

TRANSLOCAÇÃO E METABOLISMO DO FUNGICIDA METALAXYL EM PLÂNTULAS DE LIMOEIRO 'CRAVO'¹

M. RAPHAELA MUSUMECI e ELZA F. RÜEGG²

RESUMO - Estudou-se a translocação do metalaxyl-¹⁴C aplicado nas folhas basais e apicais de plântulas de limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osb.), de dois e seis meses de idade. Quando aplicado nas folhas basais, apesar de 85% do fungicida ter sido retido nas folhas aplicadas, constatou-se translocação para as folhas superiores, caule e raiz. Todavia, quando a aplicação foi feita nas folhas apicais, apenas traços do radiocarbono foram detectados na raiz e no caule. Após 30 dias da aplicação, verificou-se que nas plantas com dois ou seis meses de idade, ao redor de 70% do radiocarbono nas folhas era o metalaxyl ocorrendo degradação em três metabólitos, um deles identificado como N-(2-metoxiacetil)-N-(2,6-xilil)-DL-alanina e em dois outros metabólitos não identificados. Também foram detectados metabólitos polares. Apenas 1,5% do radiocarbono se constituiu em resíduo ligado ao tecido.

Termos para indexação: folhas apicais, folhas basais, caule, raiz, radiocarbono, *Citrus limonia*.

TRANSLOCATION AND METABOLISM OF THE FUNGICIDE METALAXYL IN RANGPUR LIME SEEDLINGS

ABSTRACT - ¹⁴C-metalaxyl was applied to leaves of two and six month-old Rangpur lime (*Citrus limonia* Osb.) seedlings. In a basal foliar application, 85% of the fungicide remained in the applied leaves, though translocation was verified to upper leaves, stems and roots. When metalaxyl was applied in upper leaves only traces of radiocarbon were detected in roots and stems. After 30 days in the two-and six-month old plants, 70% of the radiocarbon corresponded to the applied fungicide. Metalaxyl was degraded in leave tissues to N-(2-methoxyacetyl)-N-(2,6-xylil)-DL-alanine and two others unidentified metabolites. Polar compounds were also detected. Only 1.5% of the radiocarbon was detected as bound residue, not extracted by the acetone extraction.

Index terms: upper leaves, basal leaves, stem, root, radiocarbon, *Citrus limonia*.

INTRODUÇÃO

Diversos autores em diferentes culturas constatarem o movimento acrópeto do metalaxyl (metil-N-(2-metoxiacetil)-N-(2,6-xilil)-DL-alaninato) (Staub et al. 1978, Zaki et al. 1981, Musumeci et al. 1982). Neste estudo, apresentam-se algumas observações sobre o comportamento desse fungicida em plantas de limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osb.), porta-enxerto muito utilizado nos pomares cítricos do Estado de São Paulo, empregando-se nestes experimentos o isótopo radioativo do metalaxyl marcado no carbono 14.

O interesse desta pesquisa foi o de verificar a extensão da translocação para a raiz em consequência de aplicações foliares, assim como o grau de persistência deste fungicida nos tecidos e os metabólitos desenvolvidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Compostos químicos

O metalaxyl-¹⁴C uniformemente marcado nos carbonos do anel benzeno, com atividade específica de 43,6 μ Ci/mg e pureza radioquímica de 98%, determinada por cromatografia em camada delgada de sílica, foi fornecido por Ciba-Geigy, Basileia, Suíça. Aproximadamente 20 μ g (0,8 μ Ci) foram dissolvidos em 10 ml de uma mistura de água: metanol (9:1), acrescida de 10 mg de Ridomil PM 25, grau técnico, recristalizado em hexano (Merck, P.A.).

Plantas

Foram utilizados limoeiros 'Cravo', de dois e seis meses de idade, provenientes de sementeiras mantidas em estufas e cultivados, após um mês, em copos de plástico de 4,5 cm de altura x 5 cm de diâmetro ou de 10 cm x 10 cm, contendo, respectivamente, 30 g e 200 g de solo. Para os estudos de translocação e degradação do metalaxyl, as plantas foram transportadas para o laboratório onde receberam aplicação foliar do fungicida.

Experimentos de translocação

A translocação do metalaxyl no limoeiro 'Cravo' foi estudada aplicando-se o fungicida nas folhas apicais ou basais de 18 plantas, reunidas em três grupos, com seis plantas cada grupo. Volumes de 100 μ l da solução de metalaxyl ¹⁴C, distribuídos em pequenos tubos, foram

¹ Aceito para publicação em 26 de março de 1984.

² Bióloga, Dra. Centro de Radioisótopos, Instituto Biológico, Caixa Postal 7119, CEP 01000 São Paulo, SP.

depositados, através de uma pipeta Pasteur, em pequenas gotas, sobre a superfície da folha. A fim de evitar a contaminação do solo durante a aplicação e secagem das gotas, o solo foi recoberto com papel de alumínio e plástico. As plantas foram mantidas no laboratório, à temperatura ambiente (25 a 30°C), recebendo, diariamente, por doze horas, luz de 500 lx. Após 17 dias da aplicação, procedeu-se à coleta das folhas, separando-as em grupos tratados e não-tratados. As folhas que receberam o metalaxyl foram lavadas por imersão, durante 30 minutos, em 10 ml de uma mistura de água: metanol (9:1), secadas em papel-filtro, homogenizadas (Virtis, 1 minuto) com 20 ml de acetona. O extrato obtido foi filtrado por sucção. As demais partes da planta, isto é, folhas não-tratadas, raiz e caule, foram igualmente extraídas em acetona. Para a contagem da atividade dos extratos por cintilometria líquida, foram retiradas alíquotas de 100 µl dos extratos e 1,0 ml da água de lavagem das folhas (Musumeci et al. 1982). Estes experimentos foram repetidos três vezes com as plantas de dois meses de idade, e duas vezes com as de seis meses; os resultados estão apresentados como a média dessas repetições.

Experimentos de degradação

Para os experimentos de degradação, 100 µl da solução de metalaxyl-¹⁴C foram aplicados, em gotas, na superfície superior de folhas de doze plantas de limoeiro 'Cravo', de dois meses de idade, e de doze plantas de seis meses de idade. As plantas foram divididas em três grupos, e o experimento repetido duas vezes. Após 30 dias da aplicação, as folhas foram coletadas, lavadas por imersão em 50 ml da mistura água: metanol (9:1) e, após secagem em papel-filtro, extraídas com acetona. O extrato assim obtido foi separado em diferentes fases, conforme apresentado na (Fig. 1).

Os extratos foram analisados pela cromatografia em camada delgada de sílica (Merck F 256), utilizando-se como sistema de solventes: acetona: éter: ácido acético (80: 19: 1), hexano: acetato de etila (50:50); e benzeno: éter (50:50). O metalaxyl não marcado e um metabólito do metalaxyl o N-(2-metoxiacetil)-N-(2,6-xilil)-DL-alanina foram cromatografados na mesma cromatoplaça como referência. Após desenvolvimento e secagem, os cromatogramas foram expostos a filmes de RX (Sakura) no escuro, por quatro semanas, para detecção dos compostos radioativos nos extratos. A atividade das zonas do cromatograma que impressionaram o filme foi determinada pela cintilometria líquida. (Musumeci et al. 1982).

Após a extração das folhas, a presença do radiocarbono não extraível pelo solvente e ligado ao tecido, foi determinado pelo processo da combustão úmida dos tecidos. (Smith et al. 1964).

RESULTADOS

Translocação do metalaxyl

Aplicação basal - A contagem do radiocarbono na

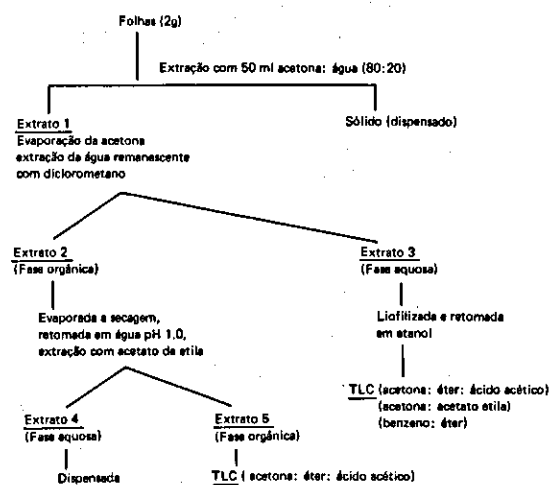


FIG. 1. Esquema do fracionamento para análise das folhas de limoeiro 'Cravo' com aplicação do metalaxyl-¹⁴C.

solução de lavagem das folhas mostrou que, tanto nas plantas com dois meses como nas de seis meses, cerca de 15% do metalaxyl foi removido pela imersão das folhas na solução, não sendo, portanto, absorvido pela folha. A contagem dos extratos para verificar a distribuição do radiocarbono nos tecidos mostrou que cerca de 70% do composto foi incorporado ao tecido aplicado; 6,4% do metalaxyl, contudo, translocou-se para as folhas superiores, 2,4% foram detectados no caule e 1,2% na raiz. Nas plantas com seis meses de idade, foram obtidos resultados semelhantes: 75% do radiocarbono foi incorporado às folhas aplicadas, sendo a translocação para as demais regiões da planta assim distribuída: 5% folhas superiores, 3,5% caule, 1,2% raiz.

Aplicação apical - Na aplicação da folha apical, 20% foram removidos pela imersão das folhas na solução e 75% incorporados ao tecido da folha aplicada. Nas folhas inferiores e no caule, foram detectados somente 0,3% do radiocarbono, e 0,08% nos tecidos da raiz. Resultados semelhantes foram verificados com as plantas de seis meses de idade 75% do metalaxyl foi incorporado às folhas aplicadas; nas folhas inferiores detectaram-se 0,2% do radiocarbono e na raiz 0,05%.

Degradação do metalaxyl

A metabolização do metalaxyl nas plantas de

limoeiro 'Cravo' não foi influenciada pela idade do tecido, pois as plantas de dois e seis meses de idade apresentaram o mesmo padrão de metabolização. A radiografia dos cromatogramas das frações orgânicas, proveniente do fracionamento dos extratos de folhas de dois e seis meses que receberam o metalaxyl ^{14}C (Fig. 1), evidenciou a degradação do metalaxyl nesses tecidos, pois, além da mancha correspondente ao metalaxyl (Rf 0,66 no sistema de solventes: acetona: éter: ácido acético), três outras manchas correspondentes a produtos do metabolismo do metalaxyl nos tecidos de limoeiro 'Cravo' foram detectadas com Rfs de 0,43; 0,26; e 0,00. A contagem dessas zonas mostrou que maior atividade pertence à mancha correspondente ao metalaxyl: 72% do radiocarbono. O metabólito com Rf 0,26 cromatografou juntamente com o composto de referência N-(2-metoxiacetil)-N-(2,6-xilil)-DL-alanina, indicando a degradação do metalaxyl nesse composto, nos tecidos do limoeiro 'Cravo'. Esse metabólito corresponde a 3,2% do radiocarbono aplicado como metalaxyl ^{14}C ; os outros metabólitos da fração orgânica correspondem a 1,8% do radiocarbono.

Metabólitos polares também foram detectados nos tecidos de limoeiro 'Cravo', pois a cromatografia do liofilizado da fase aquosa mostrou a presença de manchas com Rfs: 0,17; 0,30 e 0,35 em acetona: éter: ácido acético. Quando esse extrato foi cromatografado num sistema de solventes de menor polaridade, como o benzeno: éter, ou hexano: acetato de etila, não houve migração dos metabólitos que ficaram retidos na origem da cromatoplaça, indicando a origem polar desses compostos. A atividade desses metabólitos correspondeu ao total de 12% do radiocarbono aplicado como metalaxyl nas plantas de dois meses, e a 16% nas folhas das plantas com seis meses de idade.

Apenas 1,8% do radiocarbono não foi removido pela extração do tecido com acetona, tanto nas folhas de dois como nas de seis meses de idade, indicando fraco resíduo do metalaxyl, ou de seus derivados, incorporado ao tecido da folha.

DISCUSSÃO

Do radiocarbono aplicado à folha basal, 6% fo-

ram detectados no ápice da planta, indicando que o movimento do metalaxyl nas plantas cítricas é, principalmente, um movimento acrópeto pela corrente transpiratória da planta, embora se tenha observado uma translocação para a raiz. Segundo dados de Farih et al. (1981) concentrações de 0,15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de metalaxyl seriam necessárias para inibir o crescimento micelial de *Phytophthora parasitica* e *P. citrophthora*. Portanto, nestes experimentos, a quantidade de radiocarbono translocado para a raiz (1,2% correspondente à concentração de 1,0 $\mu\text{g}/\text{de}$ metalaxyl não marcado por grama do tecido) poderia ser atuante no controle da doença na região da raiz. Como resultante da aplicação nas folhas apicais notou-se, contudo, um fraco movimento do fungicida pelo floema (0,08% do radiocarbono na raiz). Esse reduzido transporte pelo floema também foi verificado por Zaki et al. 1981, quando aplicaram o metalaxyl em folhas apicais de plantas de abacateiro de dois meses de idade, não constatando controle da doença nas raízes.

Apesar do tempo relativamente curto, (30 dias), uma quantidade significativa (70%) do radiocarbono foi detectada como metalaxyl nas plantas, indicando uma persistência desse composto nos tecidos do limoeiro 'Cravo', independente da idade do tecido que recebeu a aplicação. Do radiocarbono incorporado à planta, aproximadamente, 5% foram metabolizados e detectados sob a forma de metabólitos livres. O composto identificado como o N-(2-metoxiacetil)-N-(2,6-xilil)-DL-alanina, correspondente a 3,2% dessa metabolização, seria proveniente de uma clivagem na ligação metil-éster da molécula do metalaxyl e, talvez, o primeiro passo desse metabolização. A degradação do metalaxyl nos tecidos do limoeiro 'Cravo' prossegue, contudo, até metabólitos polares não identificados e muito solúveis em água, que correspondem a 12% e a 16% do metalaxyl aplicado, conforme a idade do tecido.

CONCLUSÕES

1. O metalaxyl apresenta translocação sistêmica quando aplicado às folhas basais e apicais de limoeiro 'Cravo'. A translocação pelo movimento acrópeto da planta é significativa, porém a translocação pelo floema é reduzida.

2. Apesar de estável nos tecidos do limoeiro 'Cravo', verificou-se, aos 30 dias da aplicação, metabolismo do fungicida em metabólitos livres e polares. Um dos metabólitos corresponde ao composto: N-(2-metoxiacetil)-N-(2,6-xilil)-DL-alanina.

REFERÊNCIAS

- FARIH, A.; TSAO, P.H. & MENGE, J.A. *In vitro* effects of metalaxyl on growth, sporulation, and germination of *P. parasitica* and *P. citrophthora*. *Plant Dis.*, 65:651-3, 1981.
- MUSUMECI, M.R.; FEICHTENBERGER, E.; RÜEGG, E.F. & CAMPACCI, C.A. Absorção e translocação sistêmica de metalaxyl -¹⁴C por plântulas de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck após aplicações em diferentes solos. *Fitopatol. bras.*, 7:393-400, 1982.
- SMITH, G.H.; LUDWIG, P.D.; WRIGHT, K.C. & BAURIEDEL, W.R. Simple apparatus for combustion of samples containing ¹⁴C - labelled pesticides for residue analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 12:172-5, 1964.
- STAUB, T.; DAHMEN, H. & SCHWINN, F.J. Biological characterization of uptake and translocation of fungicidal acylalanines in grape and tomato plants. *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz*, 85:162-8, 1978.
- ZAKI, A.I.; ZENTMEYER, G.A. & LE BARON, H.M. Systemic translocation of ¹⁴C - labelled metalaxyl in tomato, avocado and *Persea Indica*. *Phytopathology*, 71:709-14, 1981.