

**Biomonitoramento de Fungicidas
na Urina de Ratas Prenhas: Estudo
do Metalaxil**



República Federativa do Brasil

Luis Inácio Lula da Silva

Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Roberto Rodrigues

Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa

Conselho de Administração

Luís Carlos Guedes

Presidente

Clayton Campanhola

Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires

Ernesto Paterniani

Hélio Tollini

Membros

Diretoria Executiva da Embrapa

Clayton Campanhola

Diretor-Presidente

Gustavo Kauark Chianca

Herbert Cavalcante de Lima

Mariza Marilena T. Luz Barbosa

Diretores-Executivos

Embrapa Meio Ambiente

Paulo Choji Kitamura

Chefe Geral

Geraldo Stachetti Rodrigues

Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Maria Cristina Martins Cruz

Chefe-Adjunto de Administração

Ariovaldo Luchiari Junior

Chefe-Adjunto de Comunicação e Negócios



ISSN 1516-4675

Dezembro, 2004

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 27

Biomonitoramento de Fungicidas na Urina de Ratas Prenhas: Estudo do Metalaxil

Vera Lúcia de Castro
Vera Lúcia Ferracini
Karina Kleinfelder
Christina Mara Tessari

Jaguariúna, SP
2004

Embrapa Meio Ambiente

Rodovia SP 340 - Km 127,5 - Tanquinho Velho
Caixa Postal 69 - Cep.13820-000, Jaguariúna, SP
Fone: (19) 3867-8750
Fax: (19) 3867-8740
www.cnpma.embrapa.br
sac@cnpma.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Geraldo Stachetti Rodrigues

Secretário-Executivo: Maria Amélia de Toledo Leme

Secretário: Sandro Freitas Nunes

Membros: Marcelo A. Boechat Morandi, Maria Lúcia Saito, José
Maria Guzman Ferraz, Manoel Dornelas de Souza,
Helôisa Ferreira Filizola, Cláudio Cesar de A.
Buschinelli

Normalização Bibliográfica: Maria Amélia de Toledo Leme

Tratamento de ilustrações: Alexandre Rita da Conceição

Editoração eletrônica: Alexandre Rita da Conceição

1ª edição

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Castro, Vera Lúcia de.

Biomonitoramento de fungicida na urina de ratas prenhas:
estudo do metalaxil / Vera Lúcia de Castro... [et. al]. -
Jaguariúna : Embrapa Meio Ambiente, 2004.

21 p. - (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa
Meio Ambiente, ISSN 1516-4675; 27)

1. Fungicidas - Toxicologia. 2. Metalaxil. I. Ferracini, Vera
Lúcia. II. Kleinfelder, Karina. III. Tessari, Christina Mara. IV.
Título. V. Série.

CDD 632.950.41

© Embrapa 2004

Sumário

| | |
|---------------------------------|----|
| Resumo | 7 |
| Abstract | 9 |
| Introdução | 10 |
| Material e Métodos | 13 |
| Resultados | 14 |
| Discussão | 16 |
| Referências | 19 |

Biomonitoramento de Fungicidas na Urina de Ratas Prenhas: Estudo do Metalaxil

*Vera Lúcia de Castro*¹

*Vera Lúcia Ferracini*²

*Karina Kleinfelder*³

*Christina Mara Tessari*⁴

Resumo

Sabe-se que alterações no sistema reprodutivo e na fase de desenvolvimento animal podem ter impactos na sobrevivência da prole. Uma vez que os agrotóxicos são geralmente mais tóxicos em animais imaturos do que em adultos, o presente trabalho visou estudar alguns parâmetros a serem utilizados na medida de bioindicadores de exposição (dose interna) e que possam ser utilizados como mecanismo de previsão dos efeitos destes produtos em doses que aparentemente não causam danos. Para tanto foram avaliadas fêmeas expostas a 10 e 20 mg Kg⁻¹ de metalaxil v.o. durante os dias 7, 11 e 15 da prenhez. As ratas tiveram coletadas amostras de urina diariamente após o primeiro dia da exposição até o dia 19 do período gestacional. Elas também tiveram seu ganho de peso medido até o dia 20 da prenhez. Não foram encontradas alterações quanto ao ganho de peso. Os aumentos da quantidade excretada de metalaxil da maior dose, no dia seguinte a cada administração, foram respectivamente de 2,96; 5,22 e 19,84 vezes maior que na menor dose.

¹ Veterinária, PhD., Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, Km 127,5 Cx Postal 69 - Jaguariúna, SP. castro@cnpma.embrapa.br

² Química, PhD, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, Km 127,5 Cx Postal 69 - Jaguariúna, SP. veraf@cnpma.embrapa.br

³ Bióloga, Bolsista FAPESP.

⁴ Eng. Química, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, Km 127,5 Cx Postal 69 - Jaguariúna, SP. cmtess@cnpma.embrapa.br

O estabelecimento de indicadores de dose interna que quantifique o metalaxil e/ ou seus metabólitos no organismo podem auxiliar na avaliação dos efeitos decorrentes da exposição perinatal a agrotóxicos.

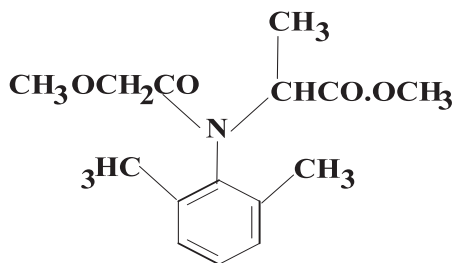
Fungicide biomonitoring in urine of rats: study of metalaxyl

Abstract

It is known that reproductive system alterations and in the animal development may promote some negative impacts at the pups survival. Since the agrochemicals are usually more toxic in newborns and juveniles than in adults, the present manuscript aimed to study some parameters to be used as biomarkers of exposure (internal dose) and also can be used as prevision mechanism of this products effects at doses that apparently do not cause damages. For that, it was evaluated females rats exposed orally to 10 and 20 mg Kg⁻¹ de metalaxil, during 7, 11 and 15 gestational days. Urine samples were collected daily from the rats after the first day of exposure till gestational day 19. Their weight gain was also monitored till gestational day 20. It was not found alterations in this parameter. The enhancement in the metalaxil excretion at the highest dose at day immediately after the exposure were respectively 2,96; 5,22 e 19,84 greater than the lower one. The internal dose biomarker establishment that quantifies metalaxil and/or its metabolites in the organism may help at the perinatal agrochemicals effects evaluation.

Introdução

O metalaxil (Apron®), [N-(2-6 dimetilfenil)-N-(2'-metoxiacetil) alanina metil ester] – desenvolvido na década de 1970, pertence à classe dos fungicidas sistêmicos do grupo dos alaninatos, com classe toxicológica III. É utilizado em várias culturas, entre elas as de citros, pera, maçã, tomate, pepino, batata, cebola, fumo e crisântemo (Gelmini, 1991), sendo recomendado em aplicações via solo, no controle de doenças causadas por fungos da família *Pythiaceae* (*Pythium* e *Phytophthora*) (Arx, 1987). É bastante utilizado em diversos países de regiões temperada, subtropical e tropical. Apesar de possuírem suas propriedades agrônômicas estabelecidas, poucos são os dados disponíveis a respeito desse composto no que se refere à saúde, em especial de organismos em desenvolvimento.



Entretanto, trata-se de um produto altamente vulnerável ao surgimento de populações resistentes do patógeno, motivo porque é formulado em combinação com vários outros, dentre eles o mancozebe, cúprico ou clorotalonil. Hoje pode ser aplicado também em tratamento do solo e de sementes, visando o controle principalmente de *Pythium* e *Phytophthora* do solo, contra os quais apresenta alta eficiência (Bergamim et al., 1995).

Uma vez que as ações antropogênicas transformam frequentemente o ambiente de um determinado agroecossistema, é muito importante avaliar as conseqüências da aplicação desses insumos, como os agrotóxicos. Nesse sentido, é importante a realização de uma avaliação de risco do possível prejuízo às saúdes ambiental e humana pelo uso desses insumos. A definição dos componentes em uma análise de risco inclui o motivo do estudo, descrição do ambiente e escolha de alvos a serem pesquisados. A avaliação de risco que pode ser preditiva, geralmente se refere a um ambiente hipotético ou genérico, ou retrospectiva quando há um problema real de contaminação ambiental a ser estudado (Sutter, 1993).

O monitoramento da exposição ambiental é uma avaliação direta, quali e quantitativa da exposição, realizada mediante a determinação de pesticidas presentes no ambiente (água, ar, solo, etc.) e o risco à saúde. Se a origem não é claramente evidenciada como pode ocorrer em agroecossistemas, é possível então desenvolver modelos receptores de caracterização da composição química do poluente ou de seus efeitos. Tais modelos avaliam a exposição através do comportamento e fisiologia dos organismos receptores e dos indicadores de exposição medidos nesses organismos. Esses modelos constituem o monitoramento biológico que é uma avaliação indireta, quali e quantitativa da exposição de um indivíduo ou de uma amostra da população exposta à pesticidas. Para a realização do monitoramento biológico é necessário o conhecimento do indicador biológico ou bioindicador.

Os indicadores de exposição incluem as concentrações no organismo como um todo ou em um tecido. Bioindicadores são nesse caso medidas de fluidos corporais, células ou tecidos que indicam se em termos bioquímicos ou celulares, a presença e a magnitude de toxicidade do composto produz ou não uma resposta. O biomonitoramento realizado de forma eficiente envolve o estudo da biodisponibilidade do agrotóxico e a utilização de indicadores apropriadamente selecionados. Alguns bioindicadores podem ser aplicados na quantificação da magnitude da exposição e do tempo necessário para que apareçam seus efeitos.

Já no que se refere à toxicidade do metalaxil em organismo não-alvo de forma geral e, em especial em seres humanos, ainda não se conhece bem seus possíveis efeitos. Hambock (1977) apud FAO (1983), administrou o produto ativo ¹⁴C Metalaxil em ratos machos e fêmeas por via oral para quantificar a sua excreção. Depois de uma única dose oral, observou que mais de 60% da radioatividade administrada foi excretado dentro de 24 horas. Após seis dias de sua aplicação, 37-63% da radioatividade foi excretada na urina e 35-66% nas fezes; principalmente na forma de metabólitos. Muitos dos metabólitos excretados na urina do rato estavam tanto na sua forma livre quanto conjugado com ácidos glucurônicos. A degradação do metalaxil no rato ocorre primeiramente pela via hidrólise do éster metílico, seguida da N-dealquilação, clivagem do éter metílico e finalmente por oxidação do metil benzeno com subsequente formação de conjugados com ácido glucurônico. Foi ainda encontrada radioatividade residual em gordura, carcaças, sangue e vários órgãos como fígado, rim, músculo, cérebro, coração, pulmões, e ovários. Entende-se por carcaça o animal abatido, sangrado, esfolado, eviscerado, desprovido de cabeça, patas, rabada, glândula mamária e/ou testículos.

Atualmente além da preocupação quanto aos riscos de intoxicação por exposição aguda e crônica aos agrotóxicos, também estão sendo estudados os potenciais efeitos teratogênico e mutagênico. Os agrotóxicos podem ocasionar prejuízos no desenvolvimento embrifetal, provocando aborto ou deficiências na formação do feto (Nurminen, 1995; Nelson, 1991). A atividade mutagênica e cocarcinogênica do metalaxil ainda não está esclarecida, embora alguns autores relatem que o fungicida possua esse potencial seja através de metabólitos ou da própria molécula (Dearfield et al., 1999). Apesar do metalaxil não possuir uma atividade clastogênica evidente do DNA, ele pode provocar alterações na homeostase celular que podem estar implicadas no processo de carcinogênese (Hrelia et al., 1996).

O metalaxil ainda pode afetar a atividade de algumas monooxigenases em camundongos tratados intraperitonealmente com dose única de 200 ou 400 mg. Kg⁻¹ ou 200 mg. Kg⁻¹ por três dias (Paolini et al., 1996). Ele inibe a atividade da monoaminoxidase (MAO) - o que promove o acúmulo da dopamina, da norepinefrina e a serotonina nos seus sítios de ação - provavelmente por interferir com o metabolismo das aminas (Naidu, 1989). O metalaxil induz bradicardia em ratos de forma dose-dependente. Após a administração intraperitoneal de metalaxil, os ratos podem desenvolver sintomas de intoxicação do sistema nervoso central tais como: tremores, extensão tônica, ataxia e hipnosés na dependência da dose (Naidu & Radhakrishnamurty, 1988). Devido ao fato de interferir com os sistemas catecolaminérgicos, o fungicida pode eventualmente ocasionar prejuízos endócrinos por vários mecanismos uma vez que desde que a diferenciação e a maturação sexual em ratos machos dependem de complexas interações entre o hipotálamo, pituitária anterior e eixo gonadal, os agrotóxicos podem afetar a maturação sexual (Leblanc et al., 1997). Um dos sistemas de neurotransmissão envolvido nesse processo é o dopaminérgico que está envolvido na regulação da estabilidade emocional, no controle da secreção de prolactina (PRL) e na atividade motora. Os possíveis efeitos provocados pela exposição a agrotóxicos podem ser diferentes de acordo com o sexo do filhote (McCartney et al., 1999; Tropp & Markus, 2001).

Uma vez que dependendo da dose o agrotóxico pode afetar o desenvolvimento dos filhotes via placenta principalmente se não é rapidamente excretado e/ou se acumular no organismo materno, é importante biomonitorar o fungicida no organismo materno através de um dos indicadores de sua toxicocinética, a excreção.

Material e Métodos

1) Animais

Utilizaram-se ratas Wistar, mantidos em condições controladas de luz, umidade e temperatura no biotério da Embrapa meio Ambiente, sendo as matrizes fornecidas pelo Biotério Central da UNICAMP (Universidade de Campinas). Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno com cama de maravalha autoclavada, com temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) e ciclo de luz claro - escuro 12h/12 horas. As fêmeas foram separadas, ao acaso, em 2 animais em cada gaiola. Água e comida foram fornecidas a vontade aos animais durante todo o período dos procedimentos experimentais.

2) Exposição ao metalaxil

O metalaxil (Apron ã) foi suspenso em solução de NaCl 0.9%. As ratas foram divididas ao acaso em 3 grupos experimentais de fêmeas prenhas expostas por via oral: o primeiro foi tratado com a dose de 10 mg Kg^{-1} , o segundo com a dose 20 mg Kg^{-1} , enquanto que o terceiro constituía o controle, tratado com solução salina (NaCl 0.9%).

Para o acasalamento, cada macho foi colocado em gaiolas contendo duas fêmeas cada. Essas fêmeas, foram previamente examinadas e selecionadas para que estivessem nas fases de proestro/estro e com ciclo estral regular, verificados através de lavado vaginal, sendo então separadas para o acasalamento. Após a introdução do macho na gaiola durante o período noturno, a presença de espermatozóides no lavado vaginal das ratas na manhã seguinte foi considerada como indicativa do 1º dia de prenhez. As fêmeas tiveram anotado seu ganho de peso até o 19º dia de prenhez.

As fêmeas foram expostas ao metalaxil durante o período de organogênese, nos dias 7º, 11º e 15º de prenhez. No 7º dia de prenhez as fêmeas foram separadas em gaiolas individuais. Após suas identificações, as fêmeas prenhas que foram tratadas com as doses de 10 mg Kg^{-1} e 20 mg Kg^{-1} de metalaxil (grupo experimental) e com a solução salina (grupo controle) foram separadas em gaiolas metabólicas até o 19º dia para que fosse feita diariamente a coleta de urina. Para a quantificação da excreção desse produto por essa via foi utilizado um volume de 3 mL e, o valor da concentração obtido foi corrigido para o volume total coletado em um período de 24 horas.

3) Dosagem do metalaxil na urina

Em um volume de 3 mL de urina foi adicionado 3 mL de acetato de etila, agitado em vortex e em seguida centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos. O procedimento foi repetido duas vezes com adição de 1 mL de acetato de etila e o solvente foi evaporado, a 40 C, utilizando um rotaevaporador (Büchi). O balão foi lavado três vezes com 1mL de água, filtrado em membrana millipore HV de 0,45 µm, sendo o volume final de 3 mL.

Foi utilizado um cromatógrafo líquido da Agilent, modelo 1100 Series; constituído de uma bomba quaternária, autoamostrador, desgaseificador, e um detector espectrofotométrico de absorção no UV/Vis, de comprimento de onda variável. A coluna utilizada foi Octadecyl, modelo Bakerbond HPLC Columns, C18, 5 mm e 4,6 x 250 mm. As condições de operação foram: fase móvel água:acetonitrila (50:50, v/v), eluição isocrática, vazão 1mL/min, tempo de corrida de 10 minutos e detecção a 210 nm.

Resultados

Avaliação da concentração de metalaxil na urina e do peso de ratas prenhas

As concentrações de metalaxil na urina estão descritas na Tabela 1 e representadas na Figura 1. Os pesos das fêmeas durante a prenhez bem como o ganho de peso do grupo do primeiro até o 21º. dia da prenhez estão apresentados na Tabela 2. Não foram encontradas diferenças significativas quanto ao peso dos animais expostos ao metalaxil em relação aos do grupo controle (teste t de Student, $p < 0,05$).

A concentração de metalaxil na urina aumentava como esperado no dia seguinte a exposição, decaindo nos dias subseqüentes. Contudo, principalmente com a maior dose, observa-se um maior aumento da concentração do produto na urina não diretamente proporcional ao valor encontrado para a menor dose. Os aumentos com a maior dose foram respectivamente 2,96; 5,22 e 19,84 vezes maiores que na menor dose. Nos dias imediatamente anteriores a nova exposição nas fêmeas que receberam a menor dose observa-se que os níveis de metalaxil eram semelhantes (dias 11, 15 e 19). Este comportamento não foi

observado nas ratas que receberam a maior dose, em especial após a segunda e terceira exposições ao fungicida.

Tabela 1. Concentração de metalaxil (mg mL^{-1}) na urina de ratas expostas nos dias 7,11 e 15 da prenhez a 10 ou 20 mg Kg^{-1} de metalaxil por via oral.

| Dose | 10 mg Kg^{-1} | | 20 mg Kg^{-1} | | |
|------|------------------------|-------|------------------------|-------|---------------|
| | Dias de prenhez | Média | Desvio Padrão | Média | Desvio Padrão |
| 8 | | 3,35 | 2,23 | 9,93 | 4,87 |
| 9 | | 0,66 | 0,55 | 2,43 | 2,59 |
| 10 | | 0,39 | 0,35 | 1,16 | 1,14 |
| 11 | | 0,54 | 0,65 | 1,03 | 0,69 |
| 12 | | 3,31 | 2,57 | 17,30 | 8,08 |
| 13 | | 0,93 | 1,33 | 9,21 | 3,53 |
| 14 | | 1,29 | 1,33 | 7,44 | 2,65 |
| 15 | | 0,73 | 0,73 | 4,45 | 3,67 |
| 16 | | 1,21 | 0,60 | 24,01 | 8,07 |
| 17 | | 0,33 | 0,09 | 10,99 | 7,84 |
| 18 | | 0,62 | 0,47 | 7,52 | 4,72 |
| 19 | | 0,60 | 0,06 | 5,74 | 5,57 |

Tabela 2. Peso (média \pm desvio padrão - gramas) e ganho de peso do grupo (g) entre o 1º e o 21º dia da prenhez das fêmeas expostas a 10 mg Kg^{-1} (n=8), 20 mg Kg^{-1} (n=8) de metalaxil e a solução controle (n=8) por via oral nos dias 7,11 e 15 da prenhez. Teste t de Student, $p < 0,05$.

| Período (dias) | Peso Médio (g) | | |
|----------------|--------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | Controle | Metalaxil 10 mg Kg^{-1} | Metalaxil 20 mg Kg^{-1} |
| 1 | 210,10 \pm 19,95 | 219,43 \pm 20,35 | 211,16 \pm 20,72 |
| 7 | 217,45 \pm 20,33 | 225,12 \pm 18,59 | 219,50 \pm 19,91 |
| 15 | 230,40 \pm 13,47 | 251,35 \pm 15,67 | 216,40 \pm 10,03 |
| 21 | 290,10 \pm 27,88 | 296,63 \pm 24,58 | 281,30 \pm 22,72 |
| 1-21 | 80,00 | 77,20 | 70,14 |

Discussão

A avaliação dos efeitos que são baseados em estudos toxicológicos consiste, inicialmente, na condução de testes para determinar os efeitos de várias combinações de concentração e duração de exposição na frequência e severidade das respostas. A amostragem do meio contaminado requer que o investigador defina a amostra relevante para o estudo além das formas e extensão da contaminação.

No monitoramento biológico obtêm-se informações sobre os efeitos no sistema biológico, podendo-se eventualmente inferir sobre a qualidade e quantidade do agrotóxico. No monitoramento biológico, além dos fatores ambientais devido à ação antropogênica e aqueles relacionados ao próprio organismo indicador (estado nutricional, idade, sensibilidade ao produto, etc), os fatores ambientais também afetam as reações dos sistemas biológicos, que respondem de acordo com a totalidade do ambiente que lhes circundam. Assim, a expressão da toxicidade de um poluente depende das características da exposição e de seu comportamento no organismo, relacionado aos mecanismos de transporte e de interação com sítios ou órgãos alvo. Esses parâmetros, excetuando-se a suscetibilidade individual, determinam a concentração disponível do poluente presente no ambiente (ar, água, etc.) para interagir com os sistemas biológicos (dose biologicamente ativa ou interna) e devem ser considerados na avaliação do risco da exposição ao agrotóxico.

Desta forma, para a avaliação de um possível efeito prejudicial à saúde humana ou a biota devido à exposição a um dado agrotóxico, é necessário determinar a disponibilidade do mesmo no ambiente e estabelecer as diferenças nos processos toxicocinéticos e dinâmicos para o organismo em estudo. Em relação a este último parâmetro, a escolha dos bioindicadores deve ser baseada em critérios a respeito do comportamento do agrotóxico no organismo (acúmulo em um determinado tecido, especificidade por determinado tecido) e na factibilidade/praticidade de sua medição. Geralmente para realizar o biomonitoramento de um agrotóxico ou outro tipo de poluente são utilizados métodos não invasivos ao organismo, cuja coleta de amostras seja feita de forma fácil e de baixo custo. Nesse sentido, a urina se apresenta como uma ótima alternativa (Coye et al., 1986).

Pouco se conhece a respeito da toxicocinética e dinâmica do metalaxil. Este fungicida é excretado na urina ao redor de 30 a 60% após uma única administração (Hambock, 1977 apud FAO, 1983). Estudos preliminares da

toxicocinética do metalaxil após administração oral mostraram haver rápida absorção do produto pelo trato gastro-intestinal, sendo registrados picos de concentração no sangue em 15 a 30 minutos. Comparativamente, foram observadas no sangue altas concentrações de metalaxil e seus metabólitos em períodos superiores a 6 horas e até 18 horas (Kaloyanova et al.; 1991).

Contudo, após mais de uma exposição em dias alternados, o comportamento da excreção do produto parece se modificar em relação à dose de exposição e em relação ao tempo. A relação tempo:efeito assim como a dose: resposta pode ser descrita como uma curva, através da transformação logarítmica. As características dessa curva vão depender da taxa de absorção, de eliminação, da formação de compostos inativos, etc. e a sua inclinação depende da meia vida da substância.

Para alguns compostos a estimativa da exposição é baseada em estudos com resultados uniformes, enquanto que para outros a incerteza ocorre de forma mais acentuada (Aitio & Kallio, 1999). Os aumentos nos dias seguintes às administrações a maior dose, foram respectivamente 2,96; 5,22 e 19,84 vezes maiores que na menor dose, apesar da relação entre as doses permanecer constante. O fato de que a proporção entre as quantidades de metalaxil excretado em relação ao tempo não permaneceu constante e sim aumentou em relação às duas doses estudadas, pode indicar que ocorreu um certo acúmulo do produto e/ou dificuldade na detoxificação do metalaxil pelo organismo. Uma vez que o fungicida também é extensivamente excretado na forma de seus metabólitos não dosados no presente trabalho, uma outra possibilidade é a de que com o aumento da dose haveria um aumento da quantidade de metalaxil excretado sem ter sofrido metabolização. Além disso, de acordo com Usepa (1992) e Paolini et al. (1996) não há indicação de bioacumulação no organismo, sendo encontrados pequenos níveis de resíduos nos tecidos após seis dias da exposição. Futuros estudos mais detalhados a respeito do metabolismo do metalaxil no organismo deverão esclarecer esses pontos.

O fato de que o fungicida não produziu alteração de peso nas ratas mostra que as doses usadas para a exposição não provocaram sinais evidentes de toxicidade nas fêmeas. Entretanto, este fato não quer dizer necessariamente que não poderão ser observados quaisquer efeitos embriofetotóxicos. Sabe-se que os agrotóxicos podem provocar alterações nos fetos em doses que não provocam toxicidade materna dependendo da fase crítica do desenvolvimento na qual ocorre a exposição (Hirsch et al., 1986; Castro et al, 2000). O estabelecimento, através de

futuros estudos, de relações entre a quantificação do fungicida no feto e os possíveis efeitos teratogênicos observados deverão esclarecer esse ponto.

O reconhecimento dos fatores que influenciam a toxicidade de um determinado nível de exposição a um agrotóxico é fundamental na determinação do risco de exposição a estes agentes em populações. As observações do presente trabalho indicam a necessidade e a importância da realização de estudos mais amplos a respeito do comportamento toxicocinético e dinâmico do metalaxil no organismo.

Devido ao aumento da severidade do impacto ambiental decorrente da ação humana, torna-se necessária a aplicação de esforços para sofisticar o monitoramento e avaliar os efeitos dessa entrada de estressores químicos no ambiente (Golden & Rattner, 2003). Para tanto, a busca de indicadores de dose interna que quantifique o agrotóxico e/ou seus metabólitos no organismo podem auxiliar na avaliação dos efeitos decorrentes da exposição perinatal a agrotóxicos. Tal conhecimento poderá levar a melhores escolhas na prevenção do risco à saúde humana devido ao uso desses produtos.

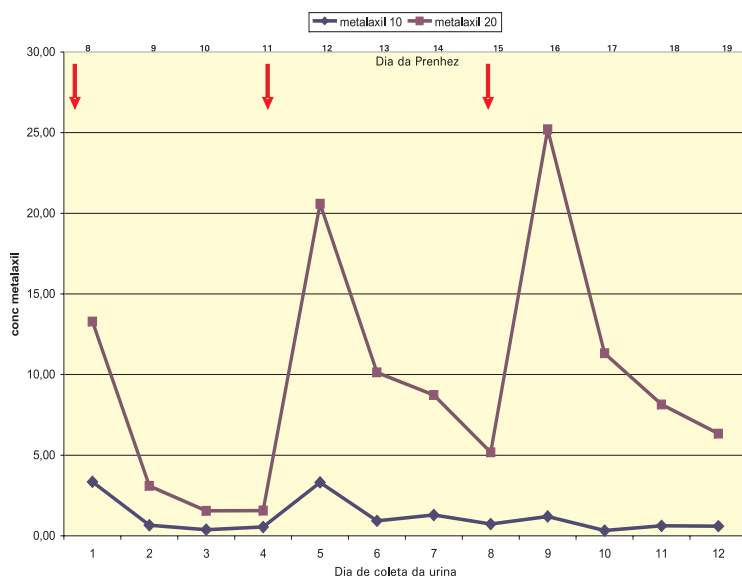


Fig. 1. Concentração de metalaxil (mg mL^{-1}) em amostras de urina de ratas expostas por via oral a 10,0 e 20,0 mg Kg^{-1} nos dias 7, 11 e 15 da prenhez. A urina foi coletada no 8º dia de prenhez após a primeira exposição (1ª. coleta), seguida de mais 12 coletas diárias. As setas indicam os dias de exposição das fêmeas.

Referências

AITIO, A.; KALIO, A. Exposure and effect monitoring: a critical appraisal of their practical application. **Toxicology Letters**, v. 108, p. 137-147, 1999.

ARX, J. A. **Von Plant pathogenic fungi**. Berlin: J. Cramer, 1987. p. 19-29.

BERGAMIN, A. F.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**. Piracicaba: Livroceres, 1995. v. 1., 782 p.

CASTRO, V.; CHIORATO, S.; PINTO, N. Relevance of developmental testing of exposure to methamidophos during gestation to its toxicology evaluation. **Toxicology Letters**, v. 118, p. 93-102, 2000.

COYE, J. M.; LOWE, J. A.; MADDY, K. J. Biological monitoring of agricultural workers exposed to pesticides. II. Monitoring of intact pesticides and their metabolites. **Journal of Occupational Medicine**, v. 28, p. 628-636, 1986.

DEARFIELD, K.; MCCARROLL, N.; PROTZEL, A.; STACK, H.; JACKSON, M.; WATERS, M. A survey of EPA/OPP and open literature on selected pesticide chemicals. II. Mutagenicity and carcinogenicity of selected choroacetanilides and related compounds. **Mutation Research**, v. 443, n. 1-2, p. 183-221, 1999.

FAO. Pesticide residues in food: 1982 evaluations. **FAO Plant Production and Protection Paper**, v. 61, p. 259-302, 1983.

GELMINI, G. A. **Agrotóxicos: legislação básica**, julho de 1991. Campinas: Fundação Cargill, 1991.

GOLDEN, N.; RATTNER, B. Ranking terrestrial vertebrate species for utility in biomonitoring and vulnerability to environmental contaminants. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 176, p. 67-136, 2003.

HIRSCH, K.; ADAMS, E.; HOFFMAN, D.; MARKHAM, J.; OWEN, N. Studies to elucidate the mechanism of Fenarimol-induced infertility in male rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 86, p. 391-399, 1986.

HRELIA, P.; MAFFEI, F.; FIMOGNARI, C.; VIGAGNI, F.; CANTELLI-FORTI, G. Cytogenetic effects of metalaxyl on human and animal chromosomes. **Mutation Research**, v. 369, n. 1-2, p. 81-86, 1996.

KALOYANOVA, F.; IVANOVA-CHEMISHANSKA, L.; ZAYKOV, H..R.; BAYNOVA, A.; MIHAYLOVA, A.; MIRCHEVA, V.; ANTON, G.; SHUMKOV, N.; VERGIEVA, T.; HALKOVA, Z. H.; ILIEVA, P.; BARDAROV, V. Toxicological evaluation of agromet (metalaxyl) preparation. **Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology**, v. 35, p. 375-382, 1991.

LEBLANC, G.; BAIN, L.; WILSON, V. Pesticides: multiple mechanisms of demasculinization. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 126, p. 1-5, 1997.

MCCARTNEY, M.; SCINTO, P.; WANG, S.; ALTAN, S. Developmental effects of phenytoin may differ depending on sex of offspring. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 21, p. 119-128, 1999.

NAIDU, K. Inhibition of monoamine oxidase by the fungicide metalaxyl. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 27, n. 3, p. 395-398, 1989.

NAIDU, K.; RADHAKRISHNAMURTY, R. Metalaxyl-induced bradycardia in rats: mediated by α -adrenoreceptors. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 23, n. 4, p. 495-498, 1988.

NELSON, B. Evidence for behavioral teratogenicity in humans. **Journal of Applied Toxicology**, v. 11, p. 33-37, 1991.

NURMINEN, T. Maternal pesticide exposure and pregnancy outcome. **Journal of Occupational Medicine**, v. 37, p. 935-940, 1995.

PAOLINI, M.; MESIRCA, R.; POZZETTI, L.; SAPONE, A.; CANTELLI-FORTI, G. Biomarkers of effect in evaluating metalaxyl cocarcinogenesis. Selective induction of murine CYP 3A isoform. **Mutation Research**, v. 361, n. 2-3, p. 157-164, 1996.

SUTTER II, G. W. (Ed.). **Ecological risk assessment**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1993. 538 p.

TROPP, J.; MARKUS, E. Sex differences in the dynamics of cue utilization and exploratory behavior. **Behavioural Brain Research**, v. 119, p. 143-154, 2001.

USEPA. **Reregistration eligibility decision - Metalaxyl**. Disponível em: <http://www.epa.gov/pesticides/reregistration>. Acesso em: 8 out. 2002.