

ABSORÇÃO, ACÚMULO E METABOLIZAÇÃO DE ¹⁴C-LINURON

ELEMAR VOLL², RICARDO VICTÓRIA FILHO³, FREDERICK T. CORBIN⁴
e ARCH D. WORSHAM⁵

RESUMO - Com o objetivo de obter indicações no processo fisiológico de controle de plantas daninhas para o herbicida linuron em mistura com alachlor foram conduzidos experimentos com soja (*Glycine max* (L.) Merr. cv. Ramson) e com pepino (*Cucumis sativus* L. cv. Wisc. SMR58 Pickles) e ançarinha-branca (*Chenopodium album* L.) em vasos com terra e em solução nutritiva. Nesta foi usado ¹⁴C-linuron com atividade específica de 6,84 µCi/mg. Em vasos com terra, alachlor protegeu as plântulas de pepino, e não as de soja e ançarinha-branca, da fitotoxicidade de linuron, quando incorporados juntos por ocasião do plantio. Em solução nutritiva contendo alachlor e linuron, plântulas de soja e pepino introduzidas com três dias de idade não manifestaram a proteção de alachlor contra o efeito fitotóxico do linuron, somando-se os efeitos fitotóxicos de ambos. Soja absorveu e metabolizou maiores quantidades de linuron que pepino, mostrando, assim, maior susceptibilidade. Maiores concentrações de linuron foram encontradas nas folhas unifolioladas da soja e nos cotilédones do pepino. Linuron provocou redução da biomassa de soja e pepino, com exceção dos cotilédones e do hipocótilo da soja. Linuron sozinho reduziu a absorção de água em soja e pepino; essa redução foi acentuada quando em mistura com alachlor.

Termos para indexação: *Glycine max*, soja, pepino, fitotoxicidade, metabolismo.

UPTAKE, ACCUMULATION, AND METABOLISM OF ¹⁴C-LINURON

ABSTRACT - In order to get information on physiological process of weed control of linuron in mixture with alachlor experiments with soybeans (*Glycine max* (L.) Merr. cv. Ramson) and cucumber (*Cucumis sativus* L. cv. Wisconsin SMR58 Pickles) were carried out in pots filled with soil and in nutrient solution. The ¹⁴C-linuron sample presented a specific activity of 6.84 µCi/mg. In pots filled with soil, alachlor protected cucumber seedlings, but not soybeans and lambquarter from linuron phytotoxicity, when both were incorporated at planting time. In nutrient solution with alachlor and linuron, three days old soybean and cucumber seedlings did not show alachlor protection against linuron damage, adding phytotoxicity effects of both. Linuron absorption and metabolism was greater in soybeans than in cucumber. Higher linuron content was observed in the unifoliolate leaves of soybeans and in the cotyledons of cucumber. Linuron reduced soybeans and cucumber biomass, but cotyledons and hypocotyl of soybeans were not affected. Linuron alone reduced water absorption in soybeans and cucumber; this reduction was enhanced when in mixture with alachlor.

Index terms: *Glycine max*, soybeans, cucumber, phytotoxicity, metabolism.

¹ Aceito para publicação em 24 de novembro de 1989. Extraído da Tese de Doutorado em Agronomia, apresentada à (ESALQ/USP), pelo primeiro autor.

² Eng. - Agr., Dr., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Soja (CNPSo), Caixa Postal 1061, CEP 86001 Londrina, PR.

³ Eng. - Agr., Dr., Prof. - Adj., Dep. de Agric. e Hort. Plantas Daninhas, ESALQ, Caixa Postal 9, CEP 13400 Piracicaba, SP.

⁴ Eng. - Agr., Ph.D., Prof., Weed Physiology, North Carolina State University, 4205 Williams Hall, Raleigh, NC 27650.

⁵ Eng. - Agr., Ph.D., Prof., Weed Science, 3123 Ligon Street, Raleigh, NC 27650.

INTRODUÇÃO

Os herbicidas linuron [3-(3,4-diclorofenil)-1-metoxi-1-metil-uréia] e alachlor (2-cloro-2', 6'-dietil-N- metoximetil acetanilida) são recomendados para uso em diversas culturas para controle de um largo espectro de plantas daninhas de folhas largas e estreitas (Weed Science Society of America 1983). A combinação destes dois herbicidas é comumente usada em sistemas de plantio convencional e direto, para

controle de diversas espécies de plantas daninhas. Estas combinações podem ser afetadas por fatores do meio ambiente – como: pH do solo (Ladlie et al. 1976) –, pelo modo de aplicação (York & Slife 1981), e pelos resíduos de herbicidas (Worsham & Lewis 1973, Ladlie et al. 1976, Ladlie (1977) e outras substâncias químicas (Leavit & Penner 1978, Niffeler et al. 1980), que podem reduzir, ou mesmo aumentar, o controle das plantas daninhas e os possíveis efeitos fitotóxicos em plantas da cultura.

A seletividade dos herbicidas em plantas tem-se mostrado dependente de vários fatores fisiológicos, como: taxa de absorção, translocação, acumulação e metabolismo. Smith et al. (1966), estudando a absorção de herbicidas do grupo α -cloroacetanilidas por algumas espécies de plantas, observaram que o milho (*Zea mays* L.), uma das espécies mais resistentes, absorveu menor quantidade do produto do que aveia (*Avena sativa* L.) e pepino (*Cucumis sativus* L.), espécies susceptíveis. Por sua vez, a soja (*Glycine max* (L.) Merr.), outra espécie resistente, absorveu cerca de três vezes mais do que o milho. Hogue & Warren (1968) observaram que linuron era prontamente absorvido pelas raízes de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) e distribuído através da planta; entretanto, em pastinaca (*Pastinaca sativa* L.) a maior parte do herbicida absorvido permanecia nas raízes. O linuron foi amplamente metabolizado nas folhas de pastinaca, enquanto poucos metabólitos foram encontrados em tomate. Por consequência, o herbicida causou rápida e completa inibição da fotossíntese em tomate. Colby (1965) mostrou que o herbicida chloramben (ácido 3-amino-2,5-diclorobenzóico), em soja, foi todo transformado num conjugado de glucose, contudo a espécie susceptível cevada (*Hordeum vulgare* L.), continha somente uma pequena percentagem do chloramben na forma conjugada.

Rosemond et al. (1975) mostraram que o controle seletivo de "Nimblewill" (*Muhlenbergia schreberi* J.F. Gmel.) em "Kentucky bluegrass" (*Poa pratensis* L.), ambas as espécies tratadas via foliar metabolizaram, respec-

tivamente, 30 e 50% do linuron absorvido, e que o material de ^{14}C translocado foi 36 e 22%, respectivamente. Os metabólitos predominantes foram identificados em ambas as espécies como sendo 3-(3,4-diclorofenil)-1-metoxi-uréia e 3-(3,4-diclorofenil)-uréia. Nashed & Inicki (1970), detectaram frações de metabólitos como 3-(3,4-diclorofenil)-1-metoxi-uréia, 3,4-dicloroanilina e um conjugado prótico de linuron, representando 15 a 25% do herbicida absorvido. Foi observado, também, que a absorção de linuron pelas raízes parece ser passiva e governada pela absorção de água. Em adição aos metabólitos N-dealquilados, outros produtos muito mais polares e formando conjugados glucosídicos em quantidades significativas foram observados com monuron [3-(p-clorofenil)-1,1-dimetil-uréia] por Frear & Swanson, citados por Geissbühler et al. (1975). Estes revelaram ser estruturas de dois B-D-glucosídios.

O objetivo deste trabalho foi determinar os padrões de absorção, acúmulo e metabolismo de ^{14}C -linuron em plantas de soja e pepino, na ausência e presença de alachlor, para indicações no controle de plantas daninhas.

MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos de pesquisa, conduzidos em casa de vegetação e câmara-de-crescimento, foram estabelecidos durante os anos de 1983 e 1984, na Universidade Estadual da Carolina do Norte, em Raleigh, nos Estados Unidos.

Estudo da interação dos herbicidas alachlor e linuron em casa de vegetação, em três diferentes espécies de plantas

Três experimentos foram conduzidos. Foram usados vasos de papel encerado, enchidos com 450 g de solo seco ao ar, numa proporção de 3:2 de areia:argila, com capacidade de campo conhecida. Pepino e soja foram plantados a 1,5 cm de profundidade, e a ançarinha-branca – ou simplesmente ançarinha (*Chenopodium album* L.) –, a 0,5 cm. O delineamento experimental para pepino foi o de blocos ao acaso, em fatorial incompleto, com três repetições. Os tratamentos foram: linuron a 0,0, 0,12, 0,25, 0,5 e 1,0 ppm, e estas mesmas doses em combi-

nações com 2,0 ppm de alachlor, e combinações de 0,25, 0,5 e 1,0 ppm de alachlor com 0,5 ppm de linuron. Os experimentos com soja e ançarinha tiveram seus tratamentos distribuídos num delineamento em blocos ao acaso, fatorial 5 x 5, com três repetições. As doses de alachlor foram 0,0, 0,12, 0,25, 0,5 e 1,0 ppm; as doses de linuron foram 0,0, 0,06, 0,12, 0,25 e 0,5 ppm. Soluções padrões de alachlor e linuron foram preparadas, combinadas e adicionadas aos vasos, com quantidades de água para atingir a capacidade de campo. A solução nutritiva de Hoagland foi usada uma vez por semana, para suprir os nutrientes necessários. Água de torneira foi usada para repor a umidade do solo nos vasos, mantida acima de 50% da capacidade de campo. Após a emergência, as plantas de pepino, soja e ançarinha foram desbastadas de seis para três, de quatro para duas e de aproximadamente vinte para quatro plantas/vaso, respectivamente. As determinações finais foram feitas após 28 dias do plantio através da biomassa fresca da parte aérea para pepino, soja e ançarinha, e biomassa seca das raízes, para soja e ançarinha. Os dados foram transformados em percentagem da testemunha não tratada e submetidos a análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de Duncan ao nível de significância de 5%.

Experimentos em câmara de crescimento

Determinação de dosagens - Doses subletais dos herbicidas alachlor e linuron foram determinadas em meio de cultura, para soja e pepino, para estudos de ¹⁴C-linuron e alachlor. As doses escolhidas foram: a) para a soja, alachlor 1,0 ppm e linuron 0,32 ppm, que causaram reduções de 17 e 57% na biomassa fresca da parte aérea, respectivamente, em relação à testemunha; b) para o pepino, alachlor 0,12 ppm e linuron 0,08 ppm, que causaram reduções de 14 e 69% na biomassa fresca, respectivamente. A escolha das doses baseou-se em limites de redução da biomassa fresca da parte aérea, variando de 15 a 25% em relação à testemunha, sem tratamento (100%), para o alachlor e, de 50 a 75% para o linuron. Para o alachlor, ao contrário do linuron, tal dose não causaria reduções consideráveis da biomassa fresca da parte aérea da planta, e daria proteção contra os efeitos do linuron, à semelhança de resultados obtidos anteriormente pelo autor, em experimentos em vasos com terra. A condução geral dos experimentos seguiu a metodologia usada por Pinto & Corbin (1980).

Cultura de plantas - Sementes de soja e pepino foram germinadas em vasos de plástico contendo

uma mistura de vermiculita, musgo e cascalho (1:1:1, v:v:v) e irrigadas diariamente com água. Aos três dias após a germinação, as plântulas foram lavadas com água destilada e transferidas para frascos de Erlenmeyer de 250 ml contendo 100 ml de solução nutritiva de Hoagland, 50% diluída, com pH 6,0. Duas plântulas por frasco foram cultivadas numa câmara-de-crescimento, numa combinação de bulbos de luz fluorescente e incandescente, numa intensidade de 12 klux, posicionado a 0,5 m acima das plantas em crescimento. O comprimento do dia e a temperatura foram mantidas a 13 horas e 26°C, respectivamente.

Tratamento químico - Linuron técnico ¹⁴C-radioativo foi fornecido pela Du Pont americana, tendo uma atividade específica de 6,84 µCi/mg e pureza em ¹⁴C-linuron em mais de 99%. Uma solução-estoque de 5 µCi de ¹⁴C-linuron foi preparada em metanol. A dose de linuron radioativo aplicada a cada 100 ml de meio de cultura por frasco foi de 25 µg (0,19 µCi) e de 7,6 µg (0,05 µCi), para soja e pepino, respectivamente. Os tratamentos para soja e pepino foram: testemunha (sem herbicidas), alachlor, ¹⁴C-linuron e ¹⁴C-linuron mais alachlor. As doses previamente determinadas para uso em soja foram: alachlor 1,0 ppm e linuron 0,32 ppm; em pepino, foram: alachlor 0,12 ppm e linuron 0,08 ppm. Três experimentos seqüenciais em delineamentos inteiramente casualizados foram conduzidos para soja, e apenas um para pepino, com duas plantas por frasco de Erlenmeyer, com duas repetições cada.

Análise dos dados - A absorção cumulativa de água em ml foi determinada medindo-se os consumos diários das plantas e fazendo-se a sua reposição com água destilada para os 100 ml de volume iniciais. A contagem por minuto (CPM), durante cinco minutos, foi registrada no espectrômetro de cintilação líquida e transformada em desintegrações por minuto (DPM), ou seja: $DPM = (CPM/Y) \times 100$, onde: Y = correção de interferência para o coquetel de cintilação usado. Estas foram transformadas em µg/g para ¹⁴C-linuron/biomassa fresca da planta, usando a fórmula $^{14}C \mu g/g = (DPM/Biomassa\ fresca)/(2.220.000/150 \mu g \ ^{14}C\text{-linuron})$, e seus metabólitos (Pinto & Corbin 1980). Os dados de distribuição do ¹⁴C em extrato de metanol, das respectivas partes de planta, foram corrigidos considerando-se a absorção total de ¹⁴C da solução nutritiva/tratamento. Esta determinação foi mais precisa, por não ter sido afetada por subpipetagens subsequentes do trabalho, e não foi influenciada pelo ¹⁴C retido nos

resíduos de partes de planta do filtro, que foi afetada pelo tratamento com alachlor.

Foi usado um delineamento inteiramente casualizado, com tratamentos em fatorial. Os dados foram submetidos a análise da variância, e as médias, separadas pelo teste DMS (0,05). Os modelos matemáticos das análises de variância foram:

$Y = \mu + T_i + R_j(i) + E_k(ij)$, para as avaliações de absorção diária de radiação e água, e

$Y = \mu + T_i + P_s + (TP)_{is} + R_k(is)$, para as determinações de biomassa, radiação absorvida e metabólitos, por parte de planta, onde: μ = média geral, T_i = efeito do tratamento i , $R_j(i)$ = efeito da repetição j dentro do tratamento i , $E_k(ij)$ = efeito da época de medição k dentro do tratamento i na repetição j , P_s = efeito da parte da planta s , e $(TP)_{is}$ = efeito da interação do tratamento i com a parte da planta s , $R_k(is)$ = efeito da repetição k dentro do tratamento i e parte da planta s . Foram também realizadas regressões quadráticas de acordo com o modelo: $Y = a + b_1X_1 + b_2X_2$, para os dados de absorção de ^{14}C -linuron em função do tempo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Respostas de pepino, soja e ançarinha-branca a interações de alachlor e linuron

A biomassa fresca da parte aérea de plantas de pepino (Tabela 1), sob doses crescentes de linuron, sem alachlor, foi significativamente reduzida na dose de 0,5 ppm de linuron para 26% da testemunha, com redução mais acentuada ainda a 1,0 ppm. Alachlor, na dose de 2,0 ppm, sem linuron, também afetou significativamente a produção de biomassa fresca da parte aérea, reduzindo-a a 82% da testemunha. Redução mais severa de biomassa foi observada com 0,5 ppm de linuron na sua combinação com a dose de alachlor de 0,5 ppm. Combinações de linuron a 0,5 ppm com as doses seguintes de 1,0 e 2,0 ppm de alachlor resultaram em aumentos das biomassas. A última combinação, em relação à aplicação de linuron a 0,5 ppm, significou um aumento da biomassa de 50%. Por sua vez, a dose de 2,0 ppm de

TABELA 1. Respostas de pepino, soja e ançarinha-branca à interação de alachlor e linuron, sob condições de casa de vegetação.

Doses (ppm)		Biomassa (%) ¹				
		Pepino	Soja		Ançarinha	
Alachlor	Linuron	Parte aérea	Parte aérea	Raízes	Parte aérea	Raízes
0,00	0,00	100 a ²	100 a	100 a	100 a	100 a
1,00	0,00	-	91 ab	86 ab	7 b	9 b
2,00	0,00	82 bc	-	-	-	-
0,00	0,25	89 ab	89 abc	-	0	-
0,00	0,50	26 e	77 c	58 cde	0	0
0,00	1,00	2 f	-	-	-	-
0,25	0,50	20 e	77 c	51 de	0	0
0,50	0,50	11 ef	83 abc	62 bcde	0	0
1,00	0,50	50 d	56 d	34 e	0	0
2,00	0,50	76 c	-	-	-	-
2,00	1,00	8 f	-	-	-	-

¹ Parte aérea = biomassa fresca; Raízes = biomassa seca.

² Médias dentro de cada coluna, seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente entre si pelo teste Duncan a 5%.

alachlor com a dose seguinte de 1,0 ppm de linuron eliminou este aspecto protetor de alachlor. A proteção observada pode ter ocorrido em função da redução do sistema radicular, reduzindo assim a absorção de linuron e os seus efeitos sobre pepino, como também observaram Ladlie et al. (1976) e Ladlie (1977) para trifluralin (α , α , α -trifluoro-2,6-dinitro-N,N-dipropil-p-toluidina), que reduziu as absorções de atrazine [2-cloro-4-(etilamino)-6-(isopropilamino)-s-triazina] e metribuzin [4-amino-6-t-butyl-3-(metiltio)-1,2,4-triazina-5-(4H)-one] em soja.

Em soja, sob doses crescentes de linuron, a biomassa fresca da parte aérea foi reduzida significativamente em relação à testemunha (100%), com 0,5 ppm de linuron, a 77% e, a biomassa seca das raízes, a 58%. Alachlor, até a dose usada de 1,0 ppm, sem linuron, não reduziu significativamente a biomassa da parte aérea e das raízes. Ao contrário de pepino, a combinação de 1,0 ppm de alachlor com 0,5 ppm de linuron causou redução mais severa da biomassa fresca da parte aérea, do que a observada a 0,5 ppm de linuron. Não ocorreram reduções adicionais significativas para as raízes.

A biomassa fresca da parte aérea, e a seca das raízes de ançarinha-branca foram reduzidas significativamente com a dose mínima de 0,12 ppm de alachlor. Esta planta daninha mostrou-se altamente sensível ao linuron, morrendo já com a dose de 0,06 ppm.

Comparando-se as espécies, observa-se que soja, a espécie menos sensível, não foi protegida pelo alachlor contra os efeitos do linuron, apresentando efeitos de ambos que se somam. No entanto, efeitos protetores foram observados para pepino, uma espécie mais sensível a ambos os herbicidas do que a soja. Nas doses testadas, a espécie mais sensível das três foi a ançarinha-branca, afetada significativamente pelas doses crescentes de alachlor e não sobrevivendo mesmo na dose mínima de linuron.

Soja e ançarinha-branca mostraram maior sensibilidade das raízes do que da parte aérea a ambos os herbicidas. Efeitos protetores de compostos químicos contra injúrias de herbi-

cidas, têm sido de grande valor, permitindo o uso de herbicidas eficientes sem causar danos às culturas (Worsham & Lewis 1973, Ladlie et al. 1976 e Ladlie 1977). Efeitos protetores, citados por Niffeler et al. (1980) e York & Slife (1981), sugerem também possíveis perdas de eficiência de herbicidas contra espécies de plantas daninhas.

Absorção, acúmulo e metabolismo de ^{14}C -linuron

Absorção de ^{14}C -linuron e água - As absorções diárias cumulativas de ^{14}C -linuron em dpm/planta/dia podem ser descritas pelas seguintes equações:

$$Y = -0,5 + 33.940,1 X - 2.091,6 X^2, \text{ com } r^2 = 0,87 \text{ e}$$

$$Y = -0,2 + 25.426,9 X - 1.194,2 X^2, \text{ com } r^2 = 0,86 \text{ e}$$

b) para pepino

$$Y = -0,1 + 6.098,0 X - 282,5 X^2, \text{ com } r^2 = 0,89 \text{ e}$$

$$Y = -0,2 + 5.559,0 X - 272,0 X^2, \text{ com } r^2 = 0,89$$

para os tratamentos ^{14}C -linuron e combinação com o alachlor, respectivamente.

A absorção diária de ^{14}C -linuron pela soja (Fig. 1) foi maior no tratamento com ^{14}C -linuron, na ausência de alachlor. Isto deve-se certamente a uma menor biomassa fresca produzida no conjunto das partes em relação à testemunha (Tabela 2), como resultado de efeitos fitotóxicos de linuron e de alachlor combinados, e de um menor consumo de água. A absorção diária de ^{14}C -linuron pelo pepino (Fig. 2) mostrou comportamento semelhante ao da soja, sob concentração de ^{14}C -linuron, quatro vezes, e alachlor, oito vezes menores.

A absorção diária de água pela soja (Fig. 1) aumentou significativamente a partir do quinto dia nos tratamentos testemunha e alachlor. Este momento caracteriza a manifestação dos efeitos fitotóxicos do herbicida linuron, apresentando uma redução na absorção de água, juntamente com ^{14}C -linuron. A absorção diária de água pelo pepino (Fig. 2) mostrou comportamento semelhante ao da soja, em que alachlor apresenta um efeito fitotóxico um pouco

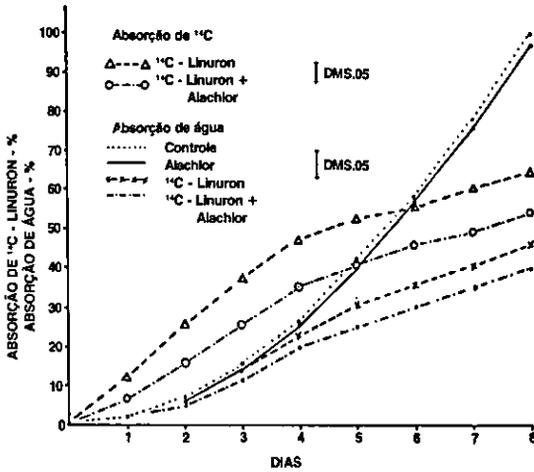


FIG. 1. Efeitos da duração de exposição na absorção de água e radioatividade em soja 'Ramson', após o tratamento com 0,28 µg/ml de ¹⁴C-linuron e na sua combinação com 1,0 µg/ml de alachlor. Plântulas (2) com quatro dias na época de tratamento. DMS.05 para radioatividade = 4,95; para água = 7,2. Percentagens para valores máximos de radioatividade = 8.843 dpm e, para água = 223,7 ml. Equivalentes de radioatividade de ¹⁴C-linuron adicionados à solução nutritiva das raízes de 422.172 dpm.

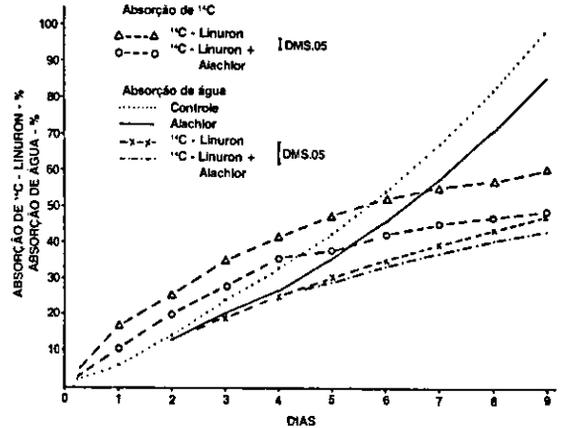


FIG. 2. Efeitos da duração de exposição na absorção de água e radioatividade em pepino 'Wisconsin SMR 58 Pickles', após tratamento com 0,08 µg/ml de ¹⁴C-linuron e na sua combinação com 0,12 µg/ml de alachlor. Plântulas (2) com três dias de idade na época de tratamento. DMS.05 para radioatividade = 3,21; para água = 6,1. Percentagens para valores máximos de radioatividade = 2.252 dpm e, para água = 179,5 ml. Equivalentes de radioatividade de ¹⁴C-linuron adicionados à solução nutritiva das raízes de 112.605 dpm.

TABELA 2. Biomassa fresca das partes de planta da soja 'Ramson' sob efeito do ¹⁴C-linuron a 0,28 ppm, alachlor a 1,0 ppm e combinação de ambos.

Tratamento	Parte da planta					
	Folhas		Cotilédones	Caule		Raízes
	Compostas	Simples		Epicótilo	Hipocótilo	
biomassa fresca (g)						
Testemunha	1,149 aB ¹	1,061 aBC	0,872 aC	0,958 aBC	0,817 aC	1,913 aA
Alachlor	1,227 aB	1,058 aBC	0,919 aCD	1,034 aBC	0,797 aD	1,896 aA
¹⁴ C-linuron	0,402 bD	0,532 bCD	1,014 aA	0,683 bB	0,790 aB	0,743 bBC
¹⁴ C-linuron + alachlor	0,321 bDE	0,242 cE	0,920 aA	0,601 bBC	0,805 aAB	0,520 cCD

DMS (0,05) = 0,215

¹ Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste DMS ao nível de 5%.

mais acentuado no pepino do que na soja (Tabelas 2 e 3).

A absorção de ¹⁴C-linuron e água apresentaram um coeficiente de correlação $r = 0,96$ na soja, e $r = 0,79$ no pepino. Este alto grau de correlação na soja mostra que a absorção de ¹⁴C-linuron é governada pela absorção de água, parecendo ser passiva, conforme foi observado por Nashed & Ilnicki (1970), em três diferentes espécies. O comportamento do linuron, deste modo, é algo oposto ao daquele de chloroxuron [3-(p-(p-clorofenoxi)-(fenil)-1-dimetil-uréia)], relatado por Geissbühler et al. (1970), citado por Nashed & Ilnicki (1970), sendo ambos os compostos do mesmo grupo químico.

Biomassa fresca de partes da planta

Cotilédones e hipocótilo da soja (Tabela 2) não apresentaram diferenças significativas de biomassa entre os tratamentos. O alachlor não causou diferenças de biomassa em qualquer parte da planta em relação à testemunha. Menores biomassas de folhas, epicótilo e raízes foram observadas para o ¹⁴C-linuron e sua combinação com o alachlor, mostrando, assim, os efeitos de fitotoxicidade do linuron. As biomassas das folhas simples e das raízes

mostraram efeitos de redução pelo linuron, acentuados com a presença do alachlor; isto não foi observado com o alachlor sozinho.

Comparando-se as diversas partes de planta dentro de cada tratamento, observa-se que na testemunha e no alachlor a biomassa fresca das raízes foi maior que as demais; na presença de ¹⁴C-linuron, a biomassa dos cotilédones foi maior que as demais, por não ter sido afetada, enquanto que as outras partes da planta (exceto o hipocótilo) o foram.

Resultados de biomassa fresca das partes de planta de pepino (Tabela 3) mostraram que o alachlor, comparado com a testemunha, reduziu a biomassa do sistema radicular. O ¹⁴C-linuron afetou todas as partes da planta, reduzindo suas biomassas; combinado com o alachlor, foram aumentados os efeitos negativos nas raízes.

Comparando-se as diversas partes de planta dentro de cada tratamento, observa-se que apenas na testemunha a biomassa fresca das raízes foi maior que as demais; na presença de ¹⁴C-linuron, a biomassa do hipocótilo foi maior que as demais. No entanto, ao contrário da soja, as biomassas dos cotilédones e do hipocótilo do pepino foram reduzidas por linuron. Foi observado, ainda, que as plantas tra-

TABELA 3. Biomassa fresca das partes da planta de pepino 'Wisconsin SMR 58 Pickles' sob efeito de ¹⁴C-linuron a 0,08 ppm, alachlor a 0,12 ppm e combinação de ambos.

Tratamento	Parte da planta			
	Folhas	Cotilédones	Hipocótilo	Raízes
 biomassa fresca (g)			
Testemunha	1,474 aB ¹	1,053 aC	1,278 aBC	2,188 aA
Alachlor	1,506 aA	1,037 aB	1,505 aA	1,087 bB
¹⁴ C-linuron	0,454 bB	0,291 bC	0,681 bA	0,455 cBC
¹⁴ C-linuron + alachlor	0,306 bBC	0,240 bC	0,593 bA	0,250 dC

DMS (0,05) = 0,204

¹ Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste DMS ao nível de 5%.

tadãs pelo alachlor apresentavam a cor das folhas e cotilédones mais verdes, talvez por causa da maior produção e/ou concentração de clorofila (dado não apresentado).

Os resultados de biomassa fresca da parte aérea das plantas opõe-se à hipótese formulada de que a presença do alachlor alivia parcialmente os efeitos do linuron, quando aplicados em mistura. Este comportamento foi observado para pepino, não se verificando o mesmo na soja. O momento da aplicação dos produtos, que na casa de vegetação foi no plantio e, no experimento em discussão, em câmara de crescimento, três a quatro dias após a germinação, pode ter contribuído para a manifestação das diferenças. Com este intervalo, as plântulas apresentaram sistema radicular mais desenvolvido, com melhores condições para absorver o linuron, cuja absorção seria reduzida, sob condições de raízes inibidas pelo alachlor. Semelhantes efeitos fitotóxicos de inibição pelo trifluralin e reduções nas absorções do metribuzin em soja foram observadas por Ladlie (1977).

Os dados sugerem que, a nível de condições ambientais variadas de campo, espécies daninhas sensíveis aos herbicidas alachlor e

linuron, em mistura de tanque, podem apresentar, ou não, os efeitos relatados para pepino no estágio inicial de crescimento.

Distribuição da radioatividade na planta

Contagem por cintilação líquida - A distribuição do ^{14}C na soja (Tabela 4) não mostrou diferenças significativas de concentração entre os tratamentos de ^{14}C -linuron, sem ou com o alachlor, dentro das partes da planta como folhas compostas, cotilédones, epicótilo, hipocótilo e raízes. No entanto, maior concentração do ^{14}C foi observada nas folhas simples, sendo significativamente maior na sua combinação com o alachlor. A maior concentração de ^{14}C -radioativo nas folhas simples, em relação aos demais órgãos, está em concordância com os sinais de fitotoxicidade do linuron, com ocorrência de amarelecimento internerval na superfície, e posterior morte do tecido. As folhas simples apresentaram 53,3 (12,991 de 24,373 $\mu\text{g } ^{14}\text{C}$) e 72,1% (30,909 de 42,867 $\mu\text{g } ^{14}\text{C}$) do ^{14}C -total, na ausência e presença do alachlor, respectivamente.

A distribuição do ^{14}C em pepino (Tabela 5) apresentou maior concentração do ^{14}C nos cotilédones do que nas folhas, talvez por isso

TABELA 4. Distribuição do ^{14}C -total em extrato de metanol em partes da planta de soja 'Ramson', após a aplicação de 422.172 dpm de equivalentes do ^{14}C -linuron e sua combinação com o alachlor.

Tratamento	Tempo (dias)	Partes da planta					
		Folhas		Cotilédones	Caule		Raízes
		Compostas	Simples		Epicótilo	Hipocótilo	
..... $^{14}\text{C } \mu\text{g/g}$ de biomassa fresca							
^{14}C -linuron	8	4,622 aB ¹	12,991 bA	2,923 aBC	0,913 aC	0,620 aC	2,304 aBC
^{14}C -linuron + alachlor	8	4,976 aB	30,909 aA	2,824 aBC	1,044 aC	0,710 aC	2,404 aC

DMS (0,05) = 2,429

¹ Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste DMS ao nível de 5%.

sendo mais susceptível, comparado com a soja. Não foram observados efeitos adicionais do alachlor. As folhas tenderam a apresentar maior concentração do ¹⁴C na combinação de ¹⁴C-linuron com o alachlor. Os cotilédones apresentaram 77,4 (8,836 de 11,408 μg ¹⁴C) e 62,8% (8,742 de 13,924 μg ¹⁴C) do ¹⁴C-total, na ausência e presença do alachlor, respectivamente. A presença do alachlor fez com que houvesse um atraso no surgimento das primeiras folhas, mais verdes.

A redução da biomassa fresca, observada nos cotilédones do pepino (Tabela 3) e não nos da soja (Tabela 2), está relacionado com maiores quantidades do ¹⁴C nos cotilédones do pepino (Tabela 5), enquanto na soja isto ocorre nas folhas simples (Tabela 4).

Menores concentrações do ¹⁴C nas plantas no tratamento com ¹⁴C-linuron, comparado à sua mistura com alachlor, representa maior biomassa fresca de soja e pepino, maior absorção de água e menor absorção de ¹⁴C-linuron da solução nutritiva.

Metabólitos de ¹⁴C-linuron e distribuição na planta

O pico-padrão do ¹⁴C-linuron, localizado por varredura da placa de cromatografia de camada fina, é apresentado na Fig. 3. Metabólitos de ¹⁴C-linuron, em número de quatro, foram identificados em soja e pepino, para os

tratamentos de linuron isolado e combinado com alachlor (Fig. 4). Os possíveis metabólitos, segundo a literatura (Nashed & Ilnicki 1970, Lee & Fang 1973, Geissbühler et al. 1975, Rosemond et al. 1975, Pinto & Corbin 1980), distribuídos numa escala de referência (Rf) a partir da origem na placa de cromatografia seriam: (A) na origem, metabólitos conjugados de linuron com β-D-glucosídios e

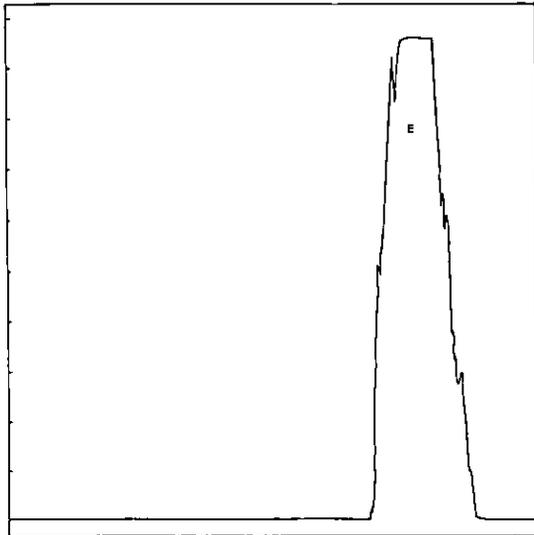


FIG. 3. Análise de ¹⁴C-linuron por cromatografia em camada fina, revelado em solução de benzeno/acetona a (2:1, v/v).

TABELA 5. Distribuição do ¹⁴C-total em extrato de metanol em partes da planta de pepino 'Wisconsin SMR 58 Pickles', após a aplicação de 112.605 dpm de equivalentes do ¹⁴C-linuron só e sua combinação com o alachlor.

Tratamento	Tempo (dias)	Partes da planta			
		Folhas	Cotilédones	Hipocótilo	Raízes
..... ¹⁴ C μg/g de biomassa fresca					
¹⁴ C-linuron	9	1,842	8,836	0,171	0,559
¹⁴ C-linuron + alachlor	9	4,313	8,742	0,217	0,652

DMS (0,05) = (1 repetição)

proteínas, mais polares; (B) 3,4-dicloroanilina; (C) 3,4-diclorofenil-uréia; (D) 3-(3,4-diclorofenil)-1-metoxi-uréia e, (E) 3-(3,4-diclorofenil)-1-metoxi-metil-uréia, ou linuron. No entanto, segundo Geissbühler et al. (1975), o componente (B) tem sido difícil de observar, talvez devido a uma rápida transformação posterior da amina aromática. Por sua vez, Lee & Fang (1973), indicam, na mesma seqüência para monuron (do mesmo grupo das feniluréias), a ocorrência de complexos polipeptídicos, sem indicarem a ocorrência da anilina entre as várias formas de conjugados identifi-

cados. Uma vez que ocorrem razoáveis quantidades da substância B serão mantidas as denominações de conjugados A e B.

Maiores quantidades do linuron alterado foram observadas na soja do que em pepino. Estas quantidades do ^{14}C -linuron metabolizado foram de 74,2 e 60,0%, na soja (Tabela 6) e, de 20,8 e 19,5%, em pepino (Tabela 7), no tratamento com ^{14}C -linuron e na sua combinação com o alachlor, respectivamente.

Na soja (Tabela 6), por efeito dos tratamentos herbicidas, houve a redução de 14,2% (=74,2% - 60,0%) nas quantidades do ^{14}C -linuron metabolizado (linuron alterado), na sua combinação com o alachlor, o que indica um efeito adicional (não significativo) de fitotoxicidade na presença deste último. Não foram observadas diferenças significativas dentro de cada metabólito entre os tratamentos herbicidas. No entanto, maiores quantidades de ^{14}C -linuron não alterado tenderam a ocorrer na combinação com o alachlor, com a redução dos conjugados de linuron.

Por parte de planta, maiores quantidades de ^{14}C -linuron e metabólitos foram observadas nas folhas simples da soja, apresentando a maior percentagem do mesmo metabolizado, 72,4%. Maiores quantidades do metabólito conjugado A, seguido pelo conjugado B, foram observadas nas folhas simples. As raízes, como principal ponto de entrada de materiais na planta, acumularam 10,8% do material radioativo, do somatório dos metabólitos das partes da planta, metabolizando 53,5% do mesmo.

Em pepino (Tabela 7), por efeito dos tratamentos herbicidas, as quantidades do ^{14}C -linuron metabolizado (linuron alterado) foram semelhantes em ambos os tratamentos, ou seja, foram de 20,8% para ^{14}C -linuron e de 19,5% na sua combinação com alachlor, bem como não sugerem diferenças dentro de cada metabólito considerado.

Por parte de planta, maiores quantidades do

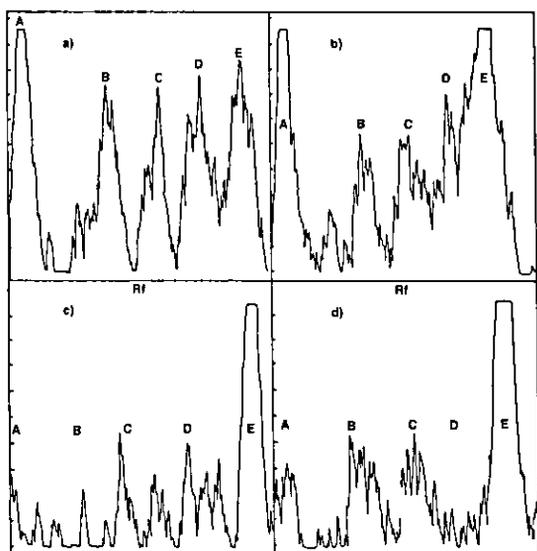


FIG. 4. Análise por CCF de metabólitos de linuron extraídos das folhas simples de soja 'Ramson', aos oito dias após a aplicação de: a) ^{14}C -linuron e, b) ^{14}C -linuron mais alachlor; e, metabólitos de linuron extraídos dos cotilédones de pepino 'Wisconsin SMR 58 Pickles', aos nove dias após a aplicação de: c) ^{14}C -linuron e, d) ^{14}C -linuron mais alachlor. As placas foram reveladas em solução de benzeno-acetona 2:1 (v/v). A e B = conjugados de linuron; C = feniluréia; D = metoxiluron e, E = linuron.

¹⁴C-linuron e metabólitos foram observadas nos cotilédones, diferindo da soja, e apresentando apenas 18,3% do ¹⁴C-linuron metabolizado. As raízes acumularam 1,4% do material radioativo, do somatório dos metabólitos das partes da planta, metabolizando 43,7% do mesmo.

Nas comparações entre as duas espécies (Tabelas 6 e 7), observa-se que na soja, planta mais resistente aos efeitos do linuron, ocorreu maior absorção do ¹⁴C-linuron e maior grau de metabolização na região de acumulação (folhas simples) do que em pepino (cotilédones), a planta mais susceptível. Smith et al. (1966) mostraram que espécies resistentes podiam contrabalançar injúrias de alachlor ao absorvê-lo em menores quantidades, ou mesmo em

maiores quantidades, do que espécies susceptíveis. Por sua vez, Hogue & Warren (1968) mostraram que o grau de metabolização e o local de acumulação do linuron é importante em espécies de plantas mais resistentes. A importância do grau de metabolização em relação aos efeitos fitotóxicos foram também observados por Colby (1965) e por Rosemond et al. (1975).

A caracterização da fitotoxicidade do linuron nas plantas, menor em soja do que em pepino, pode ser feita do seguinte modo: a) as absorções diárias de linuron e água são reduzidas progressivamente com a redução da biomassa das plantas; b) ocorre maior absorção do linuron na soja do que em pepino; c) maior grau de metabolização do linuron na soja do que em pepino, com tendência a redu-

TABELA 6. Distribuição da radioatividade do ¹⁴C-linuron e possíveis metabólitos em partes da planta de soja 'Ramson', após a aplicação do ¹⁴C-linuron e sua combinação com o alachlor, aos oito dias após o tratamento.

Variáveis	Metabólitos de ¹⁴ C-linuron ¹					Linuron alterado (%)
	Conjugados de linuron		Feniluréia C	Metóxilinuron D	Linuron não alterado E	
	A	B				
..... ¹⁴ C dpm						
Herbicidas						
¹⁴ C-linuron	6512 aA ²	3230 aAB	2178 aB	1930 aB	4832 aAB	74,2
¹⁴ C-linuron +alachlor	4268 aAB	2093 aB	1525 aB	1702 aB	6561 aA	60,0
Parte da planta						
Folhas compostas	3747 bcAB	1320 bAB	969 abcB	2394 aAB	4982 bcA	63,0
Folhas simples	16238 aA	8440 aB	4819 abBC	3859 aC	12724 aA	72,4
Cotilédones	4647 bA	3459 aA	3677 aA	2946 aA	6404 bA	69,6
Epicótilo	888 bcA	1298 bA	280 cA	258 aA	2031 cA	57,3
Hipocótilo	475 cA	579 bA	242 cA	299 aA	2735 bcA	38,3
Raízes	3052 bcAB	774 bB	1122 abcB	2244 aB	5302 bcA	53,5

DMS (0.05) = 3997

¹ A e B = metabólitos conjugados de linuron com β-D-glucosídios e proteínas; C = 3,4-diclorofenil-uréia; D = (3,4-diclorofenil)-1-metoxi-uréia e, E = 3-(3,4-diclorofenil)-1-metoxi-1-metil-uréia.

² Médias dentro de cada variável, seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste DMS ao nível de 5%.

TABELA 7. Distribuição da radioatividade do ^{14}C -linuron e possíveis metabólitos em partes da planta de pepino 'Wisconsin SMR 58 Pickles', após a aplicação do ^{14}C -linuron e sua combinação com o alachlor, aos nove dias após o tratamento.

Variáveis	Metabólitos de ^{14}C -linuron ¹					Linuron alterado (%)
	Conjugados de linuron		Feniluréia C	Metóxilunuron D	Linuron não alterado E	
	A	B				
..... ^{14}C dpm						
Herbicidas						
^{14}C -linuron	532	210	345	470	5927	20,8
^{14}C -linuron +alachlor	153	580	329	259	5476	19,5
Parte da planta						
Folhas	23	489	283	297	5665	16,2
Cotilédones	1139	1069	943	727	15862	18,3
Hipocótilo	97	31	21	74	542	28,2
Raízes	83	50	103	350	757	43,7

DMS (0.05) = (1 repetição)

¹ A e B = metabólitos conjugados de linuron com β -D-glucosídeos e proteínas; C = 3,4-diclorofenil-uréia; D = (3,4-diclorofenil)-1-metoxi-uréia e, E = 3-(3,4-diclorofenil)-1-metoxi-1-metil-uréia.

ção em ambos quando adicionado o alachlor; d) redução da biomassa de partes de planta, excetuando-se os cotilédones e o hipocótilo, na soja; e) maior acumulação do herbicida nas folhas simples, na soja, e nos cotilédones, em pepino.

Sob condições de campo é possível que combinações de herbicidas, como as de linuron e alachlor, sob diferentes condições ambientais por ocasião da germinação, possam fazer com que a planta de soja seja protegida contra as injúrias de um deles, ou ao contrário, aumentados os seus efeitos fitotóxicos. Por outro lado, os efeitos das combinações dos herbicidas nas espécies daninhas e das condições ambientais por ocasião da sua germinação também podem ser no sentido de aumentar o seu espectro de controle, ou reduzi-lo.

CONCLUSÕES

1. Em vasos com terra, alachlor protegeu as plântulas de pepino, e não as de soja e ançari-

nha-branca, da fitotoxicidade de linuron, quando incorporados juntos por ocasião do plantio.

2. Em solução nutritiva contendo alachlor e linuron, plântulas de soja e pepino introduzidas com três dias de idade não manifestaram a proteção de alachlor contra os efeitos fitotóxicos do linuron, somando-se os efeitos de fitotoxicidade de ambos.

3. Soja absorveu e metabolizou maiores quantidades de linuron do que pepino, mostrando menor susceptibilidade.

4. As maiores concentrações de linuron e menor biomassa fresca foram encontradas nas folhas unifolioladas de soja e nos cotilédones em pepino.

5. Linuron provocou redução da biomassa da soja e pepino, com exceção dos cotilédones e do hipocótilo da soja, que permanecem com biomassa normal.

6. Linuron sozinho reduziu a absorção de água em soja e pepino e essa redução é acentuada quando em mistura com alachlor.

AGRADECIMENTOS

À DuPont americana pelo fornecimento do ^{14}C -linuron, ao Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual da Carolina do Norte, pelo uso das instalações, e à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- COLBY, S.R. Herbicide metabolism: N-glycoside of amiben isolated from soybean plants. *Science*, Washington, **150**:619-20, 1965.
- GEISSBÜHLER, H.; MARTIN, H.; VOSS, G. The substituted ureas. In: KEARNEY, P.C. & KAUFMANN, D.D. *Herbicides: Chemistry, Degradation, and Mode of Action*. New York, Marcel Dekker, Inc., 1975. p.209-91.
- HOGUE, E.J. & WARREN, G.F. Selectivity of linuron on tomato and parsnip. *Weed Sci.*, Champaign, **16**:51-4, 1968.
- LADLIE, J.S. Effect of trifluralin and metribuzin combinations on soybean tolerance to metribuzin. *Weed Sci.*, Champaign, **25**:88-93, 1977.
- LADLIE, J.S.; MEGGIT, W.F.; PENNER, D. Effect of pH on metribuzin activity in the soil. *Weed Sci.*, Champaign, **24**:505-7, 1976.
- LEAVIT, J.R.C. & PENNER, D. Protection of corn (*Zea mays*) from acetanilide herbicidal injury with the antidote R25778. *Weed Sci.*, Champaign, **26**:653-9, 1978.
- LEE, S.S. & FANG, S.C. Metabolism of monuron in excised leaves of corn and bean plants. *Weed Res.*, Osney Mead, **13**:59-66, 1973.
- NASHED, R.B. & ILNICKI, R.D. Absorption, distribution and metabolism of linuron in corn, soybeans, and crabgrass. *Weed Sci.*, Champaign, **18**:25-8, 1970.
- NIFFELER, A.; GERBER, H.R.; HENSLEY, J.R. Laboratory studies on the behavior of the herbicide safener CGA-43089. *Weed Sci.*, Champaign, **28**:6-10, 1980.
- PINTO, H. & CORBIN, F.T. Absorption and translocation of tetrafluron in cotton (*Gossypium hirsutum*), jimsonweed (*Datura stramonium*), peanut (*Arachis hypogae*), and prickly sida (*Sida spinosa*). *Weed Sci.*, Champaign, **28**:557-65, 1980.
- ROSEMOND, J.M.; ZORNER, P.S.; WITT, W.W.; OLSON, G.L. Absorption and translocation of linuron in Nimblewill and Kentucky bluegrass. In: SOUTH. WEED SCI. SOC., **28**., Memphis, 1975. *Proceedings*. Champaign, Weed Sci. Soc. Am., 1975. p.343.
- SMITH, G.R.; PORTER, C.A.; JAWORSKY, E.G. Uptake and metabolism of ^{14}C -labeled a-chloroacetamides by germinating seeds. In: AMER. CHEM. SOC. MEETING, **52**., New York, 1966. *Proceedings*. New York, Amer. Chem. Soc., 1966. p.121.
- WEED SCIENCE SOCIETY OF AMERICA, Alachlor, Linuron. In: HERBICIDE HANDBOOK. 4 ed. Champaign, 1983. 515p.
- WORSHAM, A.D. & LEWIS, W.M. No-tillage corn and soybeans with glyphosate. In: SOUTH. WEED SCI. SOC., **26**., New Orleans, 1973. *Proceedings*. Champaign, Weed Sci. Soc. Amer., 1973. p.43.
- YORK, A.C. & SLIFE, F.W. Interaction of buthiazole and acetanilide herbicides. *Weed Sci.*, Champaign, **29**:461-8, 1981.