N.; KNEZEVIC, S. Z.; MARTIN, A.; NELSON, L. A.; SHAPIRO, C. A. Glyphosate-resistant soybean cultivar response to glyphosate. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, p. 404-407, 2001.

EMBRAPA. **Soja na alimentação**. Brasília: Embrapa Soja, 2005b. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/soja_alimentacao/>. Acesso em: 15 jul. 2006.

FARIAS NETO, J. T.; VELLO, N. A. Avaliação de progênies $F_{4:3}$ e $F_{5:3}$ e estimativa de parâmetros genéticos com ênfase para porcentagem de óleo, produtividade de grãos e óleo em soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 4, p. 812-820, 2001.

HUANG, X. J.; PEDERSEN, T.; FISCHER, M.; WHITE, R.; YOUNG, T. M. Herbicide runoff along highways. 1. Field observations. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 38, n. 12, p. 3263-3271, 2004.

KARR-LILIENTHAL, L. K.; GRIESHOP, C. M.; MERCHEN, N. R.; MAHAN, D. C.; FAHEY, G. C. Chemical composition and protein quality comparisons of soybeans and soybean meals from five leading soybean-producing countries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 20, p. 6193-6199, 2004.

KING, C. A.; PURCELL, L. C.; VORIES, E. D. Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate-tolerant soybean in response to foliar glyphosate applications. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, n. 1, p. 179-186, 2001.

KOMOBA, D.; GENNITY, I.; SANDERMANN, H. Plant-metabolism of herbicides with C-P bonds - Glyphosate. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 43, n. 2, p. 85-94, 1992.

LANDRY, D.; DOUSSET, S.; FOURNIER, J. C.; ANDREUX, F. Leaching of glyphosate and AMPA under two soil management practices in Burgundy vineyards (Vosne-Romane'e, 21-France). **Environmental Pollution**, Dordrecht, v. 138, n. 2, p. 191-200, 2005.

LEAPER, C.; HOLLOWAY, P. J. Adjuvants and glyphosate activity. **Pest Management Science**, Chichester, v. 56, n. 4, p. 313-319, 2000.

MAMY, L.; GABRIELLE, B.; BARRIUSO, E. Comparative environmental impacts of glyphosate and conventional herbicides when used with glyphosate-tolerant and non-tolerant crops. **Environmental Pollution**, Dordrecht, v. 158, n. 10, p. 3172-3178, 2010.

MILLER, D. K.; SCROGGS, D. M.; CLAWSON, E. L.; LANCLOS, D. Y. Response of glyphosate-resistant soybean to glyphosate during reproductive development. **Weed Technology**, Lawrence, v. 22, n. 2, p. 359-362, 2008.

NALEWAJA, J. D.; DEVILLIERS, B.; MATYSIAK, R. Surfactant and salt affect glyphosate retention and absorption. **Weed Research**, Oxford, v. 36, n. *3,* p. 241-247, 1996.

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**, Washington, v. 55, n. 9, p. 3540-3545, 2007.

NELSON, K. A.; RENNER, K. A. Soybean growth and development as affected by glyphosate and postemergence herbicide tank mixtures. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, p. 428-434, 2001.

NORSWORTHY, J. K. Soil-applied herbicide use in wide- and narrow-row glyphosate-resistant soybean (Glycine max). **Crop Protection**, Amsterdam, v. 23, n. 12, p. 1237-1244, 2004.

REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 16, p. 5139-5143, 2004.

RIZZARDI, M.A., ROMAN, E.S., BOROWSKI, D.Z. e MARCON, R. Interferência de populações de *Euphorbia heterophylla* E *Ipomoea ramosissima* isoladas ou em misturas sobre a cultura de soja. **Planta Daninha**, Viçosa, v.22, n.1, p.29-34, 2004

_____; NANDULA, V. K. Aminomethylphosphonic acid accumulation in plant species treated with glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, n. 6, p. 2125-2130, 2008.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide, release 6.03**. Cary, NC: SAS Institute, 1988. 1028 p.

SHARMA, S. D.; SINGH, M. Effects of two surfactant series on the absorption and translocation of ^{14}C-glyphosate in sicklepod and prickly sida. **Weed Biology and Management**, Richmond, v. 7, n. 4, p. 219-225, 2007.

SIMONSEN, L.; FOMSGAARD, I. S.; SVENSMARK, B.; SPLIID, N. H. Fate and availability of glyphosate and AMPA in agricultural soil. **Journal of Environmental Science and Health Part B.**, Philadelphia, v. 43, n. 5, p. 365-375, 2008.

VEREECKEN, H. Mobility and leaching of glyphosate: a review. **Pest Management Science**, Chichester, v. 61, n. 12, p. 1139-1151, 2005.

VIEIRA, C. R.; CABRAL, L. C.; DE PAULA, A. C. O. Proximate composition and amino acid, fatty acid and mineral contents of six soybean cultivars for human consumption. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 7, p. 1277-1283, 1999.

WILES, P. G.; GRAY, I. K.; KISSLING, R. C. Routine analysis of proteins by Kjeldahl and Dumas methods: Review and interlaboratory study using dairy products. **Journal of AOAC International**, Gaithersburg, v. 81, n. 3, p. 620-632, 1998.

ZOBIOLE, L. H. S.; OLIVEIRA, R. S.; KREMER, R. J.; CONSTANTIN, J.; YAMADA, T.; CASTRO, C.; OLIVEIRA, F. A.; OLIVEIRA, A. Effect of glyphosate on symbiotic N-2 fixation and nickel concentration in glyphosate-resistant soybeans. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 44, n. 2, p. 176-180, 2010.

5 CONCLUSÕES GERAIS

Nas condições em que foi desenvolvida esta pesquisa, foi possível concluir que:

(i) No experimento em área de lisímetro, as formulações com adjuvantes aumentaram os resíduos de glyphosate na soja resistente ao glyphosate (SRG);

(ii) No experimento em área de lisímetro, mesmo se todos os resíduos fossem detectados como glyphosate nos experimentos realizados no Laboratório de Ecotoxicologia CENA/USP, o valor máximo em grãos seria de 1,95 mg kg-1, aproximadamente cinco vezes menor do que o Limite Máximo de Resíduos (LMR) permitido pela legislação brasileira de 10 mg kg^{-1};

(iii) Para todas as situações analisadas, não houve diferença significativa entre os tratamentos na produtividade, massa de 100 grãos, teor de óleo, conteúdo de proteína bruta e dos aminoácidos arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina e cisteína de grãos da soja resistente ao glyphosate (SRG);

(iv) Houve metabolismo de glyphosate em AMPA e translocação de ambos para os grãos da soja resistente ao glyphosate (SRG), exceto para os tratamentos Roundup Original e Roundup Ready, nos programas U20 (aplicação única aos 20 dias após a emergência - DAE na dose de 1,2 kg e.a glyphosate ha^{-1}) e S20 (aplicação sequencial aos 20 DAE na dose de 0,96 kg e.a glyphosate ha^{-1} e aos 35 DAE na dose de 0,72 kg e.a glyphosate ha^{-1}) do experimento E2;

(v) Os maiores níveis de resíduos de glyphosate nos tratamentos Roundup Original e Roundup Ready, nos programas U20 e S20 do experimento E2, são devido à presença de adjuvantes nas formulações de glyphosate e baixa produtividade de grãos;

(vi) O maior nível de resíduos de glyphosate encontrado (0,28 mg kg^{-1}) nos experimentos conduzidos na Fazenda Areão é menor do que o limite máximo de resíduos estabelecido pela legislação brasileira, 10 mg kg^{-1};

(vii) Há necessidades de pesquisas para testar a hipótese de absorção de AMPA pelas raízes de plantas das parcelas controle após a aplicação de AMPA diretamente no solo em parcelas adjacentes.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Sequência de tratos culturais e operações em E1

	Dia do mês																													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
Mês/Ano																															
DEZ/06													PL											EM							
JAN/07										DB	DB	DB	DB		0	AP	V4					0	AP	V6	IB			14	V9	AP	
FEV/07	IB		V10	21	14	AP		V11		R2	28	21	I+F						28		I+F										
MAR/07		R5	I+F																												
ABR/07				R7						R8								CO	CO		CO	CO									
MAI/07											CM																				

- Controle de pombas e lebres
- Aplicação 23 dae (U20 e 1a. S20)
- Aplicação 30 dae (U30 e 1a. S30)
- Aplicação 37 dae (2a. S20)
- Aplicação 44 dae (2a. S30)
- Pré-colheita (avaliação número de plantas)
- Avaliação de Plantas Daninhas

Vn Estágios de desenvolvimento vegetativo da cultura

Rn Estágios de desenvolvimento reprodutivo da cultura

PL - Plantio
EM - Emergência
DB - Desbaste
CP - Capina das subparcelas controle
IB - Inseticida biológico
I+F - Inseticida + Fungicida químico
CO - Colheita
CM - Colheita mecanizada

APÊNDICE B– Sequência de tratos culturais e operações em E2

	Dia do mês																													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
Mês/Ano																															
OUT/07																															PL
NOV/07						EM											DB	DB	DB	DB					V2	0	AP	I			
DEZ/07						V4	0	AP	V5	14	AP	I+F				V6	21		V7	14	AP		V8	28			21	I+F			
JAN/08		V10	28			R2					I+F																				
FEV/08																															
MAR/08																	R8									CO	CO	CO			
MAR/09																							CM								

- Controle de pombas e lebres
- Aplicação 21 dae (U20 e 1a. S20)
- Aplicação 32 dae (U30 e 1a. S30)
- Aplicação 35 dae (2a. S20)
- Aplicação 45 dae (2a. S30)
- Pré-colheita
- Avaliação de Plantas Daninhas
- Vn Estágios de desenvolvimento vegetativo da cultura
- Rn Estágios de desenvolvimento reprodutivo da cultura

PL - Plantio
EM - Emergência
DB - Desbaste
CP - Capina das subparcelas controle
I - Inseticida
I+F - Inseticida + Fungicida químico
CO - Colheita
CM - Colheita mecanizada