

PAULO CÉSAR DE OLIVEIRA

TRANSLOCAÇÃO E METABOLISMO DO INSETICIDA VA-
MIDOTHION EM PLANTAS DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.) E
FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)

Dissertação apresentada à Escola Superior
de Agricultura de Lavras, como parte das
exigências do curso de Pós-Graduação em
Agronomia, área de Concentração
em Fitossanidade para obtenção do grau
de "MESTRE".

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS
LAVRAS - MINAS GERAIS

1991

Ab Professor César,
pela amizade e ajuda
meios transunidos.


PAULO CÉSAR DE OLIVEIRA

TRANSLOCAÇÃO E METABOLISMO DO INSETICIDA VA-
MIDOTHION EM PLANTAS DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.) E
FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)

Dissertação apresentada à Escola Superior
de Agricultura de Lavras, como parte das
exigências do curso de Pós-Graduação em
Agronomia, área de Concentração
em Fitossanidade para obtenção do grau
de "MESTRE".

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS

LAVRAS - MINAS GERAIS

1991

TRANSLOCAÇÃO E METABOLISMO DO INSETICIDA VAMIDOTHION EM PLANTAS
DE TRIGO (Triticum aestivum L.) E FEIJÃO
(Phaseolus vulgaris L.)

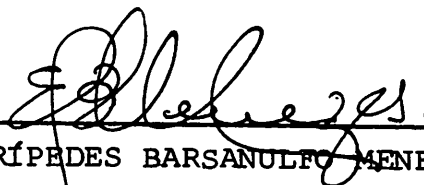
APROVADA:



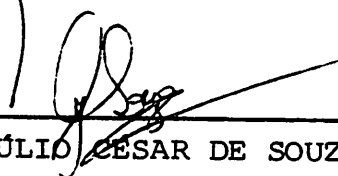
RENÊ LUIZ DE OLIVEIRA RIGITANO
Orientador



LUIZ ONOFRE SALGADO



EURÍPEDES BARSANULFO MENEZES



JÚLIO CÉSAR DE SOUZA

O DÉCIMO PRIMEIRO MANDAMENTO

HERDARÁS o solo sagrado e a fertilidade será transmitida de geração em geração, protegerás os seus campos contra a erosão e tua floresta contra a desolação, impedirás que tuas fontes sequem e que teus campos sejam devastados pelo gado, para que teus descendentes tenham abundância para sempre. Se falhares, ou alguém depois de ti, na eterna vigilância de tuas terras, teus campos abundantes se transformarão em solo estéril e pedregoso ou em grotões áridos, teus descendentes serão cada vez menos numerosos, viverão miseravelmente e serão eliminados da face da terra.

WALTER CLYLOWDERMILK.

A minha esposa Juliane,

Ao meu filho Thiago,

e meus irmãos

Elias (In Memoriam),

Salete, Beth e Ronaldo

OFEREÇO

A José Vitor, meu pai, e Conceição,
minha mãe, pelo carinho e amor transmi-
tidos ao longo desses anos,

A esses dedico meu trabalho.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pelas maravilhas que nos revelastes.

A meus pais que, na sua humildade e honestidade se sacrificaram para educar-me condignamente.

A ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS e ao DEPARTAMENTO DE FITOSSANIDADE pela oportunidade da realização do curso de pós-graduação.

Ao professor Renê Luiz de Oliveira Rigitano, orientador dessa dissertação e autor da idéia que originou esse trabalho, pela orientação dedicada e competente, pela amizade, pela compreensão e pelo amor a profissão.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudos concedida.

Aos professores César, Luiz Onofre, Vanda e demais professores do Departamento de Fitossanidade pela amizade e ensinamentos transmitidos.

Aos amigos laboratoristas Ailton e Rhandus pela preciosa colaboração na execução das análises e à funcionária Maria de Lourdes por vários serviços prestados.

Aos colegas de mestrado: Bernadete M. de Souza, Paulo Marcos, Jair Campos de Moraes, Paulo A.S. Gonçalves, pela amizade e companheirismo.

Aos amigos Raimundo José de Souza, Mauro Ribeiro de Carvalho, Paulino Pereira e José Emílio pela longa e sincera amizade.

Ao meu sogro Criso e minha sogra Darci pelos incentivos transmitidos.

Ao biblioteconomista Antonio Máximo de Carvalho pela amizade e correções das citações bibliográficas.

Aos muitos que aqui estão anônimos, mas que sabem de minha gratidão, pela ajuda oportuna durante todos os momentos desse curso.

BIOGRAFIA DO AUTOR

PAULO CÉSAR DE OLIVEIRA, filho de José Vitor de Oliveira e Conceição da Silva Oliveira, brasileiro, nascido aos 22 de fevereiro de 1959, na cidade de Lavras-MG.

Formou-se em Engenharia Agrônômica, pela Escola Superior de Agricultura de Lavras-MG, em 17/12/83.

No período de agosto de 1985 a março de 1987, trabalhou como Promotor Técnico na Indústria e Comércio Guarani S.A., fabricante de implementos agrícolas.

Em março de 1987, iniciou o curso de Pós-Graduação em Fitossanidade, área de concentração Entomologia, no Departamento de Fitossanidade da Escola Superior de Agricultura de Lavras.

Contratado pela Empresa Biogalênica Química e Farmacêutica Ltda. (Grupo Ciba Geigy) para trabalhar no Setor de Analítica de Resíduos de Defensivos em outubro de 1989.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Transporte de água e solutos nas plantas	4
2.2. Fatores que afetam a absorção e translocação de pesticidas nas plantas	6
2.2.1. Absorção pelas raízes e subsequente trans- porte para a parte aérea	6
2.2.1.1. Compostos não-ionizáveis	6
2.2.1.2. Compostos ionizáveis (ácidos fra- cos)	9
2.2.2. Translocação no floema	11
2.2.2.1. Compostos não-ionizáveis	11
2.2.2.2. Compostos ionizáveis (ácidos fra- cos)	15
2.2.3. Absorção e penetração cuticular após apli- cação na folhagem	16
2.3. Metabolismo e translocação do inseticida vamido- thion em plantas	18

3. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1. Padrões analíticos de vamidothion, sulfóxido de vamidothion e sulfona de vamidothion	22
3.2. Determinação dos coeficientes de partição entre octanol e água (K_{ow}) para vamidothion e seus pro- dutos de oxidação	23
3.3. Translocação e metabolismo de vamidothion em plan- tas de feijão	23
3.3.1. Aplicação via injeção no pecíolo	24
3.3.1.1. Translocação na planta	25
3.3.1.2. Distribuição na folha tratada ...	26
3.3.2. Aplicação na superfície das folhas	26
3.4. Translocação e metabolismo de vamidothion em plan- tas de trigo	28
3.4.1. Penetração foliar e subsequente transloca- ção nas plantas	28
3.4.2. Translocação na folha tratada	30
3.5. Estabilidade de vamidothion aplicado sobre lâmi- nas de vidro	31
3.6. Métodos analíticos	32
3.6.1. Materiais, solventes, reagentes e equipa- mentos utilizados	33
3.6.1.1. Materiais	33
3.6.1.2. Solventes e reagentes	33
3.6.1.3. Equipamentos	34

3.6.2. Quantificação conjunta de vamidothion e seus produtos de oxidação	35
3.6.2.1. Extração dos compostos	35
3.6.2.2. Purificação do extrato e oxidação dos compostos	35
3.6.2.3. Cromatografia de camada delgada .	36
3.6.2.4. Cromatografia gás-líquido	38
3.6.3. Quantificação individual de vamidothion e de seus produtos de oxidação	39
3.6.3.1. Determinação dos fatores de retenção (RF) dos compostos nas placas de cromatografia de camada delgada	40
3.6.3.2. Separação e quantificação dos compostos nas amostras	41
3.6.4. Determinação de vamidothion em amostras não vegetais	42
3.6.5. Eficiência dos métodos analíticos	43
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1. Coeficientes de partição de vamidothion, sulfóxido e sulfona de vamidothion entre octanol e água	45
4.2. Eficiência dos métodos analíticos	46
4.3. Estabilidade de vamidothion sobre lâminas de vidro	48

4.4. Translocação e metabolismo de vamidothion em plantas de feijão	50
4.4.1. Aplicação via injeção no pecíolo	50
4.4.2. Aplicação na superfície das folhas	57
4.5. Translocação e metabolismo de vamidothion em plantas de trigo	59
4.5.1. Penetração de vamidothion nas folhas	59
4.5.2. Translocação na planta	61
4.6. Considerações finais	65
5. CONCLUSÕES	68
6. RESUMO	70
7. SUMMARY	73
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Valores de coeficiente de partição entre octanol e água, expressos na forma logarítmica, para vamidothion, sulfóxido e sulfona de vamidothion ..	45
2	Eficiência do método analítico empregado na determinação conjunta de vamidothion e de seus produtos e oxidação em folhas de feijão e trigo. Valores expressos em termos de porcentagem de recuperação dos compostos em amostras fortificadas	47
3	Eficiência do método analítico empregado na determinação individual de vamidothion e de seus produtos de oxidação em folhas de feijoeiro. Valores expressos em termos de porcentagem de recuperação dos compostos em amostras fortificadas .	48
4	Distribuição do vamidothion e de seus produtos de oxidação, conjuntamente analisados, em plantas de feijão, após a injeção de vamidothion no pecíolo da primeira folha trifoliolada	51

Tabela

Página

5	Distribuição de vamidothion e de seus produtos de oxidação, analisados separadamente, em plantas de feijão após a injeção de vamidothion no pecíolo da primeira folha trifoliata	55
6	Distribuição de vamidothion e de seus produtos de oxidação, conjuntamente analisados, nos folíolos da primeira folha trifoliolada de plantas de feijão, após a injeção de vamidothion no pecíolo ..	56
7	Distribuição de vamidothion e de seus produtos de oxidação, conjuntamente analisados, em plantas de trigo após a aplicação de vamidothion na superfície da terceira folha	62
8	Distribuição de vamidothion e de seus produtos de oxidação, conjuntamente analisados, no limbo da terceira folha de plantas de trigo, após a aplicação de vamidothion na região mediana do limbo ...	64

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Metabolismo de vamidothion em plantas	19
2	Decréscimo na quantidade de vamidothion, aplicado sobre lâminas de vidro em condições de casa-de-vegetação.....	49
3	Degradação de vamidothion em plantas de feijão.....	54
4	Penetração de vamidothion em folhas de feijoeiro.	58
5	Penetração de vamidothion em folhas de trigo ...	60
6	Degradação de vamidothion em plantas de trigo ..	65

1. INTRODUÇÃO

O controle de insetos prejudiciais às plantas cultivadas tem sido feito principalmente através do uso de substâncias químicas com propriedades inseticidas. Contudo, a maioria dessas substâncias afeta não somente os insetos pragas, mas também os insetos predadores ou parasitóides de outros insetos, os quais regulam as populações dos insetos pragas. Assim sendo, o uso de inseticidas no controle de pragas frequentemente acarreta o ressurgimento da praga em altos níveis e a ocorrência de surtos de pragas secundárias, devido a eliminação dos inimigos naturais.

A eliminação de inimigos naturais leva a necessidade de aumentar o número de aplicações para debelar os surtos populacionais subsequentes, o que pode levar a um agravamento do problema. Como exemplo tem-se o desenvolvimento de resistência das pragas aos inseticidas e também a questão de resíduos dos inseticidas nos produtos agrícolas e no ambiente, já que muitos inseticidas são tóxicos ao ser humano e aos animais domésticos ou silvestres.

O controle dos pulgões em cultura do trigo no Brasil tem sido feito predominantemente com o emprego do inseticida monocrotofós. Trata-se de um composto muito tóxico para mamíferos e que afeta drasticamente as populações de inimigos naturais (VAN DEN BOSCH & MESSENGER, 1973; GASSEN, 1983). No sul do país, a aplicação desse produto é normalmente feita a cada 10 dias para se ter um bom controle dos pulgões. A necessidade de aplicação a intervalos tão curtos provavelmente decorre da eliminação dos inimigos naturais e também do fato do produto não translocar, através do floema, das folhas mais velhas para aquelas mais novas, as quais são preferidas pelos pulgões. A utilização de compostos que sejam transportados eficientemente nas plantas, via floema, poderia resultar em proteção das plantas por um tempo relativamente longo após a aplicação. Assim sendo, o número de pulverizações seria reduzido, resultando em menor impacto sobre os inimigos naturais, além de diminuir os custos da produção.

Infelizmente, são raríssimos os inseticidas que translocam nas plantas juntamente com a seiva elaborada, através dos vasos do floema. Um exame da literatura sobre a translocação de inseticidas em plantas revela que, via de regra, os inseticidas sistêmicos translocam apenas na direção ascendente, juntamente com a seiva bruta, através do sistema de vasos lenhosos do xilema.

A EMPRESA produtora do inseticida vamidothion (KILVAL) advoca que este é translocado bidirecionalmente nas plantas, implicando em transporte tanto no xilema quanto no floema. Trata-se de um composto de natureza polar e sua translocação no

floema é realmente esperada, pois, alguns trabalhos têm demonstrado que compostos polares, e apenas esses, mostram mobilidade no floema. No caso da translocação do vamidothion no floema ser comprovadamente eficiente, esse inseticida poderá substituir com vantagens outros inseticidas atualmente utilizados na cultura do trigo ou até mesmo em outras culturas.

O presente trabalho foi conduzido com os seguintes objetivos:

a) Investigar a translocação do inseticida vamidothion em plantas de trigo e feijão.

b) Determinar a taxa de degradação desse inseticida nessas plantas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Transporte de água e solutos nas plantas

O movimento de água e solutos no interior das plantas acontece em grande parte via duas rotas. A primeira consiste no contínuo extra-protoplasmaico (apoplasto) da planta, incluindo transferência a curta distância através dos espaços intercelulares e a longa distância através dos vasos do xilema. A segunda rota consiste no contínuo citoplasmático (simplasto) da planta, onde o movimento a curta distância, de célula a célula, ocorre via plasmodesmata, e a longa distância através das células crivadas do floema (CRAFTS & CRISP, 1971; PATE, 1975; MOORBY, 1981).

Os vasos do xilema consistem de células mortas formando longos tubos ininterruptos, que transportam água e solutos das raízes às folhas. O efeito de sucção causado pela transpiração na superfície da folha é a principal força motriz para o transporte no xilema. É geralmente admitido que o movimento de água e solutos na epiderme e cortex da raiz ocorre predominantemente, por fluxo de massa e difusão, através dos espaços intercelulares

(apoplasto). Porém, a água e solutos absorvidos pela raiz têm que atravessar a endoderme antes de chegar até os vasos do xilema. As paredes das células da endoderme, na região de contato entre elas, são espessas e impermeáveis devido a deposição adicional de suberina e lignina (estria ou cinta de Caspary). Consequentemente, água e solutos não podem atingir os vasos do xilema nas raízes pelo caminho exclusivamente apoplástico mas, têm que se mover no simplasto das células da endoderme (RICHARDSON, 1976; BROMILOW et alii. 1986).

O mecanismo de transporte de água e solutos no floema é ainda muito investigado. A teoria proposta por Munch, em 1930 para explicar o movimento de água e solutos nesse sistema ainda prevalece (RICHARDSON, 1976; CHRIST, 1979). De acordo com essa teoria, os açúcares sintetizados nas folhas (folhas desenvolvidas) entram nas células do floema por um mecanismo ativo contra um gradiente de concentração. O plasmalema das células do floema é suposto ser semi-permeável e assim a água se move para dentro do floema devido a um gradiente osmótico, gerando uma alta pressão hidrostática nas células do floema. Ao mesmo tempo, em outras regiões da planta, a pressão hidrostática é diminuída, uma vez que os açúcares são removidos para crescimento ou armazenamento. Dessa forma há um fluxo de água e solutos via floema para frutos e tecidos em desenvolvimento.

Com base no conceito simplasto-apoplasto para definir a translocação de solutos em plantas, CRISP (1972) definiu um pesticida simplástico, como aquele que é absorvido pela planta, atravessa o plasmalema entrando no simplasto vivo, difunde de uma

célula para outra através do plasmodesmata e se movimenta a longa distância juntamente com a corrente de assimilados no floema para outras áreas da planta. Ele definiu como um pesticida apoplástico, aquele que pode ser absorvido pela planta e é quase exclusivamente transportado pela corrente de transpiração no contínuo apoplasto. PETERSON & EDGINGTON (1976) utilizam o termo "ambimóvel" para pesticidas que podem ser transportados em ambos sistemas.

2.2. Fatores que afetam a absorção e translocação de pesticidas nas plantas

2.2.1. Absorção pelas raízes e subsequente transporte para a parte aérea

2.2.1.1. Compostos não-ionizáveis

A grande maioria dos inseticidas e fungicidas compreende compostos químicos que não se dissociam (ionizam) em água. Vários estudos têm demonstrado que a translocação de produtos químicos não-ionizáveis para a parte aérea das plantas, após absorção pelas raízes, é afetada pela lipofilicidade dos compostos (SHONE & WOOD, 1974; BRIGGS et alii, 1982).

A eficiência de translocação de pesticidas para as folhas, após absorção pelas raízes dos compostos dissolvidos em solução nutritiva, tem sido convenientemente descrita pelo Fator

de Concentração na Corrente Transpiratória, o qual é definido como:

$$\text{TSCF} = \frac{\text{Concentração na Corrente Transpiratória}}{\text{Concentração na solução nutritiva}}$$

A concentração dos compostos na corrente transpiratória é usualmente medida indiretamente medindo-se a quantidade do composto acumulada na parte aérea e o volume de água perdido por transpiração. O TSCF possui valor máximo de 1,0 para absorção passiva e é independente do tempo.

SHONE & WOOD (1974) investigaram a acumulação nas raízes e a translocação para a parte aérea de alguns herbicidas não-ionizáveis em plantas de cevada, tendo constatado que o grau de acumulação dos compostos nas raízes e a eficiência de transporte para as folhas (medida como TSCF) foram correlacionados com o coeficiente de partição dos compostos entre óleo de oliva e água.

Usando séries de compostos feniluréias e O-metilcarbamoiloximas, abrangendo uma ampla faixa de lipofilicidade, determinada através do $\log K_{ow}$ (logarítimo do coeficiente de partição entre octanol e água), BRIGGS et alii (1976) e posteriormente BRIGGS et alii (1982) identificaram em maiores detalhes o efeito da lipofilicidade de compostos não-ionizáveis sobre a sua acumulação nas raízes e subsequente translocação para a parte aérea em plantas de cevada. Esses autores observaram uma correlação direta entre o grau de acumulação dos compostos nas raízes e o valor de $\log K_{ow}$, implicando que essa acumulação é principalmente devida à adsorção (partição) dos compostos nos constituintes sólidos lipofílicos das raízes. A eficiência de translocação dos

compostos foi máxima para compostos com $\log K_{ow}$ entre 1,5 e 2,5, os quais foram translocados com eficiência próxima àquela da água (TSCF $\sim 1,0$). Compostos mais polares ($\log K_{ow} < -0,5$) ou muito lipofílicos ($\log K_{ow} > 4,0$) foram translocados para as folhas com eficiência muito baixa, apesar da concentração dos compostos lipofílicos nas raízes ser muito alta. Os autores atribuíram esses resultados a maior permeabilidade das membranas das células da endoderme das raízes a compostos com $\log K_{ow} \approx 2,0$. A permeabilidade das membranas celulares a compostos mais polares ou muito lipofílicos sendo baixa, resulta em baixa eficiência de translocação para as folhas, pois os compostos têm que atravessar as membranas das células da endoderme para atingirem os vasos do xilema. Outros trabalhos independentes também demonstraram uma estreita correlação entre lipofilicidade de compostos e a sua taxa de permeação através de membranas celulares a esses (COLLANDER, 1959; PETERSON et alii, 1978).

BRIGGS et alii (1982), observaram que compostos de natureza química diferente, porém com lipofilicidade semelhante, tiveram eficiência de translocação das raízes para as folhas também semelhante. Esses autores utilizaram plantas de cevada em seus estudos, porém, ao examinar os resultados obtidos por outros autores, com outros compostos e outras espécies de plantas, foi confirmado que compostos com $\log K_{ow}$ semelhante apresentam eficiência semelhante de translocação, independente da natureza química do composto e da espécie da planta. Esses estudos foram realizados, aplicando-se os compostos na solução nutritiva onde as plantas se desenvolviam.

BRIGGS (1984) postulou que a absorção de compostos quando aplicados no solo é esperada ser menos eficiente em comparação com a aplicação em solução nutritiva, devido à adsorção dos compostos (especialmente aqueles lipofílicos) na matéria orgânica do solo. Assim, compostos mais lipofílicos ($\log K_{ow} > 3,5$) não mostram ação sistêmica quando aplicados no solo devido a baixa permeabilidade das membranas celulares a esses compostos e devido à acentuada adsorção desses compostos na matéria orgânica do solo. Esse autor também postulou que, em função da adsorção dos compostos lipofílicos pela matéria orgânica do solo, a eficiência de translocação para as folhas é máxima para compostos com $\log K_{ow}$ entre 1 e 1,5.

2.2.1.2. Compostos ionizáveis (ácidos fracos)

Conforme mencionado anteriormente, a grande maioria dos inseticidas e fungicidas não sofre dissociação (ionização) em água, não se caracterizando portanto como compostos ácidos fracos. No entanto, muitos herbicidas são passíveis de sofrerem dissociação (ionização) em água (Exemplos: 2,4-D, picloran, etc.). O grau de ionização desses compostos ácidos fracos depende da constante de ionização do composto (pK_a) e do pH da solução (BRIGGS et alii, 1987).

SHONE & WOOD (1974) estudaram a absorção de vários herbicidas ácidos fracos em raízes de cevada e observaram que a acumulação de 2,4-D nas raízes variou em função do pH da solu-

ção nutritiva. A concentração de 2,4-D nas raízes foi 88 ou 8 vezes maior que na solução nutritiva mantida a pH 4,0 ou 6,5, respectivamente.

BRIGGS et alii (1987) estudaram a absorção pelas raízes e subsequente translocação de vários compostos ácidos fracos para folhas de cevada. Os autores confirmaram os resultados obtidos por SHONE & WOOD (1974), tendo constatado um aumento na acumulação dos compostos nas raízes com a diminuição do pH da solução nutritiva. BRIGGS et alii (1987) observaram que, ao contrário dos compostos não ionizáveis, os ácidos fracos acumulam no protoplasma das células das raízes (contra um gradiente de concentração) e não nos constituintes sólidos. A acumulação dos compostos no interior das células contra um gradiente de concentração foi atribuída ao mecanismo de armadilha de íons proposto por EDGINGTON (1981). De acordo com esse mecanismo, a entrada de ácidos fracos nas raízes ocorre principalmente por difusão das formas não ionizadas do ácido, as quais penetram as membranas muito mais rapidamente que as respectivas formas ionizadas. Uma vez dentro das células, a dissociação ocorre em mais alto grau ($> \text{pH}$) e, como os ânions (muito polares) atravessam as membranas muito vagarosamente, ocorre acumulação dos ácidos fracos no interior das células, quando o pH da solução nutritiva é muito menor que aquele do interior das células. A magnitude dessa acumulação pode ser predita conhecendo-se parâmetros físico-químicos tais como o pK_a do ácido, o pH no interior das células e na solução nutritiva e a razão de permeabilidade das membranas às formas ionizada e não-ionizada do ácido. BRIGGS et alii (1987) observaram que os

níveis de acumulação de vários compostos ácidos fracos em raízes de cevada foram muito próximos a aqueles previstos pelo mecanismo denominado armadilha de íons.

2.2.2. Translocação no floema

2.2.2.1. Compostos não-ionizáveis

Um exame da literatura sobre a ação sistêmica de pesticidas, revela que a grande maioria dos inseticidas e fungicidas sistêmicos transloca apenas na direção ascendente nas plantas, através dos vasos do xilema, juntamente com a corrente de transpiração.

CRISP (1972), sugeriu que, aqueles compostos que não translocam no floema são incapazes de atravessar as membranas celulares e portanto incapazes de penetrar nas células do floema. Contudo, vários estudos independentes têm demonstrado que muitos compostos que não translocam no floema são capazes de penetrar o simplasto livremente. DONALDSON et alii (1973) observaram que o herbicida monuron, o qual reconhecidamente não transloca no floema, foi capaz de penetrar no interior das células das raízes de cevada, com a concentração do composto no interior das células sendo similar àquela na solução nutritiva. PETERSON & EDIGINGTON (1976) examinaram a absorção de vários pesticidas apoplásticos por pedaços de tubérculo de batata e encontraram que, os compostos di

fundem rapidamente para o interior das células, atingindo a mesma concentração no interior das células como na solução nutritiva. A questão levantada após esta descoberta foi: se alguns pesticidas apoplásticos estão presentes no simplasto da planta, porque eles não exibem mobilidade no simplasto? PETERSON & EDGINGTON (1976) sugeriram que esses compostos não são retidos no simplasto e, visto que o transporte na corrente de transpiração no apoplasto é muito mais rápido (e geralmente ocorre em direção oposta), o pesticida tende a se movimentar na direção da corrente de transpiração.

PETERSON et alii (1978), observaram algum transporte do inseticida-nematicida oxamil a partir de folhas maduras para outras partes da planta de batata (incluindo ápice, raízes e outras folhas maduras) e explicaram esse transporte como sendo devido a um lento movimento de oxamil através das membranas celulares. Os autores sugeriram que uma vez no interior do floema das folhas o oxamil é retido no floema por um tempo suficientemente longo que permite o seu transporte para outras partes da planta juntamente com os assimilados.

Em um trabalho subsequente, TYREE et alii (1979), denominaram esta idéia como sendo a "Hipótese da permeabilidade intermediária" e fizeram algumas suposições teóricas para explicar a mobilidade no floema de compostos não-ionizáveis, com base em suas taxas de permeação através das membranas celulares. Foi sugerido que, há uma permeabilidade ótima que permite translocação tanto no simplasto como no apoplasto (incluindo floema e xilema). De acordo com os autores, a permeabilidade ótima deve ser sufici-

entamente grande para permitir substancial permeação ao composto para o interior das células do floema nas folhas mas, essa permeabilidade deve ser também pequena o bastante para que o composto seja retido e transportado no floema.

COLLANDER (1959), trabalhando com células da alga Nitella mucronata, concluiu que a taxa de movimento de um composto através da membrana celular está correlacionada com seu coeficiente de partição, entre óleo e água. Conforme mencionado anteriormente, BRIGGS et alii (1976), demonstraram que a translocação de compostos não-ionizáveis das raízes para as folhas de cevada é governada pela lipofilicidade dos compostos, com a eficiência de translocação (como TSCF) sendo muito baixa para compostos polares ($\log K_{ow} < 0$) e máxima para compostos com $\log K_{ow}$ ao redor de 2,0. Essas observações levaram PETERSON et alii (1978), e subsequentemente EDGINGTON (1981), a postular que outros compostos polares não-ionizáveis, além do oxamil, deveriam também ter baixas taxas de permeação através das membranas e assim satisfazer os requerimentos da hipótese da permeabilidade intermediária de translocação de xenobióticas no floema.

BROMILOW et alii (1987) evidenciaram essa hipótese e estabeleceram uma correlação entre a lipofilicidade dos compostos (em termos de $\log K_{ow}$) e sua retenção nos vasos do floema. Usando plantas de mamona (Ricinus communis), das quais é possível coletar seiva elaborada através de incisões feitas no caule, esses autores mediram a retenção de uma série de compostos nos vasos do floema, entre as lâminas foliares e caule. Foi observado que a retenção no floema diminuiu de 70% para compostos com

$\log K_{ow} < -0,5$ até 9% para compostos com $\log K_{ow} \approx 2,0$. Esses resultados evidenciaram que os compostos sistêmicos são continuamente reciclados do floema para o xilema, com esse processo ocorrendo nas folhas (ou próximo a elas) para compostos com $\log K_{ow} \approx 2,0$, aos quais as membranas têm alta permeabilidade, ou então, no pecíolo, caule e raízes para os compostos polares ($\log K_{ow} < 0$), os quais escapam mais lentamente dos vasos do floema. Assim sendo, apenas os compostos polares, devido a sua baixa permeação através das membranas, são suficientemente retidos nos vasos do floema para serem transportados das folhas para outras partes das plantas. Essa correlação entre a permeabilidade das membranas e a lipofilicidade do composto está de acordo com a explicação de BRIGGS et alii (1982) para a variação na eficiência de translocação dos compostos das raízes para as folhas.

BROMILOW et alii (1987) observaram que, mesmo para os compostos que melhor translocaram no floema, a quantidade dos compostos retida nas raízes após a aplicação nas folhas foi muito baixa, indicando que esses compostos eventualmente escapam do floema e retornam para as folhas através do xilema. Foi comprovado, por exemplo, que a aplicação de sulfona de aldicarbe ($\log K_{ow} = -0,57$) em apenas uma das folhas maduras, resultou após 48 h no transporte de cerca de 10% da dose aplicada para a folha madura oposta, a qual não foi tratada.

2.2.2.2. Compostos ionizáveis (ácidos fracos)

Ao contrário dos inseticidas e fungicidas, muitos herbicidas translocam eficientemente no floema, como por exemplo: 2,4-D; picloran; 2,4,5-T, etc. CRISP (1972) observou que os herbicidas com essa propriedade eram ácidos fracos e sugeriu que apenas os compostos com um radical ácido carboxílico ($R-COOH$) mostrariam mobilidade no floema. Ele também sugeriu que a incorporação do grupo carboxílico na molécula de um pesticida resultaria em mobilidade no floema, tendo denominado essa idéia como "hipótese da ativação ácida".

EDGINGTON (1981) atribuiu o eficiente transporte de compostos ácidos fracos no floema a um mecanismo chamado armadilha de íons. De acordo com esse mecanismo, no apoplasto ($pH \sim 5,5$) os ácidos fracos são apenas parcialmente ionizados. A forma não dissociada difunde facilmente através do plasmalema e penetra os vasos do floema. No interior dos vasos ($pH \sim 8,0$), os ácidos encontram-se extensivamente ionizados. Visto que os ânions não atravessam facilmente a membrana lipofílica, os ácidos fracos são retidos e transportados no floema em sua forma ionizada. Esse mecanismo também prevê a acumulação de ácidos fracos nos vasos do floema. RIGITANO et alii (1987) estudaram a acumulação e translocação de ácidos fracos no floema em plantas de mamona e apresentaram fortes evidências para essa teoria. A acumulação dos compostos nos vasos do floema pode ser predita conhecendo-se parâmetros tais como o pK_a do ácido e a permeabilidade das membranas ce

lulares às formas ionizada e não-ionizada dos ácidos.

2.2.3. Absorção e penetração cuticular após aplicação na folhagem

A superfície das folhas é coberta por uma fina camada de natureza predominantemente lipofílica, a cutícula, a qual consiste de uma complexa matriz polimérica contendo lipídios extraíveis por solventes. Alguns trabalhos têm demonstrado que a cutícula atua como uma barreira à penetração de pesticidas nas folhas, embora a eficiência dessa barreira seja muito variável em função do composto químico e da espécie vegetal.

STEVENS & BAKER (1983) mediram a absorção de 15 diferentes compostos pelas folhas de várias espécies vegetais, com ou sem a adição do surfactante NP8. Seus estudos mostraram que a absorção dos compostos foi relacionada com a lipofilicidade e com o tamanho das moléculas. A penetração foi máxima para compostos com $\log K_{ow} \sim 1,0$, excetuando-se aqueles com peso molecular acima de 250, indicando que o tamanho molecular limita a penetração dos compostos nas folhas.

CHAMBERLAIN et alii (1987) estudaram a absorção por folhas de cevada de uma série de carbamoiloximas e feniluréias, abrangendo valores de $\log K_{ow}$ entre -0,5 e 3,7. Esses autores observaram que na ausência do surfactante NP8, a penetração cuticular foi rápida para compostos com $\log K_{ow}$ entre 1,0 e 3,0. Na pre

sença do surfactante, as taxas de penetração foram altas para compostos com $\log K_{ow}$ entre -0,5 e 2,0, com os compostos sendo rapidamente transportados do local de aplicação pelo fluxo do xilema. Para compostos mais lipofílicos ($\log K_{ow} > 2,5$), a taxa de penetração diminuiu e a retenção no local de aplicação aumentou com o aumento na lipofilicidade, embora a técnica experimental não tenha permitido distinguir entre retenção no tecido foliar ou na cutícula.

A penetração cuticular de compostos polares ($\log K_{ow} < 0$) tem sido observada em vários estudos e isso tem levado a sugestões de duas vias de entrada de compostos para o interior das folhas. SCHONHERR (1978) identificou dois componentes na cutícula, os quais podem estar arranjados em série ou em paralelo. Segundo o autor, no arranjo em paralelo ocorre a presença de microporos na cutícula, os quais apresentam-se como rota alternativa para a penetração de compostos polares ou não. O autor concluiu ainda que em Citrus, o raio desses poros é 0,45 nm.

A função dos estômatos como rota para entrada de pesticidas nas folhas tem sido investigada. TAYLOR et alii (1980) observaram que a absorção de alguns herbicidas foi maior quando os estômatos estavam abertos e menor em condições de calor excessivo, seca, quando os estômatos estão fechados. De acordo com os autores, a absorção através das câmaras estomatais (livre de ceras) pode ser a principal rota na absorção do composto bentazone em Chenopodium album. Tal rota de penetração pode explicar a entrada de compostos polares nas folhas, vencendo a barreira essencialmente lipofílica imposta pela cutícula.

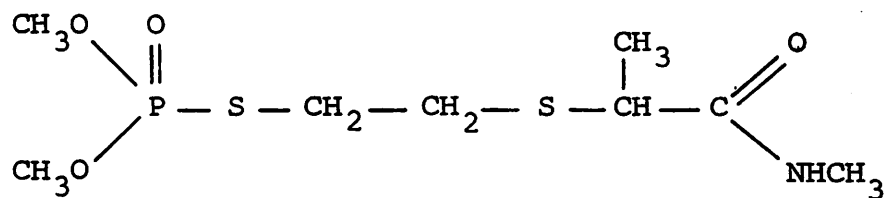
2.3. Metabolismo e translocação do inseticida vamidothion em plantas

O inseticida vamidothion é um composto organofosforado com reconhecida atividade sistêmica em plantas. No Brasil, esse inseticida tem sido comercializado em formulação concentrado emulsionável (KILVAL 300 CE - 300 g de vamidothion/l), a qual tem sido empregada em várias culturas, principalmente para o controle de pulgões e cochonilhas.

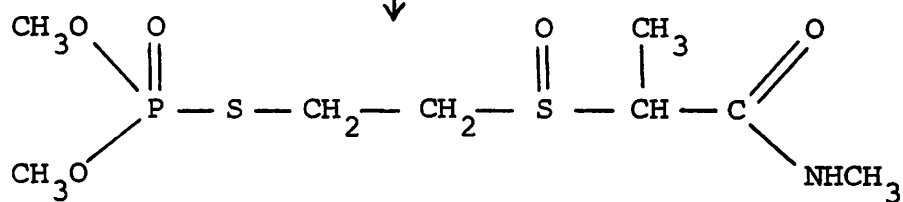
A exemplo de outros inseticidas tioéteres ($R_1 - S - R_2$), tem sido demonstrado que o vamidothion é extensivamente oxidado à forma sulfóxido no interior das plantas. O metabólito sulfona de vamidothion também tem sido encontrado em plantas, embora em quantidades muito baixas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1974). Um esquema dessas transformações é mostrado na Figura 1.

A transformação de vamidothion a sulfóxido de vamidothion não caracteriza um processo de degradação do composto, visto que as formas sulfóxido e sulfona dos inseticidas organofosforados tioéteres têm, em geral, propriedades inseticidas tão ou mais pronunciadas que aquelas do composto original (MATSUMURA, 1980).

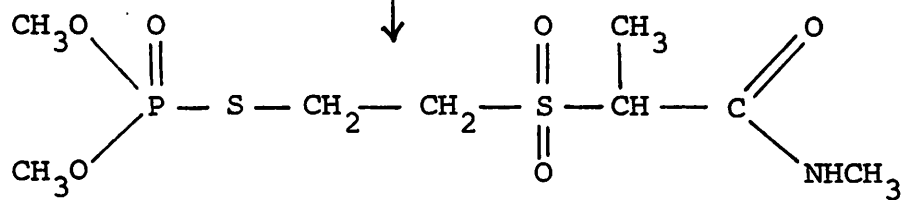
A degradação de vamidothion em compostos inativos no interior das plantas ocorre de forma relativamente lenta, com valores de meia-vida de degradação entre 6 e 20 dias (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1974).



vamidothion



sulfóxido de vamidothion



sulfona de vamidothion

FIGURA 1 - Metabolismo de vamidothion em plantas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1974).

Em um folheto elaborado pela Empresa RHODIA AGRO S.A. para divulgação do produto KILVAL 300 CE, é mencionado que o inseticida vamidothion é transportado bidirecionalmente no interior das plantas, implicando em transporte no xilema e no floema. Contudo, consultando a literatura em busca de trabalhos sobre metabolismo e translocação do vamidothion em plantas (incluindo consulta feita através do Programa de Levantamento Bibliográfico da EMBRAPA) não foi encontrado qualquer trabalho publicado sobre esse assunto. Em consulta feita à Rhodia Agro S.A. para a obtenção de trabalhos sobre metabolismo e translocação do vamidothion em plantas, obteve-se como resposta que os trabalhos foram em geral conduzidos por técnicos da companhia no exterior, sem contudo terem sido publicados. De fato, uma monografia elaborada pela Organização Mundial de Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1974) sobre vários pesticidas, incluindo o vamidothion, observa-se que quase todas referências citadas são relativas a trabalhos não publicados.

O inseticida vamidothion é esperado ser bastante polar, em virtude de sua alta solubilidade em água, ou seja, 4 kg/l, WORTHING (1983). De fato, calculando-se o coeficiente de partição do vamidothion entre octanol e água (K_{ow}), com base na equação de BRIGGS (1981):

$$\log K_{ow} = -\log WS - 0,01 (T_{mp} - 25)$$

[onde WS é a solubilidade em água (moles/l) e T_{mp} é a temperatura ($^{\circ}\text{C}$) do ponto de fusão do composto], o valor de $\log K_{ow}$ obtido é -0,92, o que confirma a natureza polar do composto. O valor de $\log K_{ow}$ para sulfóxido de vamidothion não pode ser calculado

por falta de conhecimento sobre sua solubilidade em água e ponto de fusão. Contudo, esse metabólito é esperado ser ainda mais polar que o composto original, conforme observado por BRIGGS (1984) para a forma sulfóxido de outros compostos tioéteres.

Conforme mencionado anteriormente, BROMILOW et alii (1987) demonstraram que pesticidas polares ($\log K_{ow} < 0$) são transportados no floema. Assim sendo, o transporte descendente do vamidothion nas plantas, conforme advocated pela companhia produtora do inseticida, tem suporte teórico.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Padrões analíticos de vamidothion, sulfóxido de vamidothion e sulfona de vamidothion

Os padrões analíticos de vamidothion e sulfona de vamidothion foram obtidos junto à Empresa RHONE-POULENC AGROCHIMIE (França), através da RHODIA AGRO S.A. Esses padrões tinham especificação de pureza acima de 98,5%. Com relação ao sulfóxido de vamidothion não havia disponibilidade desse metabólito na referida companhia ou na Agência de Proteção Ambiental (Environmental Protection Agency) dos Estados Unidos. Desta forma, obteve-se uma solução padrão deste composto, a partir de folhas de feijoeiro que receberam a aplicação de vamidothion via injeção no interior do pecíolo. Aos 4 dias após a aplicação, vamidothion e seus produtos de oxidação, foram extraídos das folhas e o metabólito sulfóxido de vamidothion foi purificado e identificado por cromatografia de camada delgada, conforme será descrito adiante. Em seguida uma alíquota da solução de sulfóxido de vamidothion foi submetida à oxidação e subsequente análise por cromatografia gás-lí-

quido para confirmação e quantificação do composto.

3.2. Determinação dos coeficientes de partição entre octanol e água (K_{ow}) para vamidothion e seus produtos de oxidação

Os coeficientes de partição entre octanol e água (K_{ow}) para vamidothion, sulfóxido de vamidothion e sulfona de vamidothion foram determinados seguindo a metodologia adotada por LEO et alii (1971). Cada composto foi diluído em 10 ml de água pré-saturada com octanol na concentração de 1 mg/litro. Em seguida, 5 ml dessa solução foram transferidos para um funil de separação (250 ml) o qual continha 50 ml de octanol pré-saturado com água. Após a inversão do funil de separação por 50 vezes, este foi deixado em repouso por 2 horas para separação das fases. Em seguida, duas alíquotas de 1 ml da fase aquosa foram separadas para a quantificação da concentração do composto. A concentração do composto na fase orgânica (octanol) foi calculada com base na diferença entre as concentrações inicial e final na fase aquosa.

3.3. Translocação e metabolismo de vamidothion em plantas de feijão

As plantas de feijão utilizadas nos experimen-

tos foram desenvolvidos em casa-de-vegetação do Departamento de Fitossanidade da Escola Superior de Agricultura de Lavras. Sementes de feijão, variedade Carioquinha-80 foram semeadas em sacos plásticos (18 x 12 cm), contendo 2 kg da mistura de solo, areia e esterco de curral, na proporção de 3:1:1, previamente esterilizada com brometo de metila e enriquecida com 15 g de fertilizante (4-14-8) por saquinho. As irrigações foram realizadas normalmente a cada dois dias.

As plantas de feijão utilizadas nos experimentos tinham cerca de 4 semanas de idade e encontravam-se no seguinte estágio de desenvolvimento: folhas primárias, hum (1) par de folhas trifolioladas já desenvolvidas e uma folha apical em fase inicial de desenvolvimento. Nos experimentos as folhas primárias foram amputadas, uma vez que observações preliminares revelaram que elas estariam em estágio avançado de senescência ao final do período de duração dos experimentos, ou seja, 12 dias.

3.3.1. Aplicação via injeção no pecíolo

Plantas selecionadas de acordo com o padrão descrito no item anterior foram levadas para o laboratório a fim de facilitar a aplicação do composto. A partir do padrão analítico de vamidothion foi preparada uma solução do composto em água na concentração de 12 mg do ingrediente ativo por ml. No pecíolo da 1ª folha (folha mais velha) foram injetados 5 μ l da solução atra-

vés de uma microseringa de 10 μ l.

Na técnica de injeção, a agulha foi introduzida em posição oblíqua em relação ao pecíolo, na face superior e região mediana do mesmo, injetando-se a solução lentamente. Em alguns casos, após a retirada da agulha, observou-se que um pequeno volume da solução extravasava pelo orifício feito pela agulha. Nesses casos aguardou-se alguns minutos para a penetração daquele volume no interior do pecíolo; se isso não ocorresse naquele tempo, essas plantas eram descartadas.

3.3.1.1. Translocação na planta

A translocação e metabolismo de vamidothion em plantas de feijão foram investigados, determinando-se a distribuição de vamidothion e de seus produtos de oxidação nas diferentes partes das plantas, aos 4, 8 e 12 dias após a injeção no pecíolo. Esses experimentos foram conduzidos com 2 repetições, sendo cada tratamento (dias após a aplicação), composto por 3 plantas. Nessas datas, as plantas foram divididas da seguinte forma: pecíolo da folha tratada, folíolos desta folha, folha oposta (incluindo o pecíolo), folhas novas (folhas além da folha oposta), caule e raízes. As várias partes das plantas foram embaladas com papel alumínio e acondicionadas em "freezer" para posterior análise. Vamidothion e seus produtos de oxidação foram analisados conjuntamente conforme descrito no item 3.6.2.

3.3.1.2. Distribuição na folha tratada

Neste experimento objetivou-se determinar a distribuição de vamidothion e de seus produtos de oxidação nas lâminas foliolares das folhas que receberam a injeção do produto no pecíolo.

A técnica de injeção, a quantidade de vamidothion injetado e estágio de desenvolvimento das plantas foram os mesmos descritos no item 3.3.1. Os tratamentos (coleta dos folíolos aos 4, 8 e 12 dias após a aplicação) foram compostos por 3 plantas.

Os nove folíolos referentes a cada tratamento foram seccionados das plantas e levados para o laboratório, onde foram recortados em 3 partes: na 1ª parte, recortou-se uma faixa de 1 cm ao redor dos folíolos (esta faixa foi denominada bordos dos folíolos); na 2ª parte, retirou-se também uma faixa de 1 cm abaixo da 1ª parte (região intermediária); já a última parte foi constituída pela parte restante dos folíolos (centro dos folíolos). Em seguida as partes foram pesadas, embaladas e acondicionadas em "freezer" para posterior análise.

3.3.2. Aplicação na superfície das folhas

Neste experimento, objetivou-se determinar, a eficiência de penetração do vamidothion nas folhas de feijoeiro, a-

pós a aplicação do composto na superfície das folhas.

As plantas selecionadas obedeceram ao mesmo critério adotado nos experimentos anteriores. Para esta aplicação utilizou-se, o produto comercial KILVAL 300 CE (300 g de vamidothion por litro). Preparou-se uma solução desse produto em água na concentração de 1% (V/V), equivalente a três gramas do ingrediente ativo por litro. Com auxílio de uma microseringa de 25 μ l aplicou-se 50 μ l desta solução em cada folíolo da folha mais velha (450 g por planta), distribuindo-se uniformemente a solução em pequenas gotas (cerca de 1 μ l) na superfície foliar. A penetração do vamidothion nas folhas foi investigada aos 1, 4, 8 e 12 dias após a aplicação, tendo sido conduzidas 2 plantas para cada tratamento.

Nas respectivas datas de coleta, cada folíolo tratado foi lavado com jatos de acetona contida numa pisseta (cerca de 30 ml/folíolo), com as soluções de lavagens dos folíolos de cada tratamento recolhidas conjuntamente em um becker.

A eficiência de penetração de vamidothion nas folhas foi determinada comparando-se a quantidade remanescente na solução de lavagem e no interior da folha, nos diferentes intervalos após a aplicação. Da solução de lavagem de cada tratamento, foi retirada uma alíquota de 1/5 do volume, para determinação de vamidothion e de seus produtos de oxidação.

3.4. Translocação e metabolismo de vamidothion em plantas de trigo

Nestes experimentos foram utilizadas plantas de trigo do cultivar IAC-5 Maringá, desenvolvidas na casa-de-vegetação do Departamento de Fitossanidade da ESAL. Foram utilizados sacos plásticos (18 x 12 cm) contendo 2 kg da mistura de solo, areia e esterco de curral na proporção 3:1:1, previamente esterilizado com brometo de metila e enriquecido com 15 g de fertilizante na formulação 4-14-8 por saquinho.

Plantas típicas utilizadas nos experimentos tinham cerca de 4 semanas de idade, apresentando 4 folhas desenvolvidas e a folha apical em início de desenvolvimento. As duas folhas mais velhas foram amputadas, por se encontrarem em estágio de senescência.

3.4.1. Penetração foliar e subsequente translocação nas plantas

Os estudos de penetração de vamidothion em folhas de trigo e subsequente translocação na planta foram conduzidos aplicando-se o composto na superfície do limbo foliar da folha mais velha remanescente nas plantas teste. Utilizou-se para tanto uma solução a 1% (V/V) de KILVAL 300 CE em água, equivalente a 3 g de

vamidothion por litro de água. Com auxílio de uma microseringa de 25 μ l, a folha mais velha de cada planta recebeu 50 μ l desta solução, na forma de pequenas gotas (cerca de 1 μ l) distribuídas uniformemente na superfície superior do limbo foliar. A fim de evitar o escorrimento do produto para a região da bainha das folhas, e também para se evitar o contato da folha tratada com outras folhas da planta, esta foi fixa na posição horizontal, com auxílio de linha de costura, sobre um plano de papelão apoiado num suporte de madeira e as demais folhas foram amarradas a uma haste de bambú.

A penetração, translocação e metabolismo de vamidothion foram determinados aos 4, 8 e 12 dias após a aplicação. Cada tratamento constou de 2 repetições, tendo sido utilizadas 6 plantas por repetição.

Nas datas de coleta, cada planta foi dividida em: limbo da folha tratada, limbo da folha oposta, limbos das folhas novas, colmo (incluindo as bainhas), raízes e perfilhos (quando presentes). A fim de determinar a quantidade de vamidothion não penetrado, o limbo da folha tratada foi lavado com jatos de acetona (cerca de 20 ml), com as soluções de lavagem das folhas de cada tratamento recolhidas conjuntamente em um becker. Da solução de lavagem de cada tratamento, retirou-se uma alíquota de 1/3 do volume para determinação de vamidothion e de seus produtos de oxidação. As partes das plantas foram embaladas em papel alumínio e acondicionadas em "freezer" para posterior análise.

3.4.2. Translocação na folha tratada

Nesse experimento objetivou-se determinar a distribuição de vamidothion e/ou de seus produtos de oxidação em folhas de trigo que receberam a aplicação de vamidothion (Kilval 300 CE) no terço médio dos limbos foliares. Após a fixação do limbo foliar em um plano de papelão conforme anteriormente descrito, procedeu-se a marcação do limbo em três partes de igual comprimento. Em seguida, aplicou-se 30 μ l de uma solução de vamidothion em água (3 g i.a./l), na forma de pequenas gotas uniformemente distribuídas na superfície do terço mediano do limbo foliar, por intermédio de uma microseringa de 25 μ l.

A distribuição de vamidothion e/ou de seus produtos de oxidação no limbo foliar foi determinada aos 1, 4, 8 e 12 dias após a aplicação. Para cada tratamento foram utilizadas 3 plantas. O limbo tratado de cada planta foi dividido nas três partes previamente demarcadas: terço basal, terço médio (região tratada) e terço apical. As três partes do limbo foliar foram separadamente analisadas, conforme descrito no item 3.6.2 a 3.6.5. A região mediana (parte tratada) do limbo foliar foi lavada com acetona, a fim de remover o vamidothion e seus produtos de oxidação que não penetraram no mesmo.

3.5. Estabilidade de vamidothion aplicado sobre lâminas de vidro

A estabilidade de vamidothion sobre lâminas de vidro foi investigada, a fim de auxiliar a interpretação dos resultados sobre penetração do composto em folhas de feijoeiro e trigo. Para tal, foram utilizadas placas de vidro de 5 x 20 cm, as quais receberam a aplicação de 50 μ l de uma solução de vamidothion (KILVAL 300 CE) em água, na concentração de 3 g i.a./l. A exemplo da aplicação na superfície das folhas, utilizou-se uma microseringa 25 μ l, para a aplicação da solução na forma de pequenas gotas distribuídas sobre a placa.

A quantidade de vamidothion (e/ou seus produtos de oxidação) remanescente nas placas foi determinada aos 1, 4, 8 e 12 dias após a aplicação, com as placas sendo mantidas em casa-de-vegetação onde as plantas de trigo e feijoeiro se desenvolviam. Para cada tratamento (intervalo de tempo após a aplicação) foram conduzidos duas repetições. Nas datas de amostragens, as placas foram lavadas com jatos de acetona (com auxílio de uma pistola) recolhidos em becker a fim de remover o vamidothion e seus produtos de oxidação. A solução de lavagem de cada tratamento foi mantida em "freezer" até o momento da análise.

3.6. Métodos analíticos

Para determinar quantitativamente o vamidothion, sulfóxido e sulfona de vamidothion nas amostras de tecido vegetal, estes compostos foram extraídos utilizando-se acetona como solvente extrator. Vamidothion e sulfóxido de vamidothion foram oxidados à forma sulfona pela adição de permanganato de potássio. Após purificação adequada do extrato, através de partição com solventes e cromatografia de camada delgada, o vamidothion e seus produtos de oxidação foram quantificados conjuntamente na forma de sulfona de vamidothion, por cromatografia gás-líquido. A oxidação dos compostos à forma sulfona se fez necessária porque o vamidothion e o sulfóxido de vamidothion não são adequadamente quantificados por cromatografia gás-líquido com detector de captura de elétrons.

Em alguns casos, quando desejou-se analisar isoladamente o vamidothion, sulfóxido e sulfona de vamidothion, estes foram separados e identificados por cromatografia de camada delgada. Após a separação, os compostos foram então oxidados e quantificados na forma de sulfona de vamidothion, por cromatografia gás-líquido.

Os métodos analíticos foram adaptados daqueles desenvolvidos por FABI (1985) e BROMILOW et alii (1987).

3.6.1. Materiais, solventes, reagentes e equipamentos utilizados

3.6.1.1. Materiais

- Gral e pistilo
- Provetas: 25, 50, 100, 250 e 500 ml
- Pipetas graduadas: 0,1; 0,2; 1,0; 2,0; 5,0 e 10 ml
- Funis de separação: 250 e 500 ml
- Balões de fundo redondo: 50, 125, 250 e 500 ml
- Pipetas de "Pasteur"
- Placas de vidro 10 x 20 para cromatografia de camada delgada
- Cuba de vidro (25 x 10 x 22 cm)
- Balões volumétricos: 10, 100 e 500 ml
- Funis de vidro: 3, 5 e 10 cm de diâmetro
- Tubos de centrífuga graduados: 15 ml
- Microseringas: 10 e 25 μ l

3.6.1.2. Solventes e reagentes

- Acetona - grau resíduo - MERCK
- Acetona - PA - MERCK - redestilada
- Hexano - grau resíduo - MERCK
- Diclorometano - PA - MERCK - redestilado

- Acetato de etila - para cromatografia - MERCK
- Éter etílico - PA - VETEC - redestilado
- Sulfato de sódio anidro granulado - PA - MERCK - ativado a 150°C por 48 horas
- Sílica gel 60 GF₂₅₄ (gel fluorescente) - MERCK
- Solução tampão concentrada (pH = 7,6)
 - . Fosfato de potássio, monobásico - 136,1 g
 - . Hidróxido de sódio 1 N - 850 ml
 - . Água destilada - 1150 ml
- Solução tampão diluída (pH = 7,0)
 - . Fosfato de potássio, monobásico - 6,81 g
 - . Hidróxido de sódio 1 N - 29,5 ml
 - . Água destilada - 1000 ml
- Permanganato de potássio - PA

3.6.1.3. Equipamentos

- Evaporador rotativo a vácuo - BUCHII - modelo RE 120
- Cromatógrafo a gás CG modelo 370, equipado com detector de captura eletrônica (⁶³Ni)
- Balança analítica MAITE mod. A-200
- Aplicador de sílica gel sobre lâminas de vidro (obtenção de placas para cromatografia de camada delgada)
- Estufas
- Geladeira

- Freezer
- Destilador de solventes
- Capelas de exaustão
- Fonte de luz ultra-violeta

3.6.2. Quantificação conjunta de vamidothion e seus produtos de oxidação

3.6.2.1. Extração dos compostos

As amostras de tecido vegetal foram transferidas para um gral e, com auxílio de um pistilo, foram maceradas utilizando-se pequenos volumes de acetona. Com auxílio de uma pipeta de Pasteur, os extratos cetônicos foram transferidos para uma proveta (100 ml) filtrando-se os extratos em algodão colocado em um funil de vidro suspenso sobre a proveta. O material vegetal foi macerado e lavado com acetona até que se tornasse totalmente esbranquiçado. O volume final de extrato cetônico variou de 50 a 80 ml, dependendo do tipo e quantidade de tecido.

3.6.2.2. Purificação do extrato e oxidação dos compostos

Para a purificação (limpeza) do extrato, partiu-se

da metade do volume contido na proveta, o qual foi transferido para um balão de fundo redondo de 125 ml, e logo após adicionou-se 20 ml da solução tampão concentrada. Em seguida a acetona foi evaporada em rotavapor com banho-maria a 50°C e o extrato aquoso remanescente foi transferido para um funil de separação de 500 ml. Procedeu-se então a limpeza preliminar do extrato aquoso através de 2 partições sucessivas com 50 ml de hexano, descartando-se as fases hexânicas.

Para a oxidação dos compostos à forma sulfona, adicionou-se ao extrato aquoso, no funil de separação, 25 ml de uma solução de permanganato de potássio (10 g/l), deixando esta mistura em repouso por meia hora. Após esse período, procedeu-se a extração do sulfona de vamidothion através de quatro partições sucessivas com 50 ml de diclorometano, recolhendo as fases diclorometilênicas em um balão de fundo redondo de 500 ml, após passagem destas fases em funil de vidro contendo 60 g de sulfato de sódio anidro granulado.

O extrato diclorometilênico foi concentrado até cerca de 10 ml no evaporador rotativo a vácuo e em seguida transferido para um balão de fundo redondo de 50 ml, retornando ao rotavapor para evaporação completa (até a secura).

3.6.2.3. Cromatografia de camada delgada

Os resíduos remanescentes no balão de fundo redondo

do foram transferidos para uma placa de cromatografia de camada delgada (20 x 10 cm) contendo uma camada de 0,5 mm de sílica gel 60 GF₂₅₄ (gel fluorescente). Essa operação foi feita com auxílio de uma pipeta de Pasteur, usando-se 4 lavagens sucessivas do balão com cerca de 0,2 ml de acetona. Os resíduos foram transferidos ao longo de uma linha próxima à base da placa, a qual foi em seguida colocada numa cuba de vidro com tampa, contendo 300 ml da solução eluente éter etílico: acetona, na proporção 2:1.

A identificação dos compostos na placa foi possível com o auxílio de luz ultra-violeta. Porém, a forma sulfona não é sensível à essa luz, mas sim o vamidothion, que aparece na placa como uma mancha azul quando esta é colocada sob a fonte de luz. Uma vez que os fatores de retenção (Rf) desses compostos nas placas revelaram-se muito próximos (item 3.6.3.1), utilizou-se o vamidothion como marcador do sulfona de vamidothion. Nesse caso antes da eluição da amostra, uma pequena alíquota de uma solução de vamidothion técnico foi depositada nas margens laterais da placa, na mesma altura da linha de aplicação da amostra. Foi traçada uma linha vertical a 1 cm de cada bordo da placa a fim de evitar a contaminação da amostra com o vamidothion técnico aplicado nas margens. Após a eluição da placa, retirou-se (com auxílio de uma espátula) uma banda de sílica de aproximadamente 2 cm, coincidente com a altura da mancha do vamidothion nas margens da placa.

Essa banda de sílica foi transferida para um funil de vidro, contendo algodão no fundo, suspenso sobre um balão de fundo redondo de 125 ml. Em seguida, a sílica foi lavada com 5 porções de 5 ml de acetona, e esta foi posteriormente evaporada no

evaporador rotativo a vácuo até a secura. Em seguida os resíduos foram redissolvidos em acetato de etila e transferidos para um tubo de centrífuga graduado de 15 ml, acertando-se o volume para 10 ml.

3.6.2.4. Cromatografia gás-líquido

Após a etapa de cromatografia de camada delgada procedeu-se a determinação quantitativa dos compostos, na forma de sulfona de vamidothion por cromatografia gás-líquido, utilizando-se um cromatógrafo modelo CG-370, equipado com detector de captura de elétrons com fonte de ^{63}Ni .

Utilizou-se uma coluna de vidro de 1,8 m de comprimento e com diâmetro interno de 1/8", empacotada com 10% de DC-200 em chromosorb WHP. O fluxo do gás de arraste (N_2 - ultra puro) foi de 60 ml/min.; as temperaturas da coluna, do vaporizador e do detector foram 200, 210 e 220°C respectivamente. Sob essas condições de trabalho, o tempo de retenção de sulfona de vamidothion foi de um minuto e quarenta e dois segundos (1'42").

A quantificação do sulfona de vamidothion nas amostras foi feita comparando-se a altura do pico nas amostras com uma curva de calibração obtida injetando-se soluções padrão do composto. A curva de calibração foi obtida injetando-se quantidades do composto entre 0,25 a 2,5 ng, visto que acima de 2,5 o detector mostrava sinais de saturação, ou seja, perda de linearida-

de. As injeções foram realizadas, com uma microseringa de 10 μ l e as amostras foram apropriadamente diluídas ou concentradas, mantendo-se o volume de injeção na faixa de 4 a 5 μ l.

3.6.3. Quantificação individual de vamidothion e de seus produtos de oxidação

Em um experimento com plantas de feijoeiro, desejou-se quantificar separadamente o vamidothion, sulfóxido de vamidothion e sulfona de vamidothion presentes nas amostras.

Nestes casos, após extração dos compostos, adição de solução tampão e partição com duas porções 50 ml de hexano, os compostos foram extraídos com quatro (4) partições sucessivas de 50 ml de diclorometano. As fases diclorometilênicas filtradas em sulfato de sódio anidro, foram recolhidas em um balão de fundo redondo (500 ml) e logo após, foram concentrados a $\pm$ 10 ml no evaporador rotativo a vácuo. Em seguida transferiu-se o extrato para um balão de fundo redondo de 50 ml, o qual foi levado ao rotavapor para evaporação do diclorometano até a secura. Posteriormente, os resíduos remanescentes foram transferidos para placas de cromatografia de camada delgada conforme descrito anteriormente.

3.6.3.1. Determinação dos fatores de retenção (RF)
dos compostos nas placas de cromatografia
de camada delgada

Como já mencionado, a identificação de vamidothion em placas de cromatografia de camada fina contendo sílica gel 60 GF₂₅₄, foi realizada, expondo a placa sob uma fonte de luz ultra-violeta. No entanto as formas sulfóxido e sulfona de vamidothion não são visíveis nas placas sob luz ultra-violeta. Assim, para a determinação do fator de retenção desses compostos, procedeu-se a eluição dos mesmos nas placas, coletando-se a seguir bandas de sílica de 1,0 cm. Após a lavagem da sílica correspondente a cada banda e subsequente evaporação da acetona, procedeu-se a oxidação dos resíduos, adicionando-se ao balão de fundo redondo, 8 ml de água destilada, 10 ml da solução tampão diluída, 50 ml da solução de permanganato de potássio (10 g/l). Após repouso por 30 minutos, os resíduos foram extraídos em funil de separação com 4 porções de 75 ml de diclorometano. Em seguida, o diclorometano foi eliminado em rotavapor e os resíduos dissolvidos em 10 ml de acetato de etila. Posteriormente, procedeu-se a determinação quantitativa por cromatografia gás-líquido conforme descrito anteriormente. Com base na detecção de sulfona de vamidothion nas diferentes bandas, obteve-se os fatores de retenção para sulfóxido e sulfona de vamidothion.

3.6.3.2. Separação e quantificação dos compostos nas amostras

Após a eluição das amostras nas placas de cromatografia de camada delgada, coletou-se uma banda de sílica de ± 2 cm coincidente com a linha de aplicação da amostra e outra banda também de ± 2 cm coincidente com a altura da mancha de vamidothion, revelada nas margens da placa. A primeira banda continha o sulfóxido de vamidothion ($R_f \approx 0,05$) e a outra banda continha tanto o vamidothion quanto o sulfona de vamidothion por ventura presentes na amostra ($R_f = 0,50$ e $\approx 0,55$ respectivamente).

A banda de sílica coincidente com a faixa de aplicação da amostra (banda que continha o sulfóxido de vamidothion) foi lavada com acetona, a qual foi posteriormente evaporada. Em seguida procedeu-se a oxidação, e quantificação na forma de sulfona de vamidothion, conforme descrito anteriormente. Com relação à banda contendo vamidothion e sulfona de vamidothion, após a lavagem da sílica com acetona, o volume total obtido foi dividido ao meio. Uma metade foi destinada à determinação do metabólito sulfona, após a evaporação da acetona e diluição dos resíduos em 10 ml de acetato de etila. Outra metade foi destinada à determinação do vamidothion, após a evaporação da acetona, oxidação e quantificação na forma de sulfona de vamidothion.

A quantificação do vamidothion foi feita pela diferença entre a concentração de sulfona de vamidothion na fração oxidada e não oxidada dos resíduos provenientes da banda de sílica que continha o vamidothion e o sulfona de vamidothion.

Para a quantificação final do vamidothion e sulfóxido de vamidothion, levou-se em consideração o acréscimo no peso molecular destes após a oxidação. A identidade do sulfóxido de vamidothion foi confirmada adicionalmente, analisando-se o fator de retenção do composto após oxidação, tendo sido constatado o mesmo fator de retenção do sulfona de vamidothion, conforme esperado.

3.6.4. Determinação de vamidothion em amostras não vegetais

Nos experimentos de penetração de vamidothion em folhas de trigo e feijoeiro, assim como nos testes de estabilidade do composto sobre lâminas de vidro, houve necessidade de se quantificar o vamidothion e seus produtos de oxidação dissolvidos em acetona, a qual foi utilizada nas lavagens das folhas e das lâminas de vidro. Para tal, tomou-se 1/3 da solução de lavagem do composto em acetona em um balão de fundo redondo, sendo a acetona posteriormente evaporada no rotavapor. Após a evaporação, os resíduos foram oxidados adicionando-se ao balão, 8 ml de água destilada, 10 ml da solução tampão diluída e 25 ml da solução de permanganato de potássio (10 g/l). Após repouso por meia hora, transferiu-se a solução aquosa para um funil de separação de 500 ml. Os resíduos foram extraídos com quatro partições sucessivas de 75 ml de diclorometano. As fases diclorometilênicas, filtradas no sulfato de sódio anidro, foram recolhidas em um balão de fundo

redondo de 500 ml. Após evaporação do solvente, os resíduos foram redissolvidos em 10 ml de acetato de etila, transferidos para um tubo de centrífuga graduado e quantificados por cromatografia gás-líquido.

3.6.5. Eficiência dos métodos analíticos

Para avaliação da eficiência dos métodos analíticos utilizados, foram realizados testes para determinar a porcentagem de recuperação de vamidothion, sulfóxido de vamidothion e sulfona de vamidothion em amostras de folhas de feijoeiro e trigo que receberam uma quantidade conhecida de cada composto. Os testes foram realizados para cada composto separadamente. Uma alíquota de 1 ml de uma solução do composto em acetona, na concentração de 10 $\mu\text{g/ml}$, foi adicionada diretamente sobre a amostra colocada no gral. Em seguida, as amostras foram submetidas ao método analítico descrito no item 3.6.2.

Conforme mencionado anteriormente, em algumas amostras de folhas de feijoeiro desejou-se analisar separadamente o vamidothion e seus produtos de oxidação. Nestes casos, as amostras foram fortificadas com cada composto, e submetidas ao método analítico descrito no item 3.6.3., através do qual cada composto é analisado separadamente.

Para avaliar a eficiência analítica do método utilizado na quantificação de vamidothion dissolvido em acetona (so-

lução de lavagem das folhas e das lâminas de vidro) adicionou-se a um balão de fundo redondo de 500 ml, 0,1 ml de uma solução de vamidothion na concentração de 10 $\mu\text{g/ml}$ mais 100 ml de acetona. Em seguida esta amostra foi submetida a marcha analítica descrita no item 3.6.4.

A comparação entre a quantidade recuperada do composto e a quantidade efetivamente adicionada, permitiu avaliar a eficiência dos métodos analíticos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Coeficientes de partição de vamidothion, sulfóxido e sulfona de vamidothion entre octanol e água

Os resultados obtidos nas determinações dos coeficientes de partição do vamidothion e de seus produtos de oxidação entre octanol e água são apresentados na Tabela 1.

TABELA 1 - Valores de coeficiente de partição entre octanol e água, expressos na forma logarítmica, para vamidothion, sulfóxido e sulfona de vamidothion

Composto	Valores de $\log K_{ow}$		
	1ª repetição	2ª repetição	Média
Vamidothion	-0,19	-0,04	-0,12
Sulfóxido de vamidothion	-1,32	-1,18	-1,25
Sulfona de vamidothion	-0,86	-0,89	-0,93

Observa-se que tanto vamidothion quanto seus produtos de oxidação têm natureza polar ($\log K_{ow} < 0$), com as formas oxidadas sendo muito mais polares que o composto original. A natureza polar do vamidothion era de fato esperada com base na sua alta solubilidade em água, ou seja, 4 kg/l (WORTHING, 1983). A maior polaridade para as formas oxidadas está de acordo com as observações de BRIGGS (1981) que constatou maior polaridade para as formas oxidadas (sulfóxido e sulfona) de outros compostos organofosforados tioéteres.

4.2. Eficiência dos métodos analíticos

Os resultados dos testes de eficiência dos métodos analíticos de vamidothion e de seus produtos de oxidação em folhas de feijoeiro e de trigo são apresentados nas Tabelas 2 e 3.

Na Tabela 2 são apresentados os resultados para o método de determinação conjunta de vamidothion e de seus produtos de oxidação. Observa-se que as porcentagens de recuperação dos compostos variaram entre 78 e 96%, indicando que o método foi adequado para os propósitos do presente trabalho. Conforme será visto adiante, o vamidothion apresenta-se no interior das plantas predominantemente na forma do metabólito sulfóxido. Assim, os resultados obtidos na análise conjunta de vamidothion e seus produtos de oxidação foram corrigidos de acordo com as porcentagens de recuperação para o metabólito sulfóxido de vamidothion, ou sejam, 82,2% para feijoeiro e 80,6% para trigo.

TABELA 2 - Eficiência do método analítico empregado na determinação conjunta de vamidothion e de seus produtos de oxidação em folhas de feijoeiro e trigo. Valores expressos em termos de porcentagem de recuperação dos compostos em amostras fortificadas.

Folhas	Repetições	Vamidothion	Sulfóxido de vamidothion	Sulfona de vamidothion
Feijoeiro	1ª	85,4	84,3	79,0
	2ª	81,6	80,1	83,0
	$\bar{X}$	83,5	82,2	81,0
Trigo	1ª	93,6	82,9	84,6
	2ª	96,0	78,3	84,0
	$\bar{X}$	94,8	80,6	84,3

A Tabela 3 mostra os resultados para o método cuja marcha analítica envolveu a oxidação dos compostos após a sua separação por cromatografia de camada delgada. Conforme anteriormente mencionado, esta marcha analítica foi empregada em algumas amostras, quando objetivou-se determinar separadamente o vamidothion e seus produtos de oxidação. Observa-se que as porcentagens de recuperação do vamidothion e do sulfóxido de vamidothion foram um pouco menores que aquelas obtidas para o método anterior. Isto provavelmente decorre do fato que este método requer duas sequências de extrações (partições) com diclorometano, possibilitando dessa forma maiores perdas dos compostos. Os resultados obtidos das amostras provenientes do experimento onde se efetuou a análise individual dos compostos, foram corrigidos de acordo com

os valores de porcentagem de recuperação para cada composto.

TABELA 3 - Eficiência do método analítico empregado na determinação individual de vamidothion e de seus produtos de oxidação em folhas de feijoeiro. Valores expressos em termos de porcentagem de recuperação dos compostos em amostras fortificadas.

Repetições	Composto		
	Vamidothion	Sulfóxido de vamidothion	Sulfona de vamidothion
1ª	85,3	73,5	86,1
2ª	80,2	79,0	81,4
$\bar{X}$	82,8	76,3	83,8

Os testes de recuperação do vamidothion dissolvido em acetona revelaram uma porcentagem de recuperação média de 90%, valor esse utilizado na correção dos resultados obtidos nas determinações do composto em soluções acetônicas provenientes da lavagem de folhas e lâminas de vidro que receberam aplicação do composto.

4.3. Estabilidade de vamidothion sobre lâminas de vidro

A fim de auxiliar as interpretações dos resultados sobre penetração e degradação de vamidothion, quando este foi aplicado sobre a superfície das folhas de feijoeiro, foi conduzido um

experimento no qual, estudou-se a estabilidade deste composto após sua aplicação sobre lâminas de vidro. Os resultados obtidos neste experimento são apresentados na Figura 2. Vamidothion e seus produtos de oxidação foram quantificados na forma de sulfona de vamidothion. Os resultados foram transformados em quantidades equivalentes de vamidothion, corrigidos de acordo com a porcentagem de recuperação e expressos em termos de porcentagem da dose aplicada.

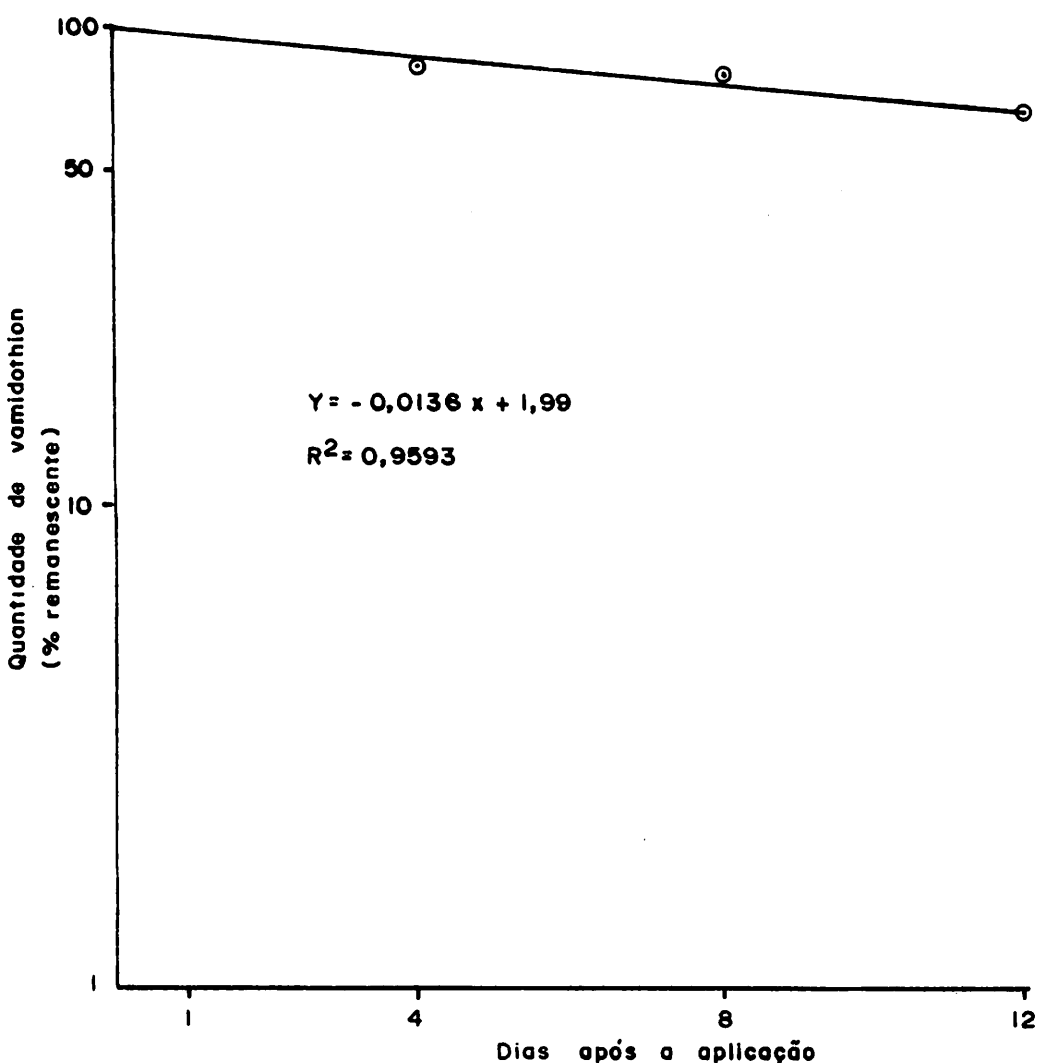


FIGURA 2 - Decréscimo na quantidade de vamidothion, aplicado sobre lâminas de vidro em condições de casa-de-vegetação. Os pontos representam a média de 2 repetições.

Examinando-se a Figura 2, observa-se que a quantidade de vamidothion remanescente nas lâminas de vidro aos 12 dias após a aplicação foi equivalente a cerca de 70% da quantidade aplicada, indicando que a perda do composto na superfície das folhas, portanto por volatilização e/ou degradação não metabólica, é um processo razoavelmente lento.

4.4. Translocação e metabolismo de vamidothion em plantas de feijão

4.4.1. Aplicação via injeção no pecíolo

As quantidades de vamidothion e de seus produtos de oxidação nas diferentes partes das plantas de feijão aos 4, 8 e 12 dias após a injeção de vamidothion no pecíolo da primeira folha, são mostradas na Tabela 4. Vamidothion e seus produtos de oxidação foram conjuntamente quantificados na forma de sulfona de vamidothion e transformados em quantidades equivalentes de vamidothion. As quantidades de sulfona de vamidothion foram corrigidas de acordo com a porcentagem de recuperação para o metabólito sulfóxido uma vez que, conforme será visto adiante, os resíduos na planta consistem quase que exclusivamente desse metabólito. No texto, a denominação vamidothion total refere-se à somatória de vamidothion e de seus produtos de oxidação.

Examinando-se a Tabela 4, observa-se que logo aos 4 dias após a injeção de vamidothion no pecíolo, a quantidade de vamidothion total nos folíolos da folha tratada foi bem maior que no pecíolo, indicando um transporte relativamente rápido de vamidothion e/ou seus produtos de oxidação do pecíolo para os folíolos, através do xilema.

TABELA 4 - Distribuição do vamidothion e de seus produtos de oxidação, conjuntamente analisados, em plantas de feijão após a injeção de vamidothion no pecíolo da primeira folha trifoliolada.

Dias após a aplicação	Parte da planta	Folha tratada		Folha oposta	Folhas novas	Caule	Raiz
		Pecíolo	Folíolos				
4		6,27 ^a	117,96	3,84	2,66	1,01	4 L.D. ^b
		(2,76)	(3,32)	(0,75)	(0,57)	(0,05)	
8		3,83	86,42	3,99	4,92	0,58	4 L.D.
		(0,43)	(11,61)	(1,09)	(0,56)	(0,05)	
12		5,41	68,54	4,44	5,68	0,51	4 L.D.
		(0,91)	(9,14)	(1,32)	(0,62)	(0,14)	

a - Valores expressos em μg de vamidothion (média de duas repetições, cada uma composta de 2 plantas, tendo sido injetadas 60 μg de vamidothion/planta). Os valores entre parêntesis referem-se ao erro padrão da média.

b - Limite de detecção = 0,3 μg .

A quantidade de vamidothion total nos folíolos da folha tratada permaneceu muito mais alta em relação a outras partes da planta até os 12 dias após a aplicação. Contudo, quantidades apreciáveis de vamidothion total foram encontradas em partes não tratadas das plantas, especialmente nas folhas novas e na folha oposta. A quantidade transportada para outras partes da planta aumentou com o decorrer do tempo, chegando a 12% da quantidade remanescente na planta, aos 12 dias após a aplicação.

As quantidades de vamidothion total encontradas no caule foram muito baixas e nas raízes, essas quantidades foram sempre inferiores ao limite de detecção dos compostos nas raízes ($0,3 \mu\text{g}$).

Os resultados descritos acima demonstraram que o vamidothion e/ou seus produtos de oxidação foram transportados através do floema nas plantas de feijão confirmando o postulado de BROMILOW et alii (1987) segundo o qual compostos polares ($\log K_{ow} < 0$) devem exibir mobilidade do floema. Conforme visto anteriormente, os valores de $\log K_{ow}$ para o vamidothion, sulfóxido de vamidothion e sulfona de vamidothion, determinados experimentalmente, foram: -0,12, -1,25 e -0,93, respectivamente. Além disso, a virtual ausência dos compostos nas raízes e sua presença na folha oposta à folha tratada indicam que os compostos não são retidos nas partes inferiores das plantas, retornando para as folhas através do xilema, implicando que os compostos são reciclados nas plantas (evidentemente, quando as folhas ainda estão muito novas, os compostos podem ser transportados a essas diretamente via floema). Tal reciclagem já foi demonstrada para sulfona de aldicar-

be ($\log K_{ow} = -0,57$) em plantas de mamona (BROMILOW et alii, 1987). Esses autores também utilizaram a técnica de injeção no pecíolo, tendo quantificado o composto nas diferentes partes da planta e diretamente na seiva elaborada coletada no caule. O padrão de distribuição de vamidothion total nas plantas de feijoeiro foi bastante semelhante aquele observado por BROMILOW et alii (1987), para sulfona de aldicarbe em plantas de mamona.

A partir dos resultados apresentados na Tabela 4, obteve-se uma curva representativa da degradação de vamidothion a compostos inativos nas plantas de feijão (Figura 3). Para tanto, a quantidade de vamidothion e de seus produtos de oxidação na planta toda, em cada data de amostragem, foi transformada para a quantidade equivalente em vamidothion, e o resultado foi expresso em termos da quantidade remanescente de vamidothion em relação à quantidade aplicada. Observa-se pela Figura 3 que o valor de meia-vida de degradação do vamidothion em plantas de feijão foi ao redor de 10 dias, mostrando que o composto é razoavelmente estável nessas plantas. De acordo com resultados compilados pela Organização Mundial de Saúde, os valores de meia-vida de vamidothion em cereais e vegetais variaram entre 6 e 20 dias (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1974).

Tendo sido confirmada a translocação de vamidothion e/ou de seus produtos de oxidação através do floema, foi conduzido um outro experimento, no qual os compostos foram individualmente quantificados nas folhas. Os resultados desse experimento são mostrados na Tabela 5. Observa-se que os resíduos encontravam-se predominantemente na forma de sulfóxido de vamidothion logo aos

4 dias após a aplicação. As quantidades de sulfona de vamidothion permaneceram baixas até os 12 dias após a aplicação, mostrando que a oxidação do composto original à forma sulfóxido é rápida mas, a oxidação de sulfóxido a sulfona é lenta.

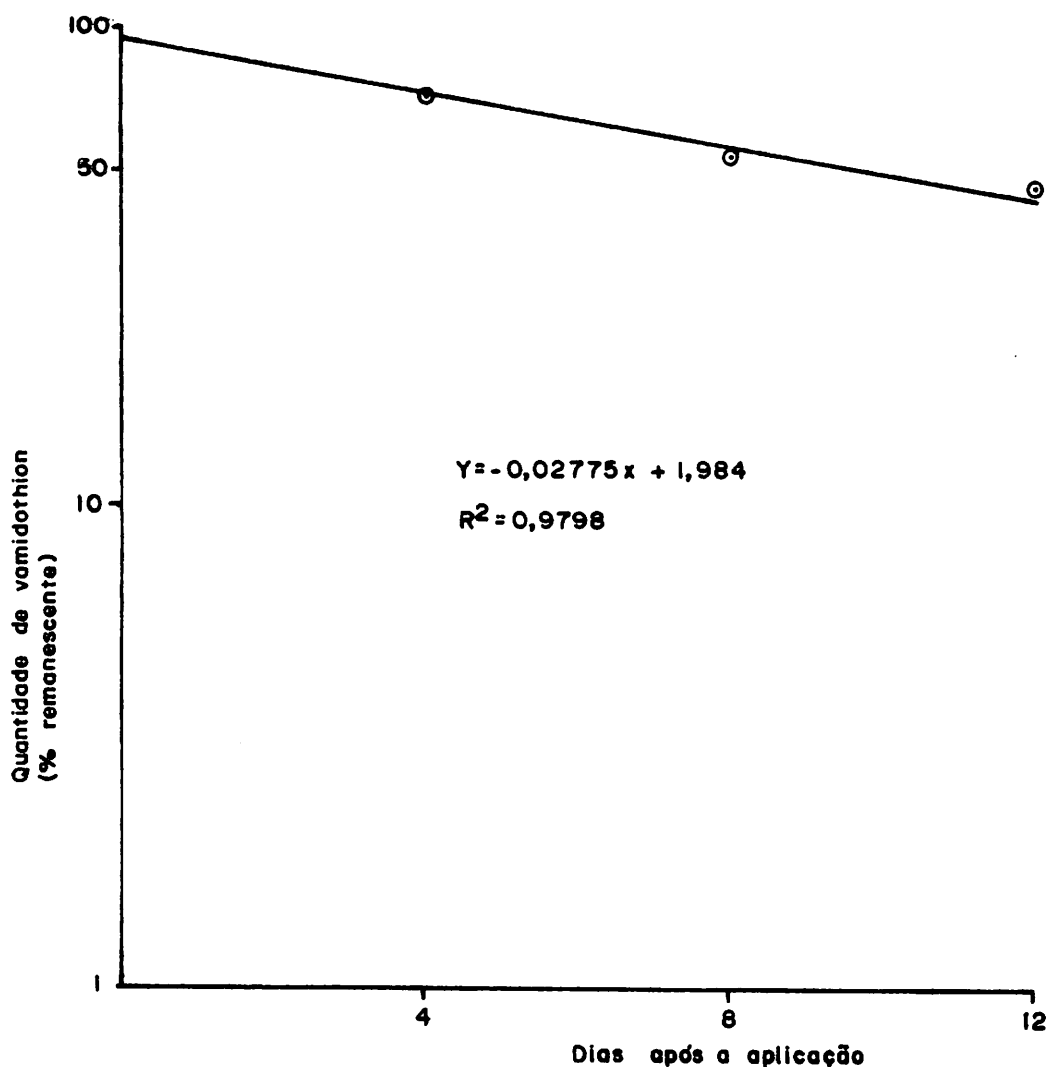


FIGURA 3 - Degradação de vamidothion em plantas de feijão. (De talhes no texto).

Embora vamidothion e seus produtos de oxidação sejam suficientemente polares para serem transportados através do floema, é de se esperar que o metabólito sulfóxido tenha sido a forma predominantemente transportada no floema, devido a maior polaridade de desse metabólito e também pela sua maior concentração na folha

tratada.

TABELA 5 - Distribuição de vamidothion e de seus produtos de oxidação, analisados separadamente, em plantas de feijão após a injeção de vamidothion no pecíolo da primeira folha trifoliolata.

Dias após aplicação	Parte da planta	Vamidothion	Sulfóxido de vamidothion	Sulfona de vamidothion
4	Folha tratada	6,75 ^a	105,42	2,86
	Folha oposta	LD ^b	3,24	LD
	Pecíolo	LD	6,85	LD
8	Folha tratada	0,65	79,66	3,82
	Folha oposta	LD	4,60	LD
	Pecíolo	LD	2,50	LD
12	Folha tratada	LD	54,76	3,82
	Folha oposta	LD	4,48	LD
	Pecíolo	LD	3,36	LD

a - Valores expressos em μg do composto (valores totais obtidos de três plantas conjuntamente analisadas, tendo sido injetadas 60 μg de vamidothion/planta)

b - Limite de detecção = 0,3 μg .

Uma vez que o metabólito sulfóxido de vamidothion é bastante polar e levando-se em consideração o tempo de até 12 dias desde a aplicação, esperava-se um transporte mais eficiente desse metabólito, da folha tratada para outras partes da planta. Supos-se então, que o composto na folha tratada teria se acumulado nas margens ou bordos dos folíolos, tornando-se pouco acessível aos vasos do floema. A fim de testar essa hipótese, foi con-

duzido um experimento, no qual os folíolos da folha tratada foram divididos em três regiões distintas (bordo, região intermediária e região central), as quais foram analisadas separadamente. Os resultados obtidos neste experimento são apresentados na Tabela 6. Como se observa, existe realmente uma tendência dos compostos se acumularem nos bordos dos folíolos, porém, a concentração nos bordos nunca foi superior ao dobro daquela encontrada nas regiões centrais dos folíolos. Uma provável explicação para a baixa eficiência de transporte do sulfóxido de vamidothion para as outras partes da planta, se deve ao fato que, há um rápido escape do composto do floema e subsequente retorno, via xilema, preferencialmente para a folha tratada.

TABELA 6 - Distribuição de vamidothion e de seus produtos de oxidação, conjuntamente analisados, nos folíolos da primeira folha trifoliolada de plantas de feijão após a injeção de vamidothion no pecíolo desta.

Dias após a aplicação	Concentração ($\mu\text{g/g}$ de tecido foliar) ^a		
	Bordos dos folíolos	Região intermediária	Centro dos folíolos
4	14,93	11,33	11,33
8	13,26	8,11	6,69
12	8,37	4,76	4,89

a - Valores expressos em quantidades equivalentes de vamidothion (média de 3 folhas, 9 folíolos, conjuntamente analisados, sendo aplicadas 60 μg de vamidothion/folha).

4.4.2. Aplicação na superfície das folhas

Nos experimentos anteriormente abordados, a aplicação de vamidothion nas folhas, foi feita através de injeção de uma solução do composto no pecíolo. Tal técnica de aplicação, já utilizada por outros pesquisadores, visa evitar a barreira imposta pela cutícula à penetração de compostos nas folhas. Contudo, na prática de controle de pragas, o vamidothion é aplicado em pulverizações sobre as folhas. Em vista disso, foi conduzido um experimento com o objetivo de investigar a penetração do vamidothion nas folhas de feijoeiro, após a aplicação de KILVAL 300 CE (300 g de vamidothion/l) na superfície dos folíolos. Os resultados desse experimento são mostrados na Figura 4. Por ocasião da amostragem, os folíolos foram lavados com acetona e a quantidade de vamidothion na solução de lavagem foi considerada como quantidade não penetrada. Vamidothion e seus produtos de oxidação foram quantificados na forma de sulfona de vamidothion e os resultados foram corrigidos de acordo com a porcentagem de recuperação e transformados em quantidades equivalentes de vamidothion.

Examinando-se a Figura 4, observa-se que, um dia após aplicação, apenas cerca de 31% da quantidade aplicada de vamidothion foi encontrada na solução de lavagem, indicando que a penetração de vamidothion nas folhas é moderadamente rápida. Nessa data, a quantidade de vamidothion no interior das folhas foi equivalente a cerca de 42% da dose aplicada, sendo que o restante do vamidothion foi perdido principalmente por degradação, pois, confor

me visto anteriormente, a perda por volatilização é relativamente baixa.

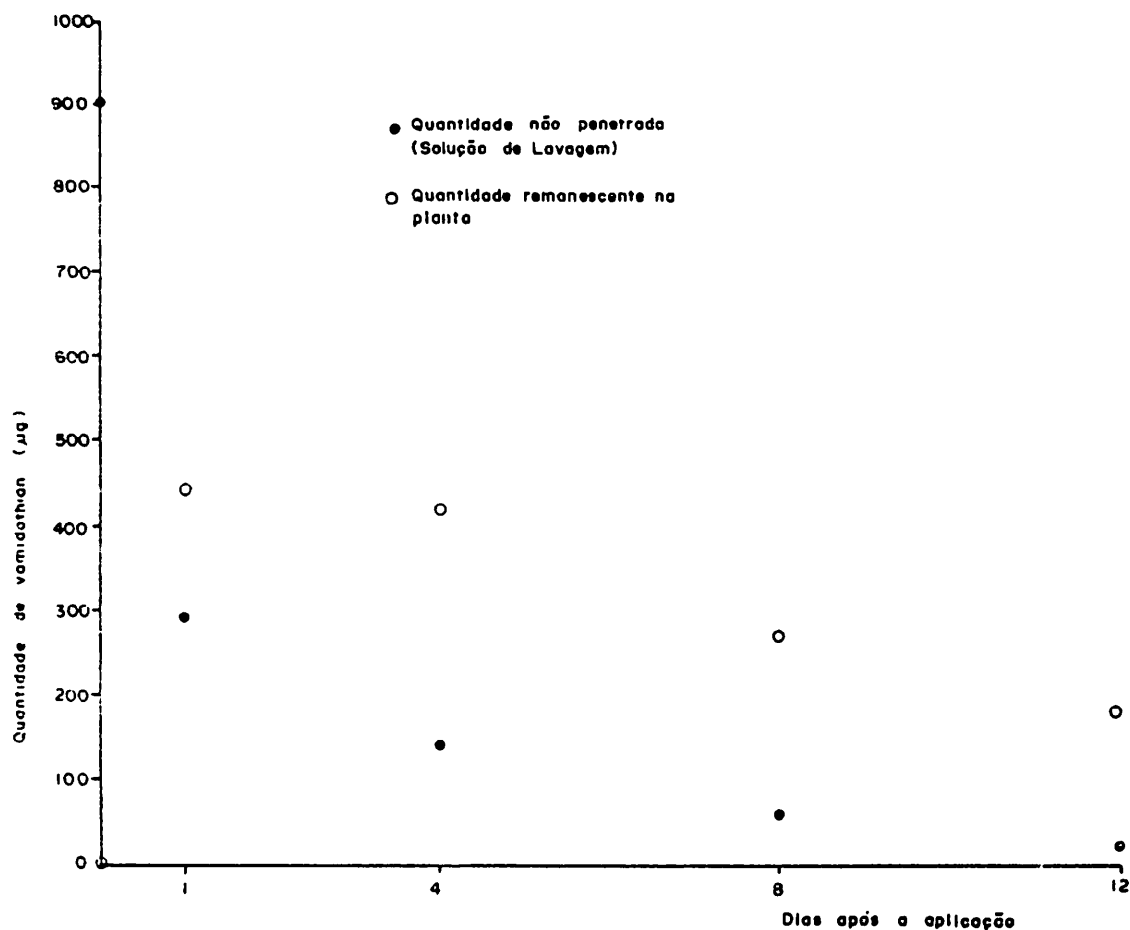


FIGURA 4 - Penetração de vamidothion em folhas de feijoeiro. Os pontos mostram valores obtidos de 2 plantas (6 folíolos) conjuntamente analisadas, tendo sido aplicadas 150 μg de vamidothion/folíolo.

4.5. Translocação e metabolismo de vamidothion em plantas de trigo

4.5.1. Penetração de vamidothion nas folhas

Nos experimentos com plantas de trigo, a aplicação do vamidothion foi feita sobre a superfície da terceira folha, utilizando-se uma formulação comercial do composto (KILVAL 300 CE). A fim de investigar a penetração de vamidothion na folha tratada, essa foi submetida à lavagem com acetona e os resíduos na solução de lavagem foram separadamente determinados.

Na Figura 5 são apresentadas as quantidades de vamidothion na solução de lavagem e no interior da planta, aos 4, 8 e 12 dias após a aplicação. Vamidothion e seus produtos de oxidação foram quantificados na forma de sulfona de vamidothion e os resultados foram transformados em quantidade equivalente de vamidothion.

Examinando-se a Figura 5, observa-se que a penetração de vamidothion nas folhas de trigo foi bastante rápida. Aos 4 dias após a aplicação, apenas cerca de 3% foi encontrado na solução de lavagem; aos 8 e 12 dias, as quantidades encontradas foram muito baixas, quase que desprezíveis. Esta rápida penetração indica que na formulação do inseticida KILVAL 300 CE existe uma substância surfactante, pois a taxa de penetração foliar de compostos polares per se é baixa, conforme observado por CHAMBERLAIN et alii (1987) em seu trabalho sobre penetração de pesticidas em

folhas de cevada. Esses autores também observaram que a adição de um surfactante (NP8) à solução de aplicação aumentou substancialmente a penetração foliar de compostos polares. Em comparação com plantas de feijoeiro, a penetração de vamidothion foi mais rápida em folhas de trigo, confirmando a observação de STEVENS & BAKER (1983) que a taxa de penetração foliar de um determinado pesticida é variável entre espécies vegetais.

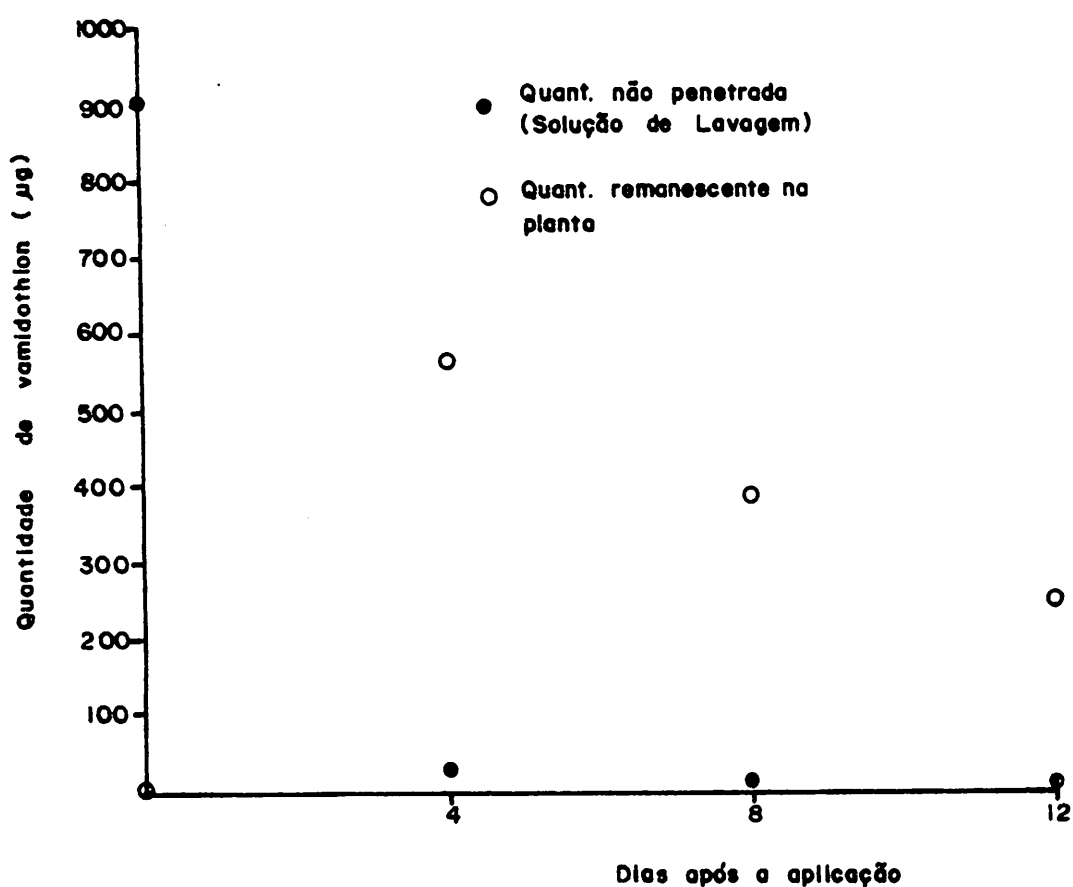


FIGURA 5 - Penetração de vamidothion em folhas de trigo. (Os pontos mostram valores médios de duas repetições, cada uma composta por 6 plantas, com aplicação de $150 \mu\text{g}$ de vamidothion/planta).

4.5.2. Translocação na planta

As quantidades de vamidothion e de seus produtos de oxidação nas diferentes partes da planta de trigo, aos 4, 8 e 12 dias após aplicação de uma solução de KILVAL 300 CE a 1%, na superfície da terceira folha, são mostradas na Tabela 7. As folhas tratadas foram lavadas com acetona, removendo assim, a quantidade do composto não penetrado. Vamidothion e seus produtos de oxidação foram quantificados na forma de sulfona de vamidothion. Os resultados foram corrigidos de acordo com a porcentagem de recuperação para o metabólito sulfóxido (que é a forma predominantemente encontrada em plantas, conforme observado em feijoeiro) e transformados em quantidades equivalentes de vamidothion.

Examinando-se a Tabela 7, observa-se que a grande parte do vamidothion recuperado no interior da planta se encontrava na folha tratada até os 12 dias após a aplicação. Observa-se também que houve transporte de quantidades relativamente pequenas para outras partes da planta, preferencialmente para a folha oposta, folhas novas e perfilho. Esses resultados indicam que, a exemplo daquilo observado em plantas de feijoeiro, o vamidothion e seus produtos de oxidação, transportados via floema para as regiões inferiores da planta, não são retidos nessas regiões e acabam retornando para as folhas, via xilema, podendo ser transportados também para os perfilhos, no caso de plantas de trigo.

TABELA 7 - Distribuição de vamidothion e de seus produtos de oxidação, conjuntamente analisados, em plantas de trigo após a aplicação de vamidothion na superfície da terceira folha.

Dias após a aplicação	Parte da planta					
	Folha tratada	Folha oposta	Folhas novas	Colmo	Raiz	Perfilho
	a					b
4	525,10 (83,73)	9,42 (0,25)	12,87 (2,19)	14,42 (3,27)	3,55 (0,54)	-
8	342,34 (30,95)	8,57 (0,31)	19,05 (1,09)	5,56 (0,29)	1,57 (0,20)	8,91 (2,80)
12	218,79 (9,10)	5,46 (0,07)	12,36 (0,81)	2,91 (0,35)	1,24 (0,08)	11,46 (0,82)

a - Valores expressos em μg de vamidothion (média de duas repetições, cada uma composta de 6 plantas, tendo sido aplicadas 150 μg de vamidothion/planta). Os valores entre parêntesis referem-se ao erro padrão da média.

b - Plantas ainda não haviam emitido o perfilho.

A baixa eficiência de transporte de vamidothion e de seus produtos de oxidação para as folhas não tratadas pode ser explicada se o retorno dos compostos, após o transporte para o colmo ou raízes, ocorrer predominantemente para a folha tratada. Alternativamente, a baixa eficiência de transporte pode ser explicada se o escape dos compostos do floema ocorre em grande parte ao longo do limbo foliar. Nesse caso, quanto maior for a tendência

dos compostos de se acumularem no ápice da folha tratada, menor será a eficiência de transporte para outras partes da planta.

A fim de investigar a distribuição dos compostos ao longo do limbo da folha tratada, conduziu-se um novo experimento, no qual a folha tratada foi dividida em três regiões distintas (basal, mediana e apical) sendo que apenas a região mediana da folha recebeu a aplicação da solução de KILVAL. Nas datas de amostragem (1, 4, 8 e 12 dias) as partes foram analisadas separadamente. A parte mediana, a qual recebeu o composto, foi lavada com acetona a fim de retirar parte do composto não penetrado. As quantidades de vamidothion total encontradas nas diferentes partes são mostradas na Tabela 8. Os resultados foram corrigidos de acordo com a porcentagem de recuperação para o metabólito sulfóxido e transformados em quantidades equivalentes de vamidothion. Observou-se que, logo no 1º dia após a aplicação, cerca de 64% do total recuperado se encontrava no ápice da folha. Aos 12 dias, cerca de 90% do composto recuperado se encontrava no ápice da folha. Assim, o escape do vamidothion do floema e subsequente retorno via xilema é esperado ocorrer em grande parte ao longo do limbo foliar, reduzindo assim a eficiência de transporte do composto para outras partes da planta.

TABELA 8 - Distribuição de vamidothion e de seus produtos de oxidação, conjuntamente analisados, no limbo da terceira folha de plantas de trigo, após a aplicação de vamidothion na região mediana do limbo foliar.

Dias após a aplicação	Parte da folha	Ápice	Meio	Base
		a		
1		148,26	78,25	4,02
4		142,08	8,75	2,57
8		59,72	4,32	1,85
12		37,07	3,19	1,24

a - Valores expressos em quantidades equivalentes de vamidothion. (Valores totais obtidos de 3 limbos foliares, conjuntamente analisados, tendo sido aplicadas 90 μg de vamidothion/limbo).

Os resultados apresentados na Tabela 7 permitiram construir uma curva representativa da degradação de vamidothion a compostos inativos nas plantas de trigo (Figura 6). A quantidade de vamidothion e de seus produtos de oxidação encontrada na planta toda, em cada data de amostragem, foi transformada em quantidades equivalentes de vamidothion, e o resultado foi expresso em termos da quantidade remanescente de vamidothion em relação a quantidade aplicada. Observa-se pela Figura 6 que o valor de meia-vida de degradação do vamidothion em plantas de trigo foi ao redor de 6,5 dias, mostrando que o composto é razoavelmente estável nessas plantas, embora a estabilidade seja menor do que nas plantas de

feijoeiro.

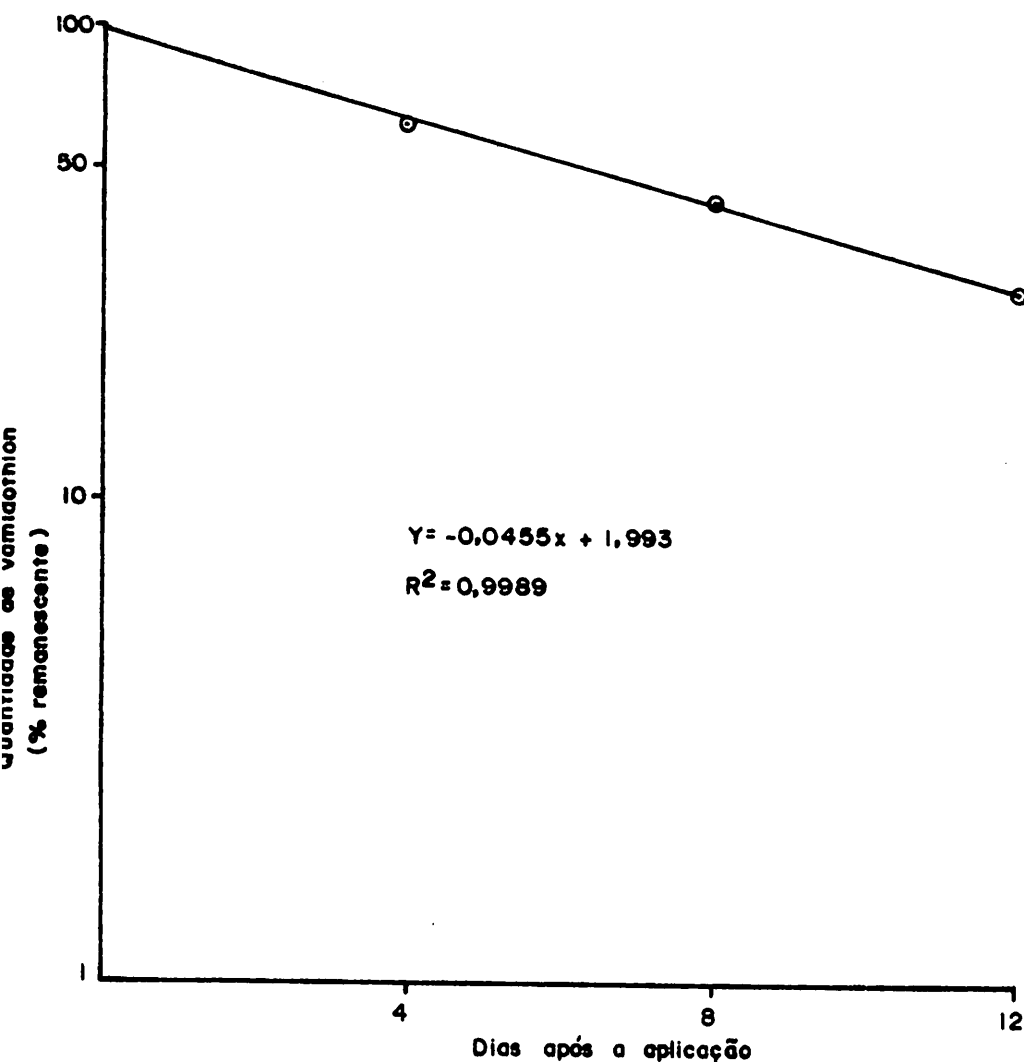


FIGURA 6 - Degradação de vamidothion em plantas de trigo. (Detalhes no texto).

4.6. Considerações finais

Os resultados obtidos no presente trabalho confirma-

ram que o vamidothion e/ou seus metabólitos ativos, sulfoxido e sulfona de vamidothion, são transportados através do floema em plantas de trigo e feijoeiro. Contudo, a eficiência de transporte dos compostos de uma folha desenvolvida para outras partes da planta foi muito baixa. A quantidade de vamidothion total (soma-tória de vamidothion e seus metabólitos ativos) encontrada nas fo-lhas novas de trigo, após a aplicação de vamidothion na superfície da terceira folha, foi sempre inferior a 2% da quanti-dade de vamidothion aplicada. Esses resultados indicam que é pou-co provável que as folhas novas de trigo, emitidas após a aplica-ção de vamidothion sobre as folhas mais velhas, sejam protegidas contra o ataque dos pulgões das folhas, conforme especulado duran-te a elaboração do projeto desse trabalho.

Da mesma forma, é muito pouco provável que o transpor-te de vamidothion para as raízes do trigo seja suficiente para o controle do pulgão da raiz (Rhopalosiphum rufiabdominale), apesar de muitos técnicos e pesquisadores em fitossanidade mencionarem que o produto KILVAL 300 CE controla esse pulgão após a aplicação do produto em pulverização foliar.

O inseticida vamidothion, na sua forma sulfóxido, é o inseticida mais polar dentre aqueles atualmente disponíveis no comércio. Conforme mencionado anteriormente, BROMILOW et alii (1987) demonstraram que quanto maior a polaridade de um insetici-da, melhor é a sua eficiência de transporte no floema. Assim sen-do, ainda não há no comércio outro inseticida com perspectivas de transporte no floema mais eficiente que aquele do vamidothion.

Conforme mencionado anteriormente na revisão de lite-

ratura, alguns trabalhos sobre translocação de pesticidas em plantas demonstraram que compostos com um radical ácido são eficientemente transportados no floema. No entanto, os inseticidas atualmente disponíveis são todos não-ionizáveis. Assim, enquanto não forem sintetizados compostos inseticidas com um radical ácido associado à molécula, os inseticidas sistêmicos continuarão restritos a compostos que são transportados predominantemente no xilema das plantas. Consequentemente, as vantagens no uso de inseticidas que transloquem eficientemente no floema, conforme apresentadas na introdução a esse trabalho, ficam ainda por serem exploradas.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:

a) O inseticida vamidothion e seus metabólitos ativos, sulfóxido e sulfona de vamidothion, são compostos de natureza polar, com valores de $\log K_{ow}$ (logarítimo do coeficiente de partição entre octanol e água) iguais a -0,12; -1,25 e -0,93, respectivamente.

b) A dissipação do vamidothion na superfície foliar, após a aplicação do produto comercial KILVAL 300 CE, é esperada ser muito baixa, pois decorridos 12 dias após a aplicação desse produto sobre lâminas de vidro, a quantidade remanescente do vamidothion foi equivalente a cerca de 70% da quantidade aplicada.

c) A penetração do vamidothion em folhas de trigo e feijoeiro tratadas com KILVAL 300 CE é bastante eficiente, pois a lavagem das folhas com acetona aos 4 dias após a aplicação resultou na remoção de quantidades de vamidothion equivalentes a apenas cerca de 3 e 15%, respectivamente para trigo e feijoeiro.

d) A degradação do vamidothion a compostos inativos no interior das plantas é moderadamente rápida, com valores de meia-vida de degradação em torno de 6 e 10 dias, respectivamente para trigo e feijoeiro.

e) O vamidothion e seus metabólitos ativos são transportados em plantas de trigo e feijão predominantemente através do xilema, com os compostos acumulando-se no ápice de folhas de trigo tratadas topicamente e no limbo de folhas de feijoeiro tratadas via injeção no pecíolo.

f) A eficiência de transporte do vamidothion e/ou seus metabólitos ativos de uma folha tratada para outras partes das plantas de trigo e feijoeiro é muito baixa, pois as quantidades dos compostos encontrados nessas partes foram inferiores a 5% da quantidade de vamidothion aplicada.

6. RESUMO

Com o presente trabalho objetivou-se investigar a translocação e metabolismo do inseticida vamidothion em plantas de trigo e feijoeiro após a aplicação do composto nas folhas.

Os experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação utilizando-se plantas com 4 semanas de idade. Com auxílio de uma microseringa, uma solução em água a 1% do produto KILVAL 300 CE (300 g de vamidothion/l) foi aplicada na forma de pequenas gotas, sobre a superfície de uma das folhas desenvolvidas. No caso de plantas de feijoeiro, foi também utilizada a técnica de injeção de uma solução do composto no pecíolo. Aos 4, 8 e 12 dias após a aplicação, as quantidades de vamidothion na folha tratada, nas folhas não tratadas, no caule (ou colmo) e raízes foram determinadas separadamente. Vamidothion e seus produtos de oxidação ativos (sulfóxido e sulfona de vamidothion) foram determinados por cromatografia de camada delgada em sílica gel, seguida de cromatografia gás-líquido, utilizando-se detector de captura de elétrons.

Constatou-se uma eficiente absorção de vamidothion pelas folhas, com apenas 3 e 16% da quantidade aplicada do compos

to sendo removidos da superfície das folhas de trigo e feijoeiro, respectivamente, através da lavagem com acetona, aos 4 dias após a aplicação. O vamidothion foi extensivamente oxidado a sulfóxido de vamidothion no interior das plantas de feijoeiro, com as quantidades do metabólito sulfona permanecendo muito baixas ao longo do experimento. A degradação do vamidothion a compostos i-nativos no interior das plantas foi moderadamente rápida, com valores de meia-vida de degradação de 6,5 e 10 dias, respectivamente para trigo e feijoeiro.

A aplicação de vamidothion em plantas de feijoeiro , via injeção no pecíolo, resultou em rápido transporte do composto para o limbo foliar. Um exame da distribuição de vamidothion e seus metabólitos ativos no limbo foliar revelou uma tendência dos compostos de se acumularem no bordo dos folíolos. Em plantas de trigo, o vamidothion e seus produtos de oxidação foram predominantemente transportados, via xilema, para o ápice das folhas tratadas.

Observou-se o transporte de quantidades relativamente pequenas do inseticida vamidothion e/ou seus produtos de oxidação da folha tratada para outras partes das plantas de trigo e feijoeiro, principalmente para folhas não tratadas e caule (ou colmo). A quantidade dos compostos nessas partes, em relação à quantidade remanescente na planta toda, aumentou com o transcorrer do tempo, chegando a 13% em trigo e 12% em feijoeiro, aos 12 dias após a aplicação. As quantidades dos compostos nas raízes foram muito baixas (menos que 1% da quantidade remanescente), indicando que, embora esses compostos sejam transportados da folha tratada para outras partes das plantas através do floema, eles não

são retidos nas partes inferiores das plantas, retornando para as folhas através dos vasos do xilema.

7. SUMMARY

METABOLISM AND TRANSLOCATION OF THE INSECTICIDE VAMIDHOTHION IN WHEAT (Triticum aestivum L.) AND COMMON BEAN (Phaseolus vulgaris L.) PLANTS AFTER FOLIAR APPLICATION

This work examines the metabolism and translocation of the insecticide vamidothion in wheat and common bean plants after foliar application of the chemical.

The experiments were carried out using 4-week-old plants growing in a glasshouse. A solution of vamidothion in water was either injected into the petiole of a bean leaf or applied on the surface of a wheat or bean leaf, with a commercial formulation (KILVAL 300 EC) being used for surface application. At 4, 8 and 12 days after application, the amounts of vamidothion and its active metabolites sulfoxide and sulphone were measured in the treated leaf, non-treated leaves, stem and roots. The compounds were determined by gas-liquid chromatography with electron capture detector, after thin layer chromatography of plant extracts.

Vamidothion was efficiently taken up by the leaves, with only 3 and 16% of the applied amount being removed by acetone washing, from wheat and bean leaves respectively, after 4 days since application. Vamidothion was extensively oxidized to vamidothion sulphoxide in the plants, with the amounts of the sulphone remaining very low throughout the experiment. The degradation of vamidothion in the plants was moderately rapid, with half-life values of 6,5 and 10 days, respectively in wheat and bean plants.

Vamidothion and/or its oxidation products were readily transported to the leaflet blade after injection of the chemical into the petiole of a bean leaf. The compounds tended to accumulate in the margin of bean leaflets and were found predominantly in the apex of treated wheat leaves. Relatively small amounts of the compounds were found in non-treated parts of the plants, mainly in non-treated leaves and stem. The amounts found in non-treated parts of the plants increased with time (on the basis of the remaining amount in the whole plant), reaching 13% in wheat and 12% in bean plants, after 12 days since application. The amounts found in the root system were very low (less than 1% of the amount remaining in the whole plants), indicating that, although the compounds were transported from the treated leaf to other parts of the plant through the phloem, they were not retained in the lower parts of the plants and were transported subsequently to the leaves through the xylem.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRIGGS, G.G. Factors affecting the uptake of soil-applied chemicals by plants and other organisms. In: SYMPOSIUM ON SOILS AND CROP PROTECTION CHEMICALS - British Crop Protection Conference. Harpenden, 1984. p.35-47. (Rothamsted Experimental Station, Harpenden, Herts - BCPC monografia, 27).

_____. Relationships between chemical structure and the behaviour and fate of pesticides. In: Proceedings British Crop Protection Conference - Pest and Diseases, 1981. p.701-10.

_____; BROMILOW, R.H.; EDMONDSON, R. & JOHNSTON, M. Distribution coefficients and systemic activity. In: McFarland, N.R. Herbicides and fungicides; factors affecting their activity. London, 1974. p.129-34. (Chemical Society Special Publication, 29).

BRIGGS, G.G.; BROMILOW, R.H. & EVANS, A.A. Relationships between lipophilicity and root uptake and translocation of non-ionised chemical by barley. Pesticide Science, Oxford, 13:495-504, 1982.

_____; RIGITANO, R.L.O. & BROMILOW, R.H. Physico-chemical factors affecting uptake by roots and translocation to shoots of weak acids in barley. Pesticide Science, Oxford, 19(2): 101-12, 1987.

BROMILOW, R.H.; CHAMBERLAIN, K. & BRIGGS, G.G. Techniques for studying the uptake and translocation of pesticides in plants. Aspects of Applied Biology, Harpenden, 11:29-44, 1986.

_____; RIGITANO, R.L.O.; BRIGGS, G.G. & CHAMBERLAIN, K. Phloem translocation of non-ionised chemicals in Ricinus communis L. Pesticide Science, Oxford, 19(2):85-9, 1987.

CHAMBERLAIN, K.; BRIGGS, G.G.; EVANS, A.A. & FANG, C.Q. The influence of physico-chemical properties of pesticide on uptake and translocation following foliar application. Aspects of Applied Biology, Harpenden, 14:293-304, 1987.

CHRIST, R. Physiological and physico-chemical requisites for the transport of xenobiotics in plants. In: CONGRESS OF PESTICIDE CHEMISTRY, Zurich, 1978. Proceedings... Oxford, Pergamon Press, 1979. p.420-9.

- COLLANDER, R. Cell membranes: their resistance to penetration and their capacity for transport. In: STEWARD, F.C. Plant Physiology. New York Academic Press, 1959. p.3-102.
- CRAFTS, A.S. & CRISP, C.E. Phloem transport in plants. San Francisco, Freeman Pub. Co., 1971. 481p.
- CRISP, C.E. The molecular design of systemic insecticides and organic functional groups in translocation. In: CONGRESS OF PESTICIDE CHEMISTRY, 2, Tel Aviv, 1972. Proceedings... New York, Gordon and Breach Science Publishers, 1972. p.261-264.
- DONALDSON, T.W.; BAYER, D.E. & LEONARD, O.A. Absorption of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 3-(p-chlorophenyl)-1,1-dimethyl-urea (monuron) by barley roots. Plant Physiology, Washington, 52:638-45, 1973.
- EDGINGTON, L.V. Structural requeriments of systemic fungicides. Annual Review Phytopathology, Palo Alto, 19:107-24, 1981.
- FABI, M.T. Modo operatório de dosagem de vamidothion a nível de resíduo de pesticida em amendoim, trigo, café. Campinas, Rho-dia S.A., 1985. 13p.
- GASSEN, D.N. Manejo integrado de pragas em trigo. Informe Agro-pecuário, Belo Horizonte, 97(9):47-9, 1983.

LEO, A.J.; HANSCH, C. & EVANS, D. Partition coefficients and their uses. Chemical Reviews, 71:525-616, 1971.

MATSUMURA, F. Toxicology of Insecticides. New York, Plenum Press, 1980. 503p.

MOORBY, J. Transport Systems in Plants. New York, Longman Inc., 1981. 165p.

PATE, J.S. Exchange of solutes between phloem and xylem and circulation in the whole plant. In: ZIMMERMANN, M.H. & MILBURN, J.A. ed. Transport in Plants; Phloem transport. Springer-Verlag, 1975. v.1, p.451-468. (Encyclopedia of plant physiology, New Serie).

PETERSON, C.A. & EDGINGTON, L.V. Entry of pesticide into the plant symplast as measured by their loss from an ambient solution. Pesticide Science, Oxford, 7:483-91, 1976.

_____; WILDT, P.P.Q. de & EDGINGTON, L.V. A rationale for the ambimobile translocation of the nematocide Oxamyl in plants. Pesticide Biochemistry and Physiology, New York, 8:1-9, 1978.

RICHARDSON, M. Translocation in Plants. 2.ed., Southhampton, The Camelot Press Ltd., 1976. 59p.

- RIGITANO, R.L.O.; BROMILOW, R.H.; BRIGGS, G.G. & CHAMBERLAIN, K.
Phloem translocation of weak acids in Ricinus communis. Pesticide Science, Oxford, 19(2):113-33, 1987.
- SCHONHERR, J. Transcuticular movement of xenobiotics. Advances in Pesticide Science, 3:392-400, 1978.
- SHONE, M.G.T. & WOOD, A.V. A comparison of the uptake and translocation of some organic herbicides and a systemic fungicide by barley. Journal of Experimental Botany, Oxford, 25:390-400, 1974.
- STEVENS, P.J.G. & BAKER, E.A. Physico-chemicals aspects of foliar uptake. Proceedings, 10th International Congress of Plant Protection, 1983. v.2.
- TAYLOR, F.E.; COBB, A.H. & DAVIES, L.G. The behaviour of bentazone on stomatal behaviour in Chenopodium album L. New Phytologist, (83):369-76, 1980.
- TYREE, M.T.; PETERSON, C.A. & ADGINGTON, L.V. A simple theory regarding ambimobility of xenobiotics with special reference to the nematocide oxamyl. Plant Physiology, Washington, 63:367-74, 1979.
- VAN DEN BOSCH, R. & MESSENGER, P.S. Biological control, Berkeley, Intext Press, 1973. 180p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Vamidothion. In: _____. 1973 evaluations of some pesticide residues in food the monographs. Geneva, 1974. p.453-73. (WHO pesticide residues series, 3).

WORTHING, C.R. The pesticide manual. 7.ed. London, British Crop Protection Council, 1983. 695p.