

**JOSÉ VARGAS DE OLIVEIRA**

**Engenheiro-Agrônomo**

Professor-Assistente do Departamento de Fitossanidade  
da Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Rio Grande  
do Norte.

**TOXICIDADE DE INSETICIDAS ORGANO-FOSFORADOS PARA LARVAS  
DE *Aedes aegypti* (L., 1762) (DIPTERA: CULICIDAE) E AVALIAÇÃO DOS  
SEUS RESÍDUOS EM ALFACE (*Lactuca sativa* L.), COUVE (*Brassica oleracea*  
var. *acephala* L.) E ALMEIRÃO (*Chicorium intybus* L.).**

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Gilberto Casadei de Batista**

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de "Mestre".

PIRACICABA  
Estado de São Paulo  
Novembro de 1973

**In Memoriam**

**José Osmar de Oliveira, meu irmão**

À minha esposa,

aos meus pais e

às minhas irmãs

DEDICO.

## AGRADECIMENTOS

Externamos a nossa profunda gratidão às seguintes pessoas e instituições que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização desta pesquisa:

À Coordenação do Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela ajuda material, através de uma bolsa de estudos durante o Curso de Pós-Graduação.

Ao Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup> Jorge Coelho de Andrade, Diretor da Escola Superior de Agricultura de Mossoró (ESAM), pelo apoio efetivo.

Ao Prof.Dr.Gilberto Casadei de Batista, do Departamento de Entomologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"pela orientação da pesquisa e revisão dos originais.

Ao Prof.Dr.Domingos Gallo, Chefe do Departamento de Entomologia da ESALQ, pelo incentivo.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação de Entomologia da ESALQ, pela grande amizade e valiosos ensinamentos.

Ao Professor M.S. José Higino Ribeiro dos Santos, do Departamento de Fitotecnia da Escola de Agronomia da Universidade Federal do Ceará, pela orientação e confiança depositada no início da nossa carreira profissional. Aos professores Adjunto José Alberto Magalhães Bastos e M.S. Fernando João Montenegro Salles, do mesmo Departamento, pelos ensinamentos e estímulo.

Ao Prof.Livre Docente Urgel de Almeida Lima, do Departamento de Tecnologia Rural da ESALQ, pelas facilidades concedidas na

trituração das amostras para análise.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação de Entomologia, pela lealdade e espírito de colaboração.

Aos Srs. Francisco Lourenço Dias e Francisco de Assis P. Magalhães Cunha, pelos auxílios prestados nos trabalhos de laboratório e ao Sr. Benvenuto Bragato, por permitir a condução dos ensaios de campo na horta de sua propriedade.

Ao PhD Roger N. Williams, da Universidade Estadual de Ohio, EEUU, pela versão do resumo para o inglês.

À Srta Maria Elizabeth F. de Carvalho, pela colaboração dispensada na citação da literatura.

À Srª Cleonice A. Dias da Silva Makhoul, pelo serviço de datilografia.

## ÍNDICE

	<u>página</u>
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	6
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	20
3.1. Toxicidade dos inseticidas fosforados para larvas de <u>A.aegypti</u> .....	20
3.2. Aplicação dos inseticidas .....	22
3.3. Efeitos dos materiais co-extraídos .....	23
3.4. Estabelecimento dos níveis de depósitos ou resíduos .	24
3.5. Cálculo dos fatores de correção .....	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	28
4.1. Toxicidade dos inseticidas para larvas de <u>A.aegypti</u>	28
4.2. Influência dos materiais co-extraídos .....	42
4.3. Níveis de depósitos ou resíduos .....	43
4.3.1. Alface .....	43
4.3.2. Couve .....	57
4.3.3. Almeirão .....	69
4.4. Fatores de correção .....	81
5. CONCLUSÕES .....	82
6. RESUMO .....	84
7. SUMMARY .....	87
8. LITERATURA CITADA .....	90

## LISTA DOS QUADROS

	<u>página</u>
QUADRO I - Comparação entre bio-análise e outros métodos de análise de materiais tratados .....	4
QUADRO II - Mortalidade de larvas de <u>A.aegypti</u> no 4º instar, sob a ação de diclorvos .....	30
QUADRO III - Mortalidade de larvas de <u>A.aegypti</u> no 4º instar, sob a ação de mevinfos .....	32
QUADRO IV - Mortalidade de larvas de <u>A.aegypti</u> no 4º instar, sob a ação de paratiom metílico .....	32
QUADRO V - Mortalidade de larvas de <u>A.aegypti</u> no 4º instar, sob a ação de paratiom etílico .....	35
QUADRO VI - Mortalidade de larvas de <u>A.aegypti</u> no 4º instar, sob a ação de fentoato .....	35
QUADRO VII - Mortalidade de larvas de <u>A.aegypti</u> no 4º instar, sob a ação de diazinom .....	38
QUADRO VIII - Mortalidade de larvas de <u>A.aegypti</u> no 4º instar, sob a ação de malatiom .....	38
QUADRO IX - Toxicidade dos inseticidas organo-fosforados e equações de regressão da população experimental de larvas do 4º instar de <u>A.aegypti</u> .....	41
QUADRO X - Alface - Depósitos dos inseticidas fosforados, logo após a última aplicação .....	47
QUADRO XI - Alface - Depósitos dos inseticidas fosforados, 1 dia após a última aplicação .....	48

QUADRO XII - Alface - Resíduos dos inseticidas fosforados, 3 dias após a última aplicação .....	49
QUADRO XIII - Alface - Resíduos dos inseticidas fosforados, 7 dias após a última aplicação .....	50
QUADRO XIV - Alface - Resíduos dos inseticidas fosforados, 14 dias após a última aplicação .....	51
QUADRO XV - Alface - Resíduos dos inseticidas .....	52
QUADRO XVI - Couve - Depósitos dos inseticidas fosforados, logo após a última aplicação .....	59
QUADRO XVII - Couve - Depósitos dos inseticidas fosforados, 1 dia após a última aplicação .....	60
QUADRO XVIII - Couve - Resíduos dos inseticidas fosforados, 3 dias após a última aplicação .....	61
QUADRO XIX - Couve - Resíduos dos inseticidas fosforados, 7 dias após a última aplicação .....	62
QUADRO XX - Couve - Resíduos dos inseticidas fosforados, 14 dias após a última aplicação .....	63
QUADRO XXI - Couve - Resíduos dos inseticidas .....	64
QUADRO XXII - Almeirão - Depósitos dos inseticidas fosforados, logo após a última aplicação .....	72
QUADRO XXIII - Almeirão - Depósitos dos inseticidas fosforados, 1 dia após a última aplicação .....	73
QUADRO XXIV - Almeirão - Resíduos dos inseticidas fosforados, 3 dias após a última aplicação .....	74

QUADRO XXV - Almeirão - Resíduos dos inseticidas fosforados, 7 dias após a última aplicação .....	75
QUADRO XXVI - Almeirão - Resíduos dos inseticidas .....	76

## LISTA DOS GRÁFICOS

	<u>página</u>
GRÁFICO 1 - Curva dosagem x mortalidade de diclorvos para larvas do 4º instar de <u>A.aegypti</u> .....	31
GRÁFICO 2 - Curva dosagem x mortalidade de mevinfos para larvas do 4º instar de <u>A.aegypti</u> .....	33
GRÁFICO 3 - Curva dosagem x mortalidade de paratiom metílico para larvas do 4º instar de <u>A.aegypti</u> .....	34
GRÁFICO 4 - Curva dosagem x mortalidade de paratiom etílico para larvas do 4º instar de <u>A.aegypti</u> .....	36
GRÁFICO 5 - Curva dosagem x mortalidade de fentoato para larvas do 4º instar de <u>A.aegypti</u> .....	37
GRÁFICO 6 - Curva dosagem x mortalidade de diazinom para larvas do 4º instar de <u>A.aegypti</u> .....	39
GRÁFICO 7 - Curva dosagem x mortalidade de malatiom para larvas do 4º instar de <u>A.aegypti</u> .....	40
GRÁFICO 8 - Resíduos de paratiom metílico em alface .....	53
GRÁFICO 9 - Resíduos de paratiom etílico em alface .....	54
GRÁFICO 10 - Resíduos de fentoato em alface .....	55
GRÁFICO 11 - Resíduos de malatiom em alface .....	56
GRÁFICO 12 - Resíduos de paratiom metílico em couve .....	65
GRÁFICO 13 - Resíduos de paratiom etílico em couve .....	66
GRÁFICO 14 - Resíduos de fentoato em couve .....	67

GRÁFICO 15 - Resíduos de malatíom em couve .....	68
GRÁFICO 16 - Resíduos de paratíom metílico em almeirão .....	77
GRÁFICO 17 - Resíduos de paratíom etílico em almeirão .....	78
GRÁFICO 18 - Resíduos de fentoato em almeirão .....	79
GRÁFICO 19 - Resíduos de malatíom em almeirão .....	80

## 1. INTRODUÇÃO

O avanço nas técnicas de exploração racional das plantas cultivadas, nos últimos anos, tem proporcionado um incremento nas pesquisas de métodos mais adequados de controle das pragas, incluindo investigações mais acentuadas no campo dos defensivos agrícolas.

Na luta da humanidade contra os insetos daninhos, adotam-se inúmeros métodos bastante eficazes que, individualmente, ou associados no controle integrado, conseguem reduzir a baixos níveis os prejuízos causados à indústria agrícola. No entanto, as medidas químicas, isoladas, ainda, continuam sendo empregadas em larga escala, em todo o mundo.

Indubitavelmente, o uso de substâncias químicas concorre para aumentar a produção agrícola, mas por outro lado, é passível de acarretar a persistência de resíduos tóxicos nas partes tratadas, cujo consumo representa um grave risco potencial à saúde dos consumidores. Eis um grande paradoxo da civilização moderna: a utilização de substâncias tóxicas na produção de alimentos (ALMEIDA, 1968).

A ingestão contínua, mesmo de pequenas doses sub-letais e possíveis efeitos deletérios sobre a saúde humana, constitui uma das principais preocupações das autoridades sanitárias mundiais, atualmente.

O problema de resíduos tóxicos é de caráter universal, mormente nos Estados Unidos, onde inúmeros estudos são desenvolvidos, a fim de minimizá-lo e ajustá-lo à necessidade crescente do uso de

inseticidas para o aumento da produção de alimentos.

Antes de 1950, apenas os Estados Unidos, Inglaterra e Suíça estavam empenhados em investigar resíduos de defensivos químicos. Recentemente, a lista inclui numerosos países, cuja legislação sobre alimentos e drogas tem estimulado as especulações neste campo, tanto pelas indústrias, como agências governamentais e laboratórios especializados.

Na determinação dos resíduos de defensivos agrícolas, empregam-se, comumente, métodos físico-químicos e biológicos. Os primeiros: o de traçador radioativo, ativação do nêutron, ressonância nuclear magnética, espectrografia de massa, ultra-violeta e infra-vermelho, cromatografia, colorimetria e polarografia, destacam-se pela sua especificidade, porém alguns destes, são bastante dispendiosos. Nos últimos anos, com o advento da cromatografia de gás-líquido, tornou-se possível a separação e avaliação de um inseticida ou mistura de produtos em amostras preparadas. Os métodos biológicos: inibição da colinesterase e o emprego de insetos ou outros organismos animais, sensíveis a inseticidas, fornecem resultados satisfatórios. A bioanálise é, sobremaneira, sensível, de grande exatidão, simplicidade e versatilidade, apresentando como limitações, as dificuldades no aumento da sensibilidade e a falta de especificidade. Assim, novas espécies de organismos são necessárias para o aperfeiçoamento da sensibilidade, a fim de serem testados materiais pouco tóxicos. Técnicas mais sofisticadas, também, são imprescindíveis para removerem a interferência do extrato natural, resultando em melhoria da precisão dos resultados. Embora este método seja, ainda, bastante empregado, o estabelecimento da sua validade só é possível, analisando-se uma série de amostras recuperadas pela adição de diversos níveis práticos

cos de tóxicos ao material não tratado.

O QUADRO I exprime os resultados comparativos da determinação de resíduos de inseticidas em diversos substratos, pela bio-análise e outros métodos analíticos convencionais (SUN, 1957).

Com o fito de evitar-se riscos de intoxicação aos consumidores de produtos tratados com defensivos químicos, a Comissão da FAO (Organização de Alimentação e Agricultura das Nações Unidas) WHO (Organização Mundial da Saúde) estabelece as tolerâncias residuais em cada alimento. No Brasil, os limites de tolerância são regulados por lei, sofrendo revisões periódicas pela Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos do Ministério da Saúde, com base nos trabalhos norte-americanos.

Objetiva-se, pela adoção do método de bio-análise, determinar valores de toxicidade de inseticidas organo-fosforados para larvas de Aedes aegypti (L.) e resíduos, oriundos destes produtos, em culturas de alface, couve e almeirão. A finalidade precípua da pesquisa é a consecução de subsídios que permitam indicar os intervalos de segurança entre a última aplicação e a colheita, visando preservar a saúde dos consumidores. A justificativa da presente investigação, estriba-se em dois aspectos fundamentais: a importância das hortaliças em menção, na alimentação humana e a falta de informações no Brasil sobre a persistência dos resíduos em estudo, nas aludidas culturas.

QUADRO I - Comparação entre bio-análise e outros métodos de análise de materiais tratados.

Substrato	Tóxico		Bio-análise		Outras análises	
	usado	Método	Método	Resíduo ppm	Método	Resíduo ppm
repolho	DDT	depósito seco		2,0	colorimétrico	1,4
manteiga	dieldrim	filme seco		95	colorimétrico	95
carne	dieldrim	filme seco		86	colorimétrico	85
espinafre	paratiom	filme seco		6,8	pulverização	6,8
espinafre	lindane	filme seco		9,9	pulverização	5,4
espinafre	DDT	filme seco		74	pulverização	71
espinafre	malatiom	filme seco		12	pulverização	14
pêssego	DDT	filme seco		8,3	colorimétrico	8,5
aipo	toxafeno	filme seco		3,6	cloro total	2,7
solo	DDT	contato com o solo		25,5; 19,0	cloro total	19,5
solo	toxafeno	contato com o solo		10,0; 13,5	cloro total	12,0
cebola	paratiom	suspensão aquosa		0,10	colorimétrico	0,11
folhas de batata	paratiom	suspensão aquosa		0,20	colorimétrico	0,30
folhas de milho	paratiom	suspensão aquosa		0,16	colorimétrico	0,16
espinafre	DDT	fotomigração		35	químico	45

(continua)

QUADRO I - (continuação)

Substrato	Tóxico		Bio-análise		Outras análises	
	usado	Método	Resíduo ppm	Método	Resíduo ppm	Método
batata doce	heptacloro	fotomigração	0,003	colorimétrico	0,026	colorimétrico
nabo	heptacloro	fotomigração	0,006	colorimétrico	0,022	colorimétrico
cenoura	heptacloro	fotomigração	0,008	colorimétrico	0,03	colorimétrico
espinafre	dieldrim	alimentação direta	1,0	filme seco	0,67	filme seco
cenoura	dieldrim	alimentação direta	0,83	filme seco	0,97	filme seco

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

Consultando-se a literatura especializada, verifica-se que há um número limitado de pesquisas, no Brasil, sobre resíduos de inseticidas organo-fosforados em hortaliças. No exterior, muitas investigações têm sido desenvolvidas, permitindo reunir um apreciável acervo de informações.

PIGATTI & MELLO (1961) estabeleceram as dosagens e doses letais 50% de alguns inseticidas clorados e fosforados, respectivamente, para larvas do 3º ínstar de Culex pipiens fatigans Wied e adultos de Musca domestica L., provenientes de várias regiões do Estado de São Paulo, visando facilitar estudos posteriores de aumento de resistência. Baseando-se em observações anteriores, não verificaram aumento de resistência a lindane, nem aumento de tolerância a DDT, metoxicloro e dieldrim, em se tratando do culicídeo. Moscas domésticas foram sensíveis a diazinom, malatiom e triclorfom, porém, mostraram-se resistentes a BHC (isômero gama), DDT e dieldrim.

DIXON & BRUST (1971) investigaram a eficiência dos inseticidas cloropirifos, biometom, malatiom, fentiom, propoxur, metoxicloro e DDT, em bio-análise com larvas de Aedes flavescens (Müller), Culex tarsalis Coquillett, Culiseta inornata (Williston) e Aedes vexans (Meigen), em poços artificiais, especialmente construídos.

NOLAN & WILCOXON (1950) descrevem um método para a bio-análise de paratiom, usando larvas de A.aegypti. BUSHLAND (1951), também utilizou larvas do mesmo culicídeo, na detecção de inseticidas orgânicos em produtos animais. BURCHFIELD & HARTZELL (1955) ado-

taram o teste fisiológico de fotomigração com larvas de A.aegypti, na determinação de vários inseticidas orgânicos em alimentos, usando como critério de avaliação, o valor  $T_{50}$ , isto é, o tempo necessário para que 50% da população se torne imobilizada. Por outro lado, HASSETT et al. (1960) descrevem o aparelho utilizado neste teste fisiológico.

Microcrustáceos, como Daphnia magna Straus, também, encontram a sua utilização no campo da bio-análise de inseticidas, conforme trabalhos de DEWEY & PARKER (1964), FREAR & BOYD (1967) e PARKER et al. (1970).

ROBERTS et al. (1962) estudaram a persistência de inseticidas no solo e seus efeitos sobre a cultura algodoeira, durante 3 anos. Análises de resíduos pelos métodos, biológico, com Drosophila melanogaster Meig, cloro-orgânico total e colorimétrico, mostraram que, DDT persistiu em maior proporção, seguindo-se-lhe, em ordem decrescente, o BHC, malatim e azinfos metílico. Não encontraram diferenças significativas na germinação, crescimento, frutificação ou produção do algodoeiro, atribuídas à alta proporção inicial por acre e subsequente quantidade anual dos inseticidas aplicados.

Trabalhos, relatando a persistência, degradação, bio-atividade e movimento de forato e outros inseticidas, aplicados no solo, em ensaios biológicos com Acheta domesticus (L.) e A.pennsylvanicus (Burmeister) foram conduzidos por BURKHARDT & FAIRCHILD (1967) e SHANKS & GETZIN (1970).

PIGATTI et al. (1961) pesquisaram resíduos de aldrim, lindane, heptacloro, paratim, toxafeno e BHC, aplicados em dosagens normais e duplas, em solos cultivados com batatinha. Para os clorados, adotaram a bio-análise com larvas de C.pipiens fatigans e para

o paratiom, inibição da colinesterase. As análises de resíduos e gosto, mostraram que, aldrim e heptacloro apresentaram resíduos prejudiciais nas dosagens duplas; lindane, BHC e paratiom alteraram o gosto dos tubérculos.

PIGATTI & ORLANDO (1959) analisaram a eficiência dos inseticidas forato e dissulfotom no tratamento de tubérculos de batatinha, comparada com as pulverizações foliares de paratiom e demetom metílico, visando o controle de pulgões. A análise, pelo método de inibição da colinesterase, revelou a presença de resíduos inferiores a 0,5 ppm, o mínimo de sensibilidade que o método permitiu detectar.

PIGATTI et al. (1967), trabalhando com fentiom, detectaram, por inibição da colinesterase, resíduos em frutas frescas de pêssego, ameixa e maçã, inclusive em compotas e doces em massa fabricados com pêssego. O produto degradou-se, lentamente, sendo a persistência proporcional à dosagem aplicada e com os fatores climáticos, principalmente, a temperatura, influenciando na velocidade de degradação. Nas conservas fabricadas, a persistência foi superior a 1 ano, principalmente, quando mantidas a baixas temperaturas.

Adotando o método de inibição da colinesterase, VAN MIDDELEM & BARANOWSKI (1962) observaram que amostras de frutos de tomateiro, colhidas em diferentes épocas e em vários estágios de maturação, acusaram resíduos de forato, inferiores a 0,10 ppm; nas folhas, situaram-se no intervalo de 0,04 a 4,0 ppm.

PIGATTI (1961), investigando resíduos de demetom metílico em tomateiro, verificou a ausência do tóxico nos frutos, mesmo 24 horas após as pulverizações. No entanto, nas folhas, atingiram 6,0, 3,0 e 1,0 ppm, respectivamente, para 1, 7 e 14 dias. Após 27 dias, desapareceram.

KANAZAWA (1972), usando cromatografia de gás, constatou que, 5 dias após a pulverização, malathion apresentou resíduos de 0,03 ppm e com 10 dias, decresceram para menos que 0,001 ppm, em tomate, quando empregou o concentrado emulsionável a 50%, na proporção de 1500 litros de calda/ha.

MAC RAE & MCKINLEY (1963) descreveram dois métodos de cromatografia de papel, adotados na identificação de vários inseticidas organo-fosforados na presença de extratos de maçã, alface, repolho e laranja.

MCKINLEY & JOHAL (1963) discorrem sobre a técnica de inibição da enzima esterase, por diversos inseticidas fosforados, através de cromatogramas de papel, utilizando-se extratos de maçã, alface, morango e ervilha.

MOLLHÖFF (1967), através de detector de captura eletrônica, determinou resíduos de parathion etílico, parathion metílico, fenitrothion, clorothion e tricloronato, em maçãs, couve, batatinha e amostras de solo, com precisão de 0,1 a 0,05 ppm.

SANDRONI & SCHLITT (1971), trabalhando com amostras de maçã, alface, repolho e cenoura, através de cromatografia de camada delgada, conseguiram avaliar resíduos menores que 0,05 ppm e 0,05 ppb, respectivamente, para inseticidas clorados e fosforados.

BECKMAN et al. (1965) descrevem uma técnica analítica que permite a recuperação de parathion etílico em vegetais, especialmente do gênero Brassica. O tóxico é separado de muitos inseticidas clorados que podem causar interferência na resposta gás-cromatográfica. Técnicas de captura eletrônica detectaram produtos clorados e métodos colorimétricos e captura eletrônica, foram utilizados na determinação de parathion.

LIPPOLD et al. (1967) avaliaram, comparativamente, por métodos químicos, físicos e biológicos, com D.melanogaster, o desaparecimento dos resíduos de paratiom etílico em brócoli, provenientes de pulverizações de 0,5 e 0,8 lb de p.a./acre. Amostras colhidas no intervalo de 0 a 7 dias, a partir da última aplicação e a colheita apresentaram resíduos de 0,6 e 0,7 ppm, respectivamente, pela bio-análise. Os outros métodos analíticos acusaram, no mesmo período, níveis residuais, variando de 0 a 0,1 ppm e 0 a 0,2 ppm. Obtiveram o valor de meia vida para o tóxico, equivalente a 3,3 dias.

Utilizando cromatografia de gás, HOELSCHER et al. (1968) pesquisaram resíduos de paratiom etílico e metílico em repolho e ervilhas, em diferentes dosagens, durante o estágio de frutificação. Em repolho, 14 dias após a última aplicação, os resíduos de ambos produtos estavam abaixo do limite de tolerância. O curto intervalo entre as aplicações e as altas proporções destas, forneceram resíduos superiores a 1 ppm, em ervilhas, 5 dias após a última pulverização.

DAVID & ALDRIDGE (1957), em ensaios de aplicação de paratiom etílico na forma de solução em torno das raízes de repolho, feijão e trigo, estudaram a sua translocação, através das partes epigeas. Bio-análise com Brevicoryne brassicae L., Myzus persicae Sulzer, Pieris brassicae L., Aphis fabae Scop e larvas de A.aegypti, revelou a toxicidade do produto na parte aérea. Em plantas tratadas com paratiom puro, a translocação de paraoxon formado sob a influência das raízes foi suficiente para provocar os efeitos tóxicos. Com o produto comercial, análogos ou isômeros presentes, como impurezas, concorreram também, para a translocação.

SMITH & CLIFFORD (1950) investigaram a translocação de paratiom etílico aplicado na folhagem e sua absorção em partes comes

tíveis de diversos vegetais, como raízes, folhas jovens e frutos, através de métodos colorimétricos. Ensaios com plantas de feijão de lima, beterraba, repolho, tomate, couve e outras indicaram que, em alguns casos, o inseticida translocou-se em quantidades mínimas.

SLOAN et al. (1951) ressaltam a importância do crescimento e influência dos fatores ambientais sobre as perdas residuais de DDT e paratiom etílico, em alface. A ação combinada destes fatores, durante 2 semanas, concorreu para uma redução de 94 a 95% de DDT e 99% dos resíduos de paratiom. Somente o crescimento provocou a redução aparente dos resíduos, no fim de 2 semanas, antes de colheita, devido ao aumento do peso da planta.

KALKAT et al. (1961) desenvolveram estudos dos efeitos da temperatura e umidade controladas na vida residual de formulações de heptacloro, aldrim, diazinom, paratiom etílico, malatiom e uma solução de epóxido de heptacloro, em bio-análise com adultos de Tribolium castaneum (Herbst).

COFFIN (1966), trabalhando com paratiom etílico e malatiom, pulverizados em alface, a 400 g de p.a./acre, demonstrou, através de cromatografia de papel, que resíduos do primeiro decresceram de 1,9 a 0,1 ppm em 4 dias. Resíduos de malatiom atingiram 11,5 e 0,1 ppm, respectivamente, 4 horas e 10 dias após a aplicação. Detectou paraoxon, malaixon e outros metabólitos não identificados, durante 2 dias.

SMITH et al. (1952), em ensaios com culturas de alface, observaram a excessiva persistência residual de paratiom etílico e sulfotepp por 3 semanas, aproximadamente, analisados, respectivamente, por colorimetria e inibição da colinesterase, mostrando que tais produtos só deveriam ser indicados nos estágios iniciais do cresci

mento.

VAN MIDDELEM et al. (1971) averiguaram resíduos de carbofuram e 3-hidroxi-carbofuram em alface, pelo método de cromatografia de gás-líquido. Resíduos combinados dos dois produtos, atingiram os valores de 0,19 ppm, quando utilizados no solo, na forma granulada e 0,14 ppm, aos 14 dias após a última aplicação foliar.

KRUEGER et al. (1973) verificaram, por métodos físico-químicos, que mudas de alface regadas com soluções de forato e aldicarbe e mantidas em casas de vegetação tiveram aumento de peso, correspondentes a 65 e 70%, respectivamente, quando receberam atmosfera enriquecida de gás carbônico. O metabolismo dos produtos não foi alterado pela alta atmosfera de CO<sub>2</sub>.

KASTING & HARCOURT (1952), através de métodos cromatográficos, verificaram que resíduos de paratiom etílico em couve-flor, provenientes de várias pulverizações, atingiram o teor médio de 1,2 ppm, 6 dias após o último tratamento.

RICHARDSON & WESTDAL (1963), utilizando malatiom no controle de Macrosteles fascifrons (Stal) em alface, observaram que, 9 dias após a última das várias aplicações, havia um resíduo inferior a 0,5 ppm.

Investigações de WESTLAKE & BUTLER (1953) detectaram resíduos de malatiom em frutos e folhas de diversos vegetais. Os resultados mostraram que os depósitos sofreram perdas, rapidamente. Resíduos em maçãs e peras foram inferiores a 0,5 ppm, 14 dias após o tratamento; em pessegueiro, atingiram de 1,0 a 2,0 ppm, no mesmo período. Aos 6 dias, em brócoli, feijão e pepino, foram ínfimos. Em espinafre, assumiram 4 ppm, também, aos 6 dias, porém com 12 dias, apenas traços do tóxico persistiram.

SMITH et al. (1954), trabalhando com malation, pesquisaram, através de métodos colorimétricos, resíduos em alface, tomate e cebola. No primeiro caso, com formulações de aerossol detectaram, 1 hora após, depósitos da ordem de 21 ppm. Aos 13 dias, os resíduos desapareceram. Em frutos de tomateiro, com as mesmas formulações, os depósitos iniciais foram de 1,05 e 0,31 a 0,41 ppm, porém com 12 dias, não detectaram a presença do tóxico. Nas formulações de pó seco, emulsão e pó molhável, 7 dias após as aplicações, observaram 0,0, 0,22 e 0,22 ppm, respectivamente, em folhas de cebola.

SMITH et al. (1955) estudaram a influência da lavagem na redução dos resíduos de malation, nas formulações de pó seco, concentrado emulsionável e pó molhável, em diferentes vegetais, como brócoli, couve, alface, frutos de tomate, além de outros. Em todos os casos, houve redução apreciável dos resíduos quando as amostras sofreram lavagem de 30 e 60 segundos, analisadas por métodos colorimétricos.

KILGORE & WINDHAN (1970) analisaram os efeitos dos processos de cocção e armazenamento a baixas temperaturas, sobre amostras de brócoli, no desaparecimento dos resíduos de malation, empregando cromatografia de gás. Após o cozimento, plantas colhidas a partir de 1, 2, 3 e 4 dias depois das aplicações, apresentaram perdas médias de 9, 34, 8 e 7%, respectivamente. Plantas cruas, coletadas nos mesmos intervalos, mostraram perdas equivalentes a 45, 69, 75 e 77%, respectivamente, após 6 meses armazenadas em refrigerador.

Pesquisas de RAI et al. (1957) comprovaram a influência da desidratação de alfafa na redução dos resíduos de malation, estimados através de método colorimétrico. Constataram que, durante o processo houve perdas residuais correspondentes a 69%.

WAITES & VAN MIDDELEM (1958), usando métodos colorimétricos verificaram que, folhas de nabo pulverizadas com malation a 10,1, 20,2 e 30,3 onças de ingrediente ativo/acre, forneceram depósitos iniciais da ordem de 1,3, 2,1 e 4,5 ppm, respectivamente. Aos 7 dias, os resíduos situaram-se nos intervalos de 0,6 a 0,9 ppm, 0,9 a 1,1 ppm e 0,9 a 1,3 ppm. Em couve, com duas pulverizações a 16 onças/acre, os resíduos não foram superiores a 3,9 ppm, 3 dias após a última aplicação.

Com a utilização do 1º instar da larva do díptero Hylemya brassicae (Bouché), READ (1971) analisou a ativação, desativação e absorção dos componentes tóxicos dos inseticidas, carbofuram, fanfur, forato, tionazim e tricloronato em plantas de nabo, comparando-se os dados obtidos com fensulfotiom.

HIGHTOWER (1959) tece considerações sobre os efeitos das temperaturas elevadas e altas intensidades de luz natural, sobre a toxicidade residual de malation, paration metílico e azinfos metílico em plantas de algodoeiro, pela bio-análise com Anthonomus grandis Boh.. Exposições a temperaturas acima de 37,8°C por 4 a 6 horas, durante 24 horas, quase não afetaram a toxicidade dos produtos. No entanto, intensidades luminosas da magnitude de 13,000 "foot-candles" e altas temperaturas, afetaram os resíduos de malation e paration metílico.

WOLFENBARGER & SHAVER (1973) preconizam a utilização da técnica de espectrofotometria de infra-vermelho na determinação dos resíduos de malation, malaaxon, azinfos metílico, seu análogo P = O, EPN, EPNoxon, fenitrotiom e fenitrotiomoxom, em folhas de algodoeiro,

Ensaio de PIGATTI & AMARAL (1960), com adultos de M. domestica e larvas de 3º instar do C. pipiens fatigans, permitiram es

timar resíduos de paratiom etílico e malatiom, correspondentes a 0,11 e 0,03 ppm e 0,47 e 0,21 ppm, respectivamente, em amostras de cogumelos crus e cozidos, colhidas 2 dias após o tratamento. Confirmaram a presença dos resíduos através de cromatografia de papel.

SUN & SANJEAN (1961) mencionam a utilização de meios físicos, químicos e biológicos na separação e determinação de inseticidas, em bio-análise específica. Os resultados indicam que resíduos de mevinfos, podem ser determinados pelo método de bio-análise com D. melanogaster na presença de alguns inseticidas inibidores da colinesterase, como paratiom etílico, malatiom, paraoxom, diazinom, paratiom metílico, carbofenotiom, azinfos metílico, demetom, TEPP, etiom e carbaryl, com interferência de menos de 7% de mevinfos aparente.

WINTERLIN et al. (1970) descrevem um processo, simples, rápido e sensível, capaz de detectar os dois isômeros de mevinfos, independentemente. A técnica envolve cromatografia de gás-líquido podendo detectar resíduos em extratos de plantas de feijão e alcachofra, tanto quanto 0,01 ppm.

ATKINS et al. (1961), trabalhando com inibição da colinesterase determinaram resíduos de mevinfos, da ordem de 0,01, 0,04 e 0,03 ppm, correspondentes às aplicações de 1,0, 1,5 e 2,0 lb/acre, respectivamente, em frutos de laranja. O valor de meia vida para o tóxico,  $RL_{50}$ , foi de 2 dias.

Em alfafa, o método espectrofotométrico de inibição da colinesterase pôde avaliar a dissipação de resíduos de mevinfos, aos 4 dias quando utilizado na razão de 4 onças/acre. O produto apresentou um certo grau de fitotoxicidade (HUDDLESTON & GYRISCO, 1961).

FIGATTI et al. (1967), pesquisando resíduos de mevinfos

em couve-flor, pela inibição da colinesterase, determinaram que a partir do 3º dia, os resíduos encontrados nas folhas e cabeça estavam abaixo do limite de tolerância.

COFFIN & MCKINLEY (1964) observaram o decréscimo dos resíduos de mevinfos e diazinom em alface, da ordem de menos de 0,1 ppm, aos 3 e 10 dias, respectivamente, após a aplicação.

Em plantas, resíduos de diclorvos têm sido identificados por análise enzimática (GIANG et al., 1956) e bio-análise (SUN & JOHNSON, 1963). Ultimamente, BOONE (1965) e DRÄGER (1968) descreveram técnicas de determinação deste produto em frutas e vegetais, através de cromatografia de gás.

VARDELL et al. (1973), trabalhando com sementes de trigo, observaram que, logo após a aplicação, os resíduos de diclorvos variaram de 2,4 a 6,0 ppm nas amostras analisadas pelo método espectrofotométrico de inibição enzimática. Com 1 semana, atingiram 1,3 ppm. A temperatura dos grãos afetou, consideravelmente a taxa de degradação dos resíduos.

NELSON et al. (1966), analisando resíduos de dimetoato em diversos vegetais, pelo método colorimétrico do clorodinitrobenzeno, observaram o seu desaparecimento nas amostras de brócoli, couve, espinafre e nabo, 14 dias após a aplicação. Em feijão de lima, feijão, soja e ervilha, persistiram aos 21 dias.

Pesquisas de MENZER & DITMAN (1963) avaliaram resíduos de fosfamido em vários vegetais, pelo método analítico do fósforo azul de molibidênio. Resíduos provenientes de diversas dosagens efetivas desapareceram aos 4 dias da aplicação, em brócoli, feijão de lima, alface e outros vegetais. Em espinafre e ervilha, com 8 e 9 a 16 dias, respectivamente. Não detectaram resíduos em pepino, melão,

raízes de beterraba e tubérculos de batata e, em tomate foram muito reduzidos.

SUN & JOHNSON (1965) referem-se a um método analítico adotado na determinação de resíduos de dicrotofos. A sua especificidade baseia-se, essencialmente, na integração de técnicas físico-químicas e biológicas, sendo os principais fatores responsáveis na redução da interferência de outros inseticidas, a toxicidade para o inseto, rapidez desta toxicidade, efeito sinérgico, partição água-solvente e estabilidade alcalina. A influência de alguns dos 26 inseticidas fosforados, 3 carbamatos e 17 clorados observados foi inferior a 6%.

MURPHY et al. (1965) descrevem um método colorimétrico de análise, utilizado na estimativa de microquantidades de resíduos de dicrotofos, em alface, aipo, cascas de limão e laranja, batatas, feijão e tomate, com sensibilidade inferior a 0,20 ppm, quando utilizaram amostras de 125 g.

GIANG & BECKMAN (1968) analisam a técnica de cromatografia de gás-líquido na detecção de resíduos de dicrotofos e monocrotofos. O método é bastante específico, simples e de alta sensibilidade. Ensaio com alface, acusaram resíduos de 5 ppb.

Segundos dados de MONTECATINI EDISON S.p.A. (1967), resíduos de fentoato têm sido investigados por métodos radiométricos, dotados de elevadíssima sensibilidade e baseados no uso do produto marcado com  $P^{32}$  e biológicos com D.melanogaster. Constataram que, de um modo geral, a concentração do tóxico nas partes comestíveis de diversas plantas diminui rapidamente, tanto que em maçãs e peras não foi superior a 0,3 ppm e em couve, inferior a 0,1 ppm, após a colheita.

DE PIETRI-TONELLI & BARONTINI (1964), comparando a eficiência de fentoato com paratiom etílico e arseniato de chumbo, contra Carpocapsa pomonella (L.) em maçãs, observaram através da bioanálise com D.melanogaster que, nos frutos, as quantidades do tóxico, aplicado a 0,04%, foram grandemente afetadas pela época de aplicação, sendo os depósitos decompostos mais rapidamente em maçãs em crescimento do que em maduras. Um dia após o tratamento, os resíduos foram menores que 1 ppm.

UNTERSTENHÖFER & FREHSE (1963), coligindo informações de vários autores, mencionam os mais importantes intervalos de segurança, em dias, de diversos países europeus para os seguintes inseticidas:

- diazinom: Bélgica (14), Dinamarca (14), Alemanha (10), Inglaterra (14), França (15), Holanda (10), Itália (14), Noruega (14), Áustria (14), Suécia (14) e Suíça (10/14);

- paratiom metílico: Bélgica (14), Alemanha (14), França (15), Itália (21), Noruega (14), Áustria (21), Suécia (30) e Suíça (31);

- mevinfos: Áustria (14), Dinamarca e Suécia (4) e outros países (3 a 7 dias).

GIANNOTTI et al. (1972) recomendam a utilização de inseticidas de baixo efeito residual no tratamento das plantas que se destinam à alimentação direta do homem ou animais domésticos. De um modo geral, o tempo necessário, em dias, que deve ser observado entre a aplicação e a colheita, para diversos produtos organo-fosforados é o seguinte: paratiom etílico 7 a 21; paratiom metílico 7 a 21; malatiom 1 a 14; mevinfos 1 a 3 e, em casos excepcionais, 14; diazi

nom 7 a 14; EPN 14 a 21; metil demetom e outros sistêmicos aplicados em pulverizações 21; carbofenotiom 7 a 30; azinfos etílico 7 a 30; triclorfom 14 a 28. A variação observada, relaciona-se com a espécie do vegetal e propriedades tóxicas do defensivo. Geralmente, os limites superiores referem-se a hortaliças, frutos, forrageiras, cereais e outros produtos agrícolas, utilizados diretamente na alimentação humana ou animal. Os inferiores, reservam-se aos produtos manipulados antes do consumo.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Toxicidade dos inseticidas fosforados para larvas de A.aegypti.

Para avaliação da suscetibilidade de larvas de A.aegypti, no 4º instar, a inseticidas fosforados, ensaios biológicos foram conduzidos com o inseto obtido da criação permanente do Departamento de Entomologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP, cuja raça é originária dos laboratórios da Divisão de Química da Rhodia - Indústrias Químicas e Têxteis, situada em Paulínia-SP.

Como trabalho preliminar, efetuou-se alguns experimentos, visando estabelecer intervalos de concentração dos inseticidas, capazes de provocar mortalidades crescentes nas larvas. Para tanto, preparou-se soluções dos produtos técnicos empregados, com acetona destilada, em concentrações conhecidas, partindo de padrões de concentração 1 mg do princípio ativo/ml, no mesmo solvente. Baseando-se nos resultados observados, determinou-se, por tentativa, intervalos de mortalidade, em função de dosagens crescentes dos tóxicos.

Posteriormente, em copos plásticos, encerrando cada um 20 larvas do organismo-teste em 100 ml de água destilada, aproximadamente, acrescentou-se quantidades variáveis e conhecidas dos produtos tóxicos, através de transferência de volumes exatos, que não excedessem a 1,0 ml, nem fossem inferiores a 0,1 ml, de maneira a fornecerem soluções de concentrações desejadas. Os inseticidas utilizados e suas respectivas concentrações de princípio ativo no produto técnico, e as concentrações finais dos tóxicos diluídos em 100 ml de

água destilada, são a seguir discriminados:

<u>produto técnico</u>	<u>p.a.</u> (%)	<u>concentrações</u> (ppm)
a) diclorvos	100,00	0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09 e 0,10
b) mevinfos	60,00	0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,10, 0,12, 0,15 e 0,18.
c) paratiom metílico	80,00	0,004, 0,006, 0,008, 0,010, 0,011, 0,012, e 0,013.
d) paratiom etílico	98,76	0,008, 0,010, 0,011, 0,012, 0,013, 0,014, 0,016 e 0,018.
e) fentoato	92,00	0,010, 0,012, 0,020, 0,025, 0,030, 0,040 e 0,045.
f) diazinom	99,60	0,08, 0,10, 0,15, 0,20, 0,25, 0,30, 0,35, 0,40 e 0,50.
g) malatiom	99,60	0,10, 0,12, 0,16, 0,20, 0,22, 0,25, 0,30 e 0,40.

Cada tratamento constou de 2 repetições, com a testemunha, recebendo apenas 1,0 ml de acetona destilada, a fim de possibilitar a correção da mortalidade de larvas, que ocorre naturalmente. Após 24 horas, investigava-se a resposta fisiológica da população, determinando-se as percentagens de mortalidade, sendo consideradas mortas as larvas que ao serem tocadas com um bastão de vidro, mostravam-se incapazes de executar movimentos natatórios apreciáveis. Em virtude da ausência de mortalidade no lote testemunha, dispensou-se a utilização da fórmula de ABBOTT (1925).

Finalmente, estabeleceu-se as curvas-padrão, dosagem x mortalidade, através de regressão linear, de conformidade com BLISS

(1953). Substituindo-se o parâmetro  $y$  das equações de regressão pelos próbites correspondentes a 50% de mortalidade, calculou-se o valor  $LC_{50}$ . Estabeleceu-se, ainda, os valores  $LC_{20}$  e  $LC_{80}$ , a fim de possibilitar o traçado das linhas ld-p, locando-se, em torno destas, as percentagens médias de mortalidade expressas em próbites. Os ensaios desenvolveram-se no Laboratório de Toxicologia do Departamento de Entomologia da ESALQ.

### 3.2. Aplicação dos inseticidas

Em culturas de alface, couve e almeirão, pertencentes às variedades Babá, Manteiga e Folha Larga, respectivamente, procedeu-se as aplicações dos inseticidas, em pulverizações, 25 dias antes da colheita, havendo-se observado as recomendações oficiais para a sua utilização. Instalou-se os experimentos em conformidade ao delineamento inteiramente casualizado, com 7 tratamentos e 2 repetições, na horta de propriedade do Sr. Benvenuto Bragato, sito em Piracicaba-SP. Cada parcela abrangeu, em média, 18, 10 e 12 plantas, distribuídas em canteiros uniformes, para alface, couve e almeirão, respectivamente. Em campo separado, manteve-se canteiros-testemunha. Foram utilizados os seguintes tratamentos:

<u>Inseticida</u>	<u>formulação</u>	<u>quantidade (p.a/ha)</u> aproximadamente (*)
A - diclorvos	C.E. (1) 100%	2.550 ml
B - mevinfos	S.C. (2) 24%	1.220 ml
C - paratiom metílico	C.E. 60%	1.430 ml
D - paratiom etílico	C.E. 60%	820 ml
E - fentoato	C.E. 50%	3.060 ml
F - diazinom	P.M. (3) 40%	1.770 g
G - malatiom	C.E. 50%	3.740 ml

- (1) - concentrado emulsionável
- (2) - solução concentrada
- (3) - pó molhável
- (\*) - quantidades para cada aplicação

Efetuu-se 3 pulverizações, espaçadas de 7 dias, iniciando-se em 22/08/1973, com pulverizador manual a alto volume. Cada preparação recebia 2 cc do espalhante adesivo Novapal/litro de calda.

### 3.3. Efeitos dos materiais co-extraídos

Nos canteiros-testemunha, em plantas que atingiam o ponto de colheita, realizou-se a amostragem de folhas, sendo em seguida o material colhido conservado à temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ .

O método analítico adotado, baseou-se na técnica proposta por LAUG (1946), com algumas modificações. Tomou-se amostras de 50 g trituradas em desintegrador elétrico, procedendo-se a extração com 150 ml de éter de petróleo destilado e 60 g de sulfato de sódio anidro, mediante homogeneização (fig.1), durante 4 minutos. Submetia-se o material resultante à filtração em papel de filtro, através de 15 g do referido sal. Para fins analíticos trabalhou-se com 75 ml do filtrado, inserindo-o num evaporador rotativo, Büchi, a vácuo (fig.2), à temperatura de  $42^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , até restar apenas 5 ml deste material, aproximadamente. A seguir, removia-se o solvente remanescente com auxílio de uma bomba de ar comprimido. Posteriormente, diluía-se os materiais co-extraídos em exatamente 5 ml de acetona destilada. Face a sua interferência nos resultados da bio-análise demonstrou-se, experimentalmente, que 0,5 dos extratos diluídos, das

hortaliças, não provocavam nenhuma mortalidade nas larvas, sendo, portanto, considerada segura a sua utilização em todos os ensaios biológicos desenvolvidos.

Em copos plásticos, com 20 larvas do inseto-teste, juntava-se 0,5 ml do citado material a 100 ml de água destilada, aproximadamente, em ensaios com 3 repetições para cada hortaliça, acrescidos de uma testemunha. Passadas 24 horas, obtinha-se a resposta fisiológica da população. Durante os ensaios a temperatura do laboratório variou de  $25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

#### 3.4. Estabelecimento dos níveis de depósitos ou resíduos

Após a última aplicação, colheu-se amostras a diferentes intervalos de tempo: logo em seguida ao tratamento, 1 dia, 3, 7 e 14 dias depois. Considerou-se como depósitos as quantidades tóxicas detectadas nas duas primeiras amostragens. A técnica analítica foi semelhante à adotada no item anterior, submergindo-se 20 larvas da população experimental, em soluções aquosas de 100 ml, aproximadamente, a uma alíquota de 0,5 ml dos extratos dissolvidos em acetona e empregou-se 2 repetições por parcela. Ao cabo de 24 horas, obtinha-se as leituras de mortalidade. Com as percentagens médias de mortalidade, transformadas em próbites, substituídas nas equações de regressão, avaliou-se as quantidades dos tóxicos nos copos. Estas, ao serem multiplicadas pelos respectivos fatores de correção e diluição, forneciam os teores nas amostras, em ppm, correspondendo à média das parcelas. Quando os extratos provocavam mortalidade total das larvas, fazia-se diluições em diversos níveis de acetona e repetia-se as

mesmas operações, anteriormente mencionadas. Pelo método em análise, mortalidades médias compreendidas fora do intervalo de 10 a 90% inclusive, foram desprezadas e as quantidades dos tóxicos a elas correspondentes, consideradas não detectáveis (N.D.). Para propósitos do estabelecimento de períodos de carência dos inseticidas, locou-se diagramas, representando-se no eixo das abcissas os intervalos de amostragem, em escala aritmética e no eixo das ordenadas, os teores de depósitos ou resíduos, em escala logarítmica. A temperatura do laboratório variou de  $25^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$ .

### 3.5. Cálculo dos fatores de correção

A fim de comprovar-se a validade do método analítico adotado, tornou-se imprescindível o tratamento de amostras-testemunha com níveis conhecidos dos tóxicos. Como passo inicial, preparou-se soluções padronizadas dos inseticidas técnicos, em éter de petróleo, na concentração de 1 mg do princípio ativo/ml, diluindo-as convenientemente, a seguir, no mesmo solvente, de modo a obter-se com as técnicas analíticas idênticas às das amostras analisadas, concentrações teóricas em torno do valor  $LC_{50}$ , em ambiente aquático de 100 ml. Para diazinom e malation que, provavelmente, sofrem sinergismo na presença dos extratos, conforme observações de laboratório, utilizou-se dosagens correspondentes à metade da concentração letal 50%. Desta maneira, fortificava-se amostras de 50 g com 1 ml das citadas diluições.

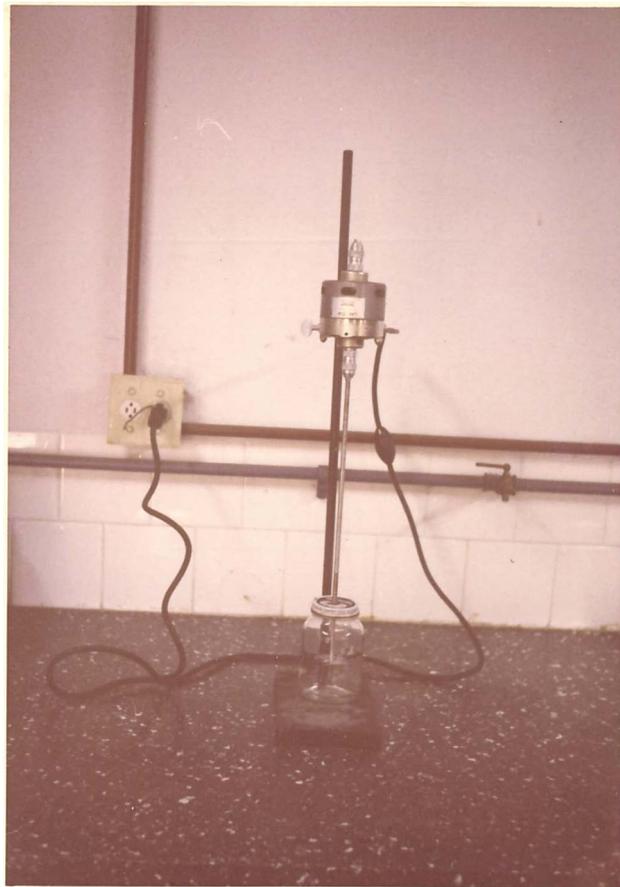
Determinou-se fatores de correção para cada nível de diluição empregado no estabelecimento dos depósitos ou resíduos, isto é, quando as amostras continham níveis tóxicos capazes de provocar

mortalidades equivalentes ou mesmo inferiores a 100%. No segundo caso, o extrato obtido não sofria diluição, recebendo a denominação de "puro". Com a introdução de 0,5 ml do material extraído, "puro" ou diluído, em copos contendo 20 larvas do inseto-teste, em 3 repetições, estimavam-se as percentagens médias de mortalidade, após 24 horas. A partir destes valores, substituídos nas equações de regressão, foram calculadas as quantidades dos inseticidas nos copos. Na avaliação dos fatores de correção (f.c.) adotou-se a fórmula abaixo:

$$f.c. = \frac{\text{quantidade teórica de inseticida presente nos copos}}{\text{quantidade do tóxico recuperada}}$$

A temperatura do ambiente de trabalho variou de 25°C ±

2°C.



**Fig.1 - Homogeneizador**



**Fig.2 - Evaporador rotativo Büchi**

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### 4.1. Toxicidade dos inseticidas para larvas de A.aegypti

A avaliação da suscetibilidade das larvas do organismo experimental aos ésteres organo-fosforados, encontra-se representada nos QUADRO II a IX. Os Gráficos 1 a 7 exprimem as curvas dosagem x mortalidade dos produtos em estudo.

Dos inseticidas utilizados, paratiom metílico mostrou-se mais tóxico à população do culicídeo, com valor  $LC_{50}$  de 0,0054 ppm, seguindo-se-lhe, em ordem decrescente de toxicidade, paratiom etílico, fentoato, diclorvos, mevinfos, malatiom e diazinom, cujos valores de concentrações letais 50% foram 0,0137, 0,0186, 0,076, 0,099, 0,185 e 0,227 ppm, respectivamente. A escassez de informações na literatura consultada impossibilita o estabelecimento de comparações entre estes valores e os observados por outros autores. MONTECATINI EDISON S.p.A. (1967), trabalhando com fentoato encontrou o valor  $LC_{50}$  de 0,016 ppm para larvas de A.aegypti, dado comparável com a presente investigação.

Os ângulos formados pelas retas de regressão com o eixo das abcissas obedeceram à seguinte escala decrescente:  $83^{\circ}27'$ ,  $82^{\circ}18'$ ,  $81^{\circ}36'$ ,  $81^{\circ}02'$ ,  $79^{\circ}33'$ ,  $78^{\circ}11'$  e  $77^{\circ}40'$ , respectivamente para paratiom etílico, diclorvos, mevinfos, malatiom, diazinom, paratiom metílico e fentoato. A análise dos gráficos correspondentes permitem observar que, nestas situações, à medida que o ângulo aumenta há uma tendência de um pequeno acréscimo na dosagem do tóxico, acarretar uma

resposta de mortalidade mais pronunciada nas linhas ld-p. No caso presente, o fato ocorreu mais intensamente com paratiom etílico, de crescendo a partir deste. Entretanto, verifica-se que a diferença entre os ângulos maior e menor não atinge 6<sup>o</sup>, demonstrando a sensibilidade comparável do organismo-teste aos ésteres, em termos de rapidez de resposta fisiológica a dosagens crescentes destes.

A sensibilidade do organismo a tóxicos nos ensaios biológicos assume capital importância sob o ponto de vista de controle e avaliação de resíduos. Na primeira situação é evidente que, quanto mais sensível for o inseto aos produtos químicos, maior a possibilidade de sucesso no controle. Com relação a A.aegypti, SMITH (1951), citado por FORATTINI (1965), recomenda como normas de controle, a eliminação de focos larvais, facilmente acessíveis, descoberta e destruição dos criadouros escondidos e pouco evidentes e manutenção de serviço permanente de vigilância, a fim de surpreender e eliminar as reinfestações. Para avaliação de resíduos, uma maior sensibilidade do organismo, implica na possibilidade de detecção de menores teores do tóxico.

No controle antilarval, a utilização de produtos químicos, como DDT, BHC e dieldrim tem sido bastante pronunciada, sempre que a eliminação dos criadouros não é possível. Enquadram-se neste caso, as regiões desprovidas de abastecimento d'água, obrigando a população manter reservatórios domésticos, potencialmente favoráveis ao desenvolvimento larval, ou outro sítio, natural ou artificial, onde a eliminação nem sempre é fácil (FORATTINI, 1965).

Conforme ALMEIDA & SVETLICIC (1972), a legislação brasileira não permite o emprego de substâncias químicas com LD<sub>50</sub> oral, aguda, para ratos abaixo de 80 mg/kg em residências e recintos públi

cos. Embora os propósitos essenciais destas investigações não vi sem fornecer normas de controle de larvas de A.aegypti e sim provei tar a sua utilização na bio-análise de resíduos, devido as vantagens auferidas, baseando-se nos resultados observados, acredita-se na gran de contribuição que os inseticidas, fentoato, diazinom e malatiom po deriam prestar no campo da Entomologia Médica, uma vez que, segundo KENAGA & ALLISON (1969) as doses letais 50% destes produtos enqua dram-se dentro dos requisitos legais.

Analisando-se o outro aspecto da sensibilidade do orga nismo em estudo aos inseticidas, as discussões propostas, anterior mente, permitem deduzir que, paratiom metílico, paratiom etílico e fentoato podem ser utilizados na bio-análise de resíduos sem maiores cuidados de limpeza de extratos, devido a sua grande toxicidade.

a) diclorvos

QUADRO II - Mortalidade de larvas de A.aegypti no 4º ins tar, sob a ação de diclorvos.

Dosagens (ppm)	Nº de larvas mortas		Média	% de mortalidade
	A	B		
0,05	1	4	2,5	12,5
0,06	4	3	3,5	17,5
0,07	11	5	8,0	40,0
0,08	11	7	9,0	45,0
0,09	10	14	12,0	60,0
0,10	18	18	18,0	90,0
Test.	-	-	-	-

PROBABILITY SCALE 350-226  
STATISTICS  
REDFIELD & GIBBS CO. NEW YORK, N.Y.

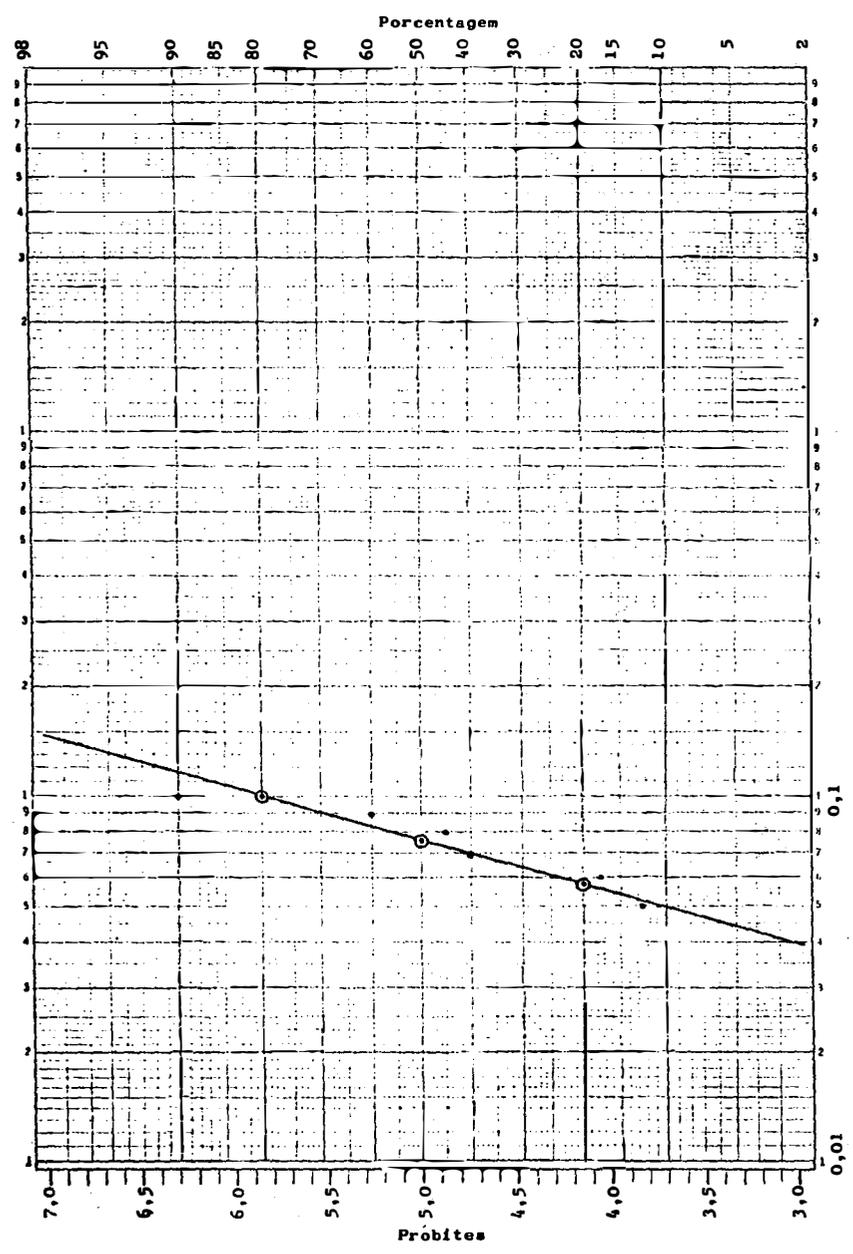


GRÁFICO 1 - Curva dosagem x mortalidade de diclorvos para larvas do 4º ínstar de A. aegypti.

b) mevinfosQUADRO III - Mortalidade de larvas de A.aegypti no 4º ínstar, sob a ação de mevinfos.

Dosagens (ppm)	Nº de larvas mortas		Média	% de mortalidade
	A	B		
0,05	1	-	0,5	2,5
0,06	-	3	1,5	7,5
0,07	6	4	5,0	25,0
0,08	6	9	7,5	37,5
0,09	8	8	8,0	40,0
0,10	15	14	14,5	72,5
0,12	17	14	15,5	77,5
0,15	18	19	18,5	92,5
0,18	20	19	19,5	97,5
Test.				

c) paratiom metílicoQUADRO IV - Mortalidade de larvas de A.aegypti no 4º ínstar, sob a ação de paratiom metílico

Dosagens (ppm)	Nº de larvas mortas		Média	% de mortalidade
	A	B		
0,004	3	6	4,5	22,5
0,006	13	14	13,5	67,5
0,008	16	16	16,0	80,0
0,010	16	17	16,5	82,5
0,011	19	18	18,5	92,5
0,012	20	18	19,0	95,0
0,013	19	20	19,5	97,5
Test.	-	-	-	-

PROBABILITY SCALE 350-22G  
3 CYCLE LOG  
SUPPLY CENTER CO.

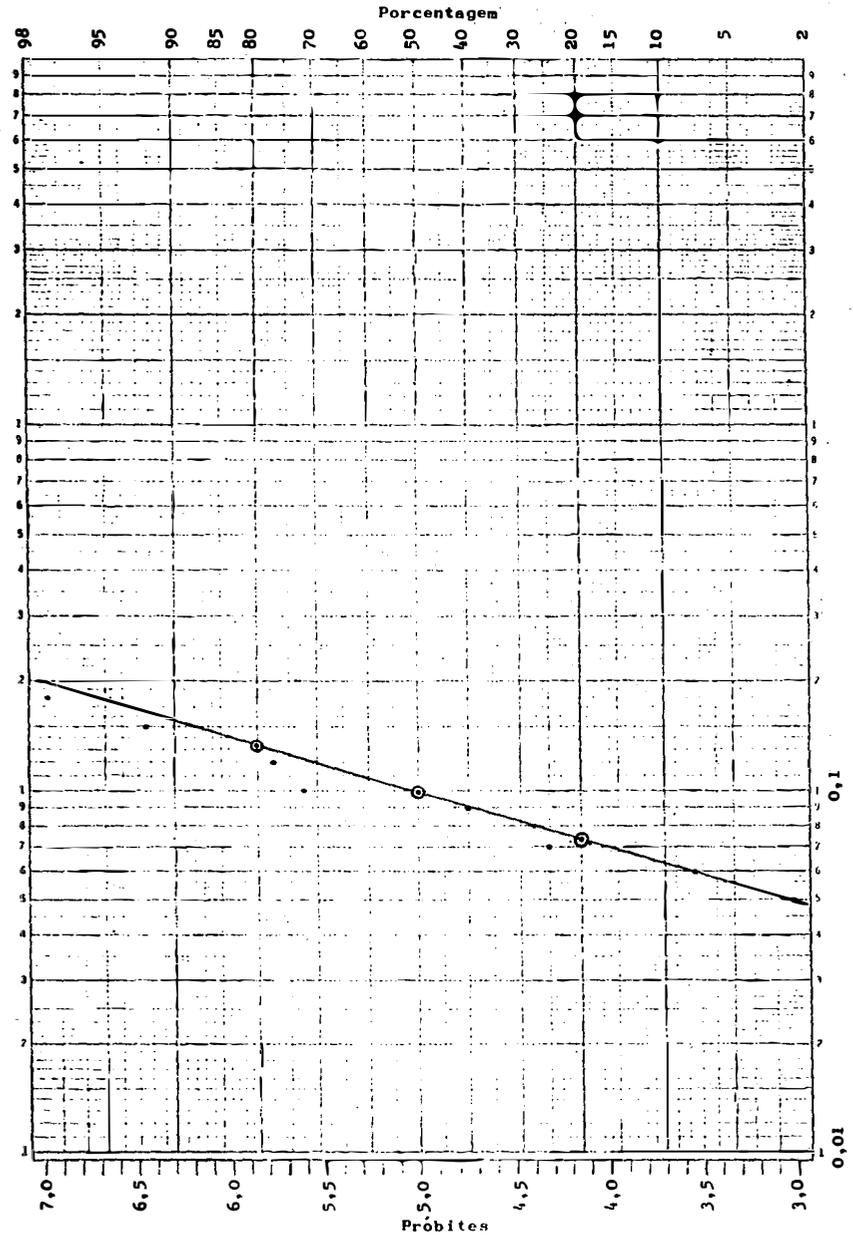


GRÁFICO 2 - Curva dosagem x mortalidade de mevinfos para larvas do 4º ínstar de A.aegypti.

PROBABILITY SCALE  
350-220  
STATISTICAL SUPPLY CO. NEW YORK

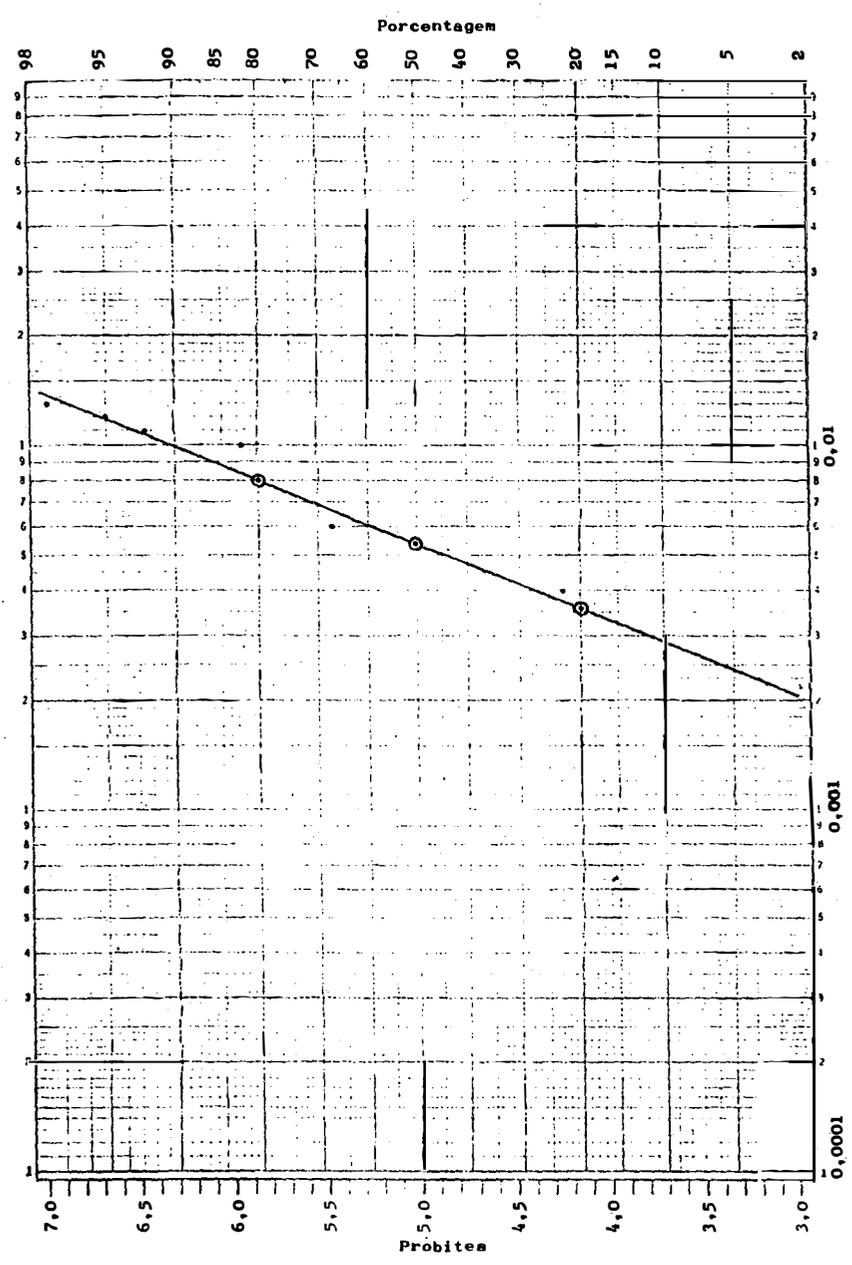


GRÁFICO 3 - Curva dosagem x mortalidade de paratiom metílico pa  
ra larvas do 4º ínstar de A.aegypti.

d) paratiom etílicoQUADRO V - Mortalidade de larvas de A.aegypti no 4º ínstar, sob a ação de paratiom etílico.

Dosagens (ppm)	Nº de larvas mortas		Média	% de mortalidade
	A	B		
0,008	-	1	0,5	2,5
0,010	2	3	2,5	12,5
0,011	4	3	3,5	17,5
0,012	5	7	6,0	30,0
0,013	10	10	10,0	50,0
0,014	8	14	11,0	55,0
0,016	19	10	14,5	72,5
0,018	16	18	17,0	85,0
Test.	-	-	-	-

e) fentoatoQUADRO VI - Mortalidade de larvas de A.aegypti no 4º ínstar, sob a ação de fentoato.

Dosagens (ppm)	Nº de larvas mortas		Média	% de mortalidade
	A	B		
0,010	2	4	3,0	15,0
0,012	2	5	3,5	17,5
0,020	12	10	11,5	57,5
0,025	17	8	12,5	62,5
0,030	18	13	15,5	77,5
0,040	18	20	19,0	95,0
0,045	20	19	19,5	97,5
Test.	-	-	-	-

K-22 PROBABILITY SCALE 350-026  
E.S. CORNELL, INC.  
STATISTICAL SERVICE CO. MADE IN U.S.A.

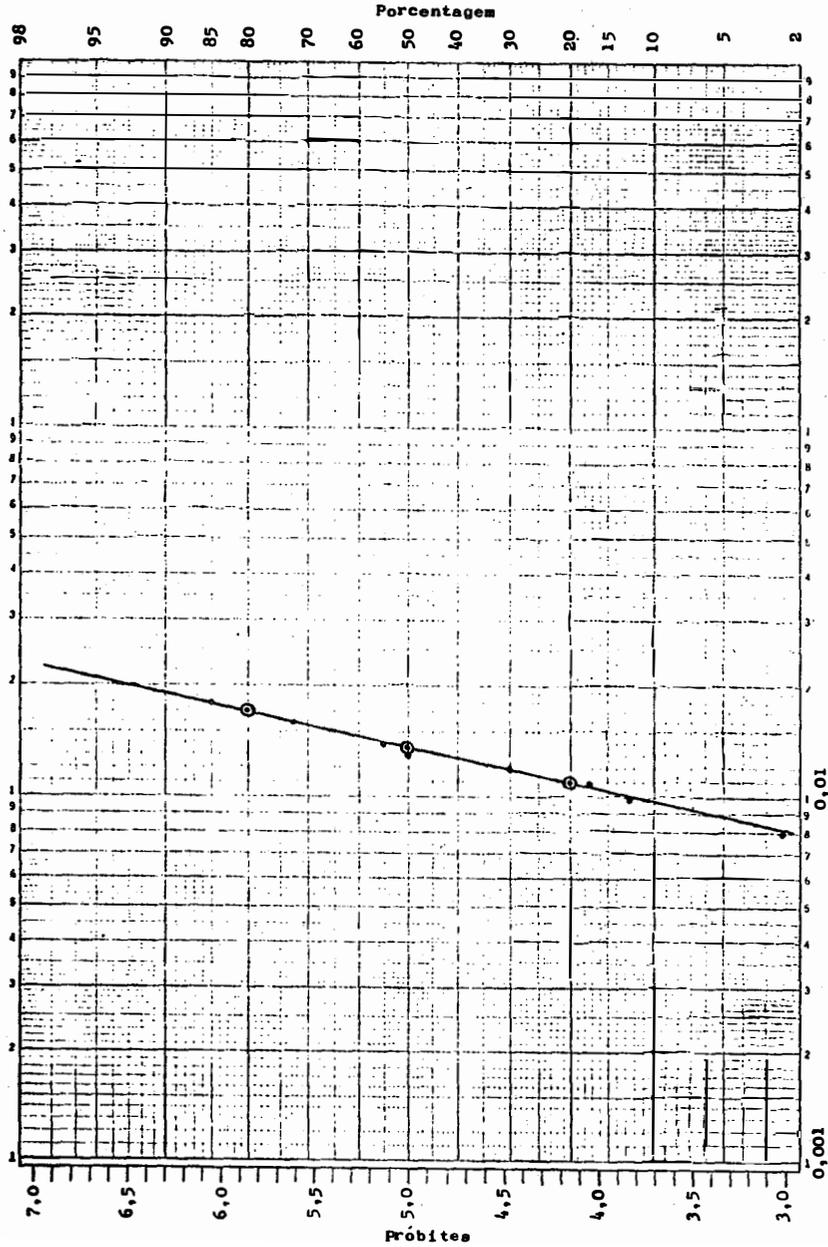


GRÁFICO 4 - Curva dosagem x mortalidade de paratiom etílico pa  
ra larvas do 4º instar de A.aegypti.

PROBABILITY SCALE 350-226  
K3 SCALE LOG.  
HEUFFEL & ESSER CO.  
NEW YORK, N.Y.

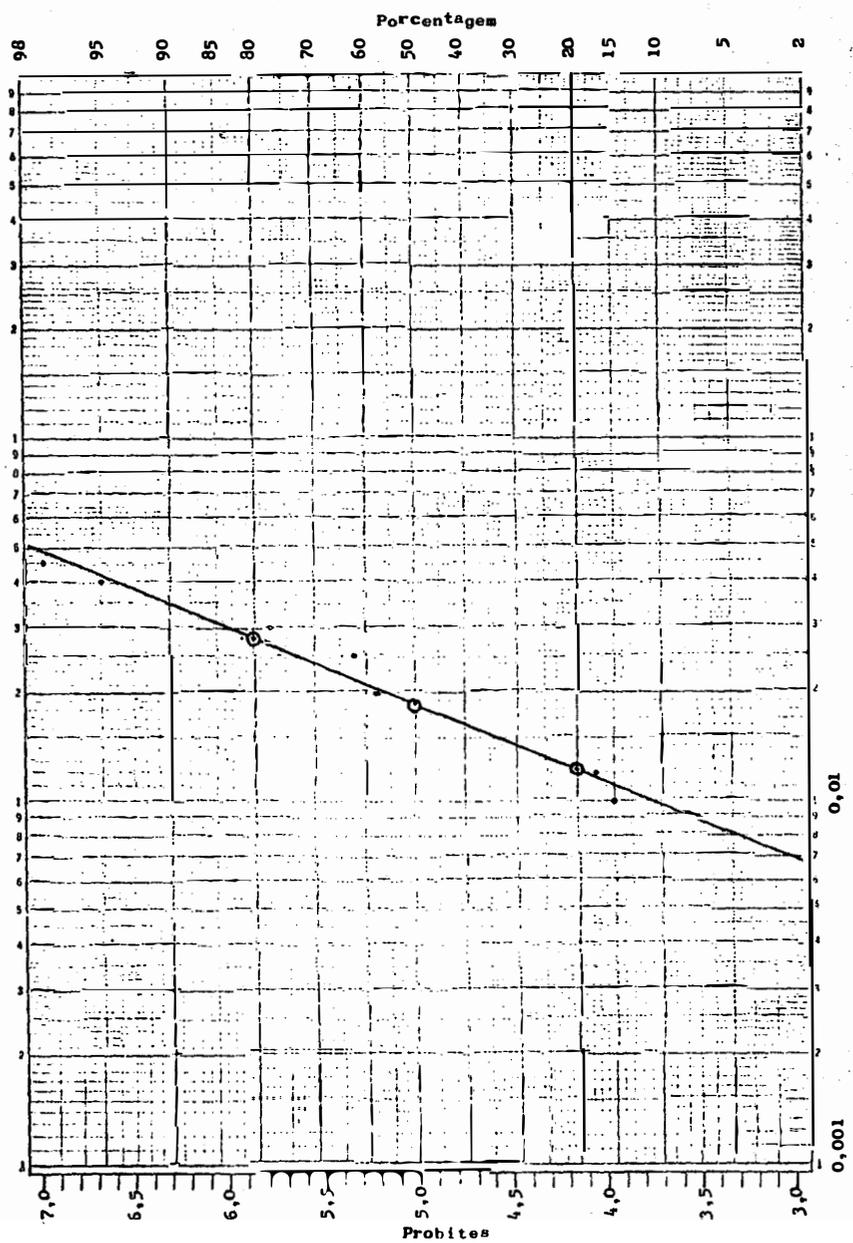


GRÁFICO 5 - Curva dosagem x mortalidade de fentoato para larvas do 4º ínstar de A.aegypti.

f) diazinonQUADRO VII - Mortalidade de larvas de A. aegypti, no 4º instar, sob a ação de diazinom.

Dosagens (ppm)	Nº de larvas mortas		Média	% de mortalidade
	A	B		
0,08	1	-	0,5	2,5
0,10	1	1	1,0	5,0
0,15	2	2	2,0	10,0
0,20	5	6	5,5	27,5
0,25	8	6	7,0	35,0
0,30	13	18	15,5	77,5
0,35	19	16	17,5	87,5
0,40	19	19	19,0	95,0
0,50	20	19	19,5	97,5
Test.	-	-	-	-

g) malatimQUADRO VIII - Mortalidade de larvas de A. aegypti no 4º instar, sob a ação de malatim.

Dosagens (ppm)	Nº de larvas mortas		Média	% de mortalidade
	A	B		
0,10	2	1	1,5	7,5
0,12	1	3	2,0	10,0
0,16	4	7	5,5	27,5
0,20	6	9	7,5	37,5
0,22	16	16	16,0	80,0
0,25	18	17	17,5	87,5
0,30	20	16	18,0	90,0
0,40	20	19	19,5	97,5
Test.	-	-	-	-

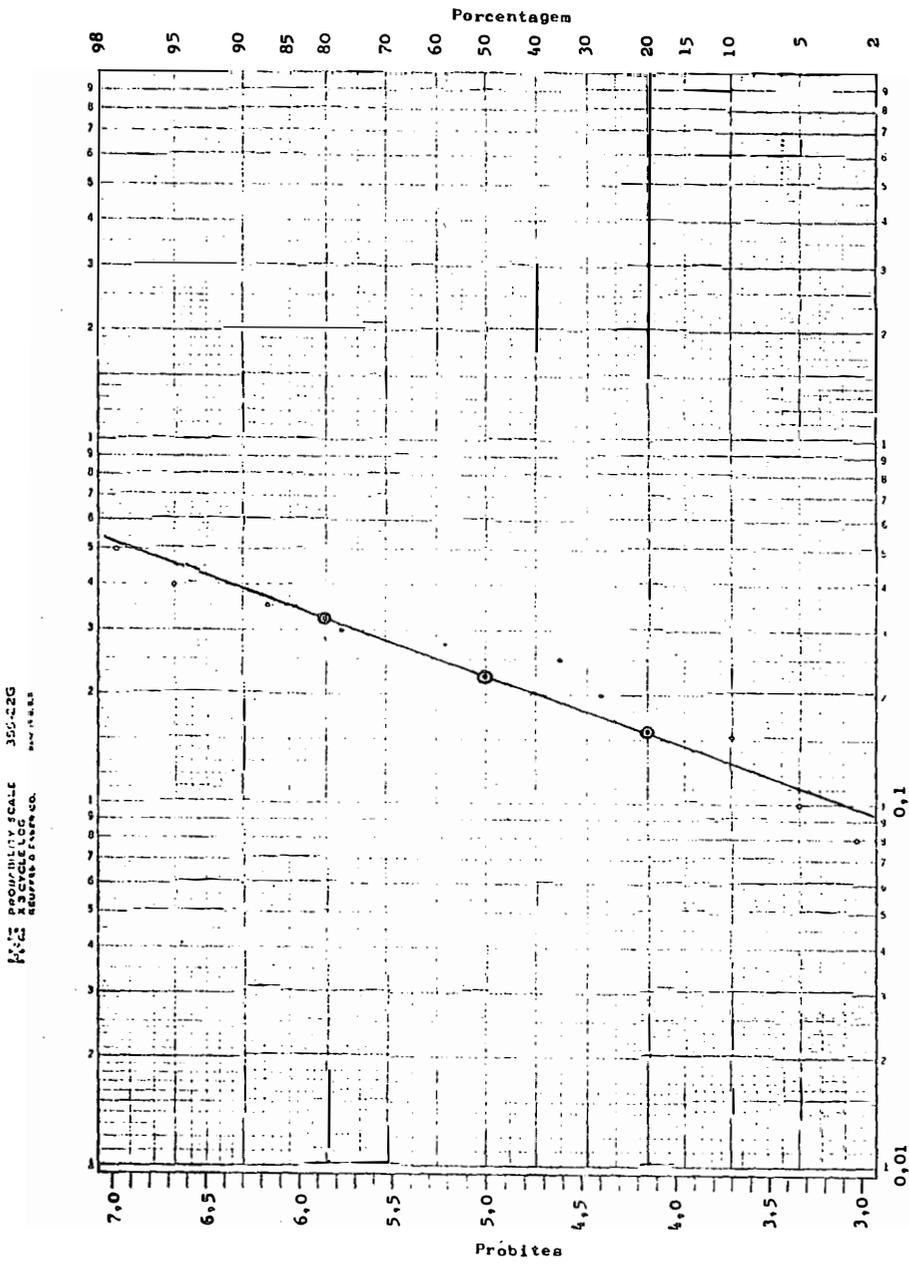


GRÁFICO 6 - Curva dosagem x mortalidade de diazinom para larvas do 4º instar de A.aegypti.

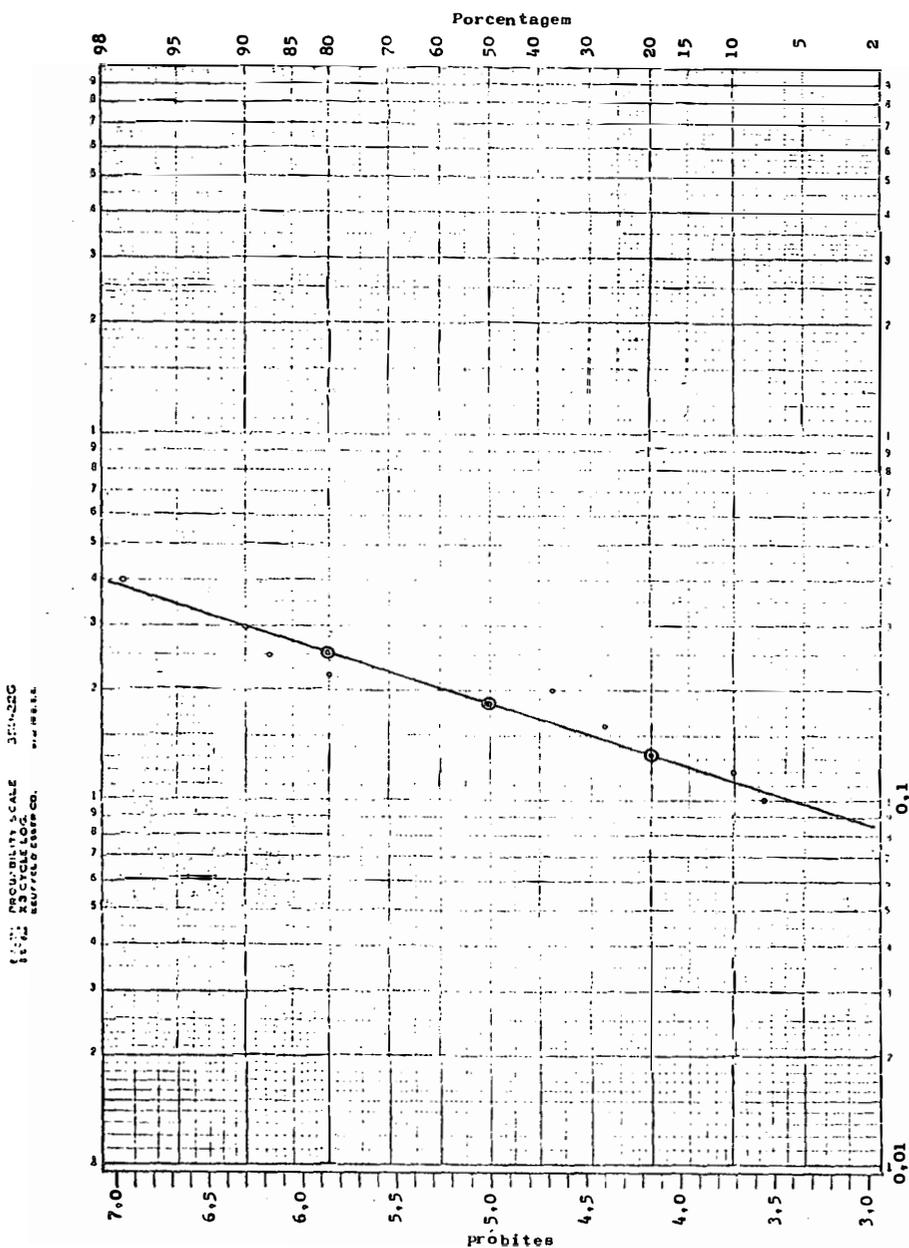


GRÁFICO 7 - Curva dosagem x mortalidade de malatium para larvas do 4º ínstar de A.aegypti.

QUADRO IX - Toxicidade dos inseticidas organo-fosforados e equações de regressão da população experimental de larvas do 4º ínstar de A.aegypti.

Inseticidas	Valores LC50 (ppm)	Tangentes tri gonométricas	Ângulos	Equações de regressão
diclorvos	0,076	7,397	82°18'	$\hat{y} = -1,538 + 7,397 \log 100 x$
mevinfos	0,099	6,773	81°36'	$\hat{y} = -1,761 + 6,773 \log 100 x$
paratiom me				
tílico	0,0054	4,780	78°11'	$\hat{y} = 1,481 + 4,780 \log 1000 x$
paratiom eti				
lico	0,0137	8,719	83°27'	$\hat{y} = -4,881 + 8,719 \log 1000 x$
fentoato	0,0186	4,573	77°40'	$\hat{y} = 3,772 + 4,573 \log 100 x$
diazinon	0,227	5,421	79°33'	$\hat{y} = -2,358 + 5,421 \log 100 x$
malatiom	0,185	6,337	81°02'	$\hat{y} = -3,039 + 6,337 \log 100 x$

#### 4.2. Influência dos materiais co-extraídos

Um dos problemas fundamentais na avaliação de defensivos agrícolas, através da bio-análise, consiste na interferência de certos constituintes dos substratos, como óleos, ceras, gorduras, esteróis, etc., na expressão dos resultados analíticos, mascarando os efeitos dos tóxicos. Tais substâncias podem atuar, diluindo a atividade do produto, na redução da sua toxicidade ou exercendo efeito sinérgico, quando são materiais tóxicos naturais. Por conseguinte, torna-se um imperativo a remoção destes materiais, sempre que se necessitam de resultados mais precisos e de alta sensibilidade. Geralmente, os métodos de limpeza de extratos recomendados para a análise química, prestam-se para a bio-análise. Conforme SUN & SUN (1952), sem uma perfeita limpeza, mesmo extrativos não tóxicos, usualmente, modificam os resultados dos métodos biológicos. Com larvas de A.aegypti os efeitos dos co-extraídos têm sido mais pronunciados do que com outros organismos (TERRIERE & INGALSBE, 1957). SUN (1957), coligindo dados de vários autores, menciona técnicas adotadas na limpeza de extratos de algumas plantas e produtos animais.

Nos experimentos executados, face às dificuldades de uma limpeza de extratos, especulou-se diversos níveis de materiais extraídos, oriundos de amostras de diferentes pesos, com o intuito de encontrar-se uma quantidade padrão que não ocasionasse mortalidade no lote experimental, nem reduzisse, em grande proporção, a sensibilidade do método. Na ocasião foram testados vários solventes, cabendo a escolha ao éter de petróleo, devido suas características físicas desejáveis. Após várias tentativas concluiu-se que, para cada hora-taliça, 0,5 ml dos extratos dos materiais co-extraídos, provenientes

de amostras de 50 g, atendiam os requisitos exigidos sem interferir nos resultados da bio-análise.

#### 4.3. Níveis de depósitos ou resíduos

Os inseticidas fosforados, na superfície ou no interior das plantas e tecidos animais, podem ser modificados por hidrólise ou dissociação, oxidação, redução e, em alguns casos, isomerização, sendo as duas primeiras reações de importância primordial.

O método analítico desenvolvido não permitiu detectar metabólitos, limitando-se a teores de inseticidas, correspondentes ao total de todos os produtos tóxicos prováveis, oriundos destes fenômenos, em diferentes intervalos de tempo, entre a última aplicação e a colheita.

##### 4.3.1. Alface

Os QUADROS X a XIV expressam, na seqüência das amostras, os valores dos depósitos ou resíduos obtidos e o QUADRO XV apresenta estes resultados de modo sucinto.

Diclorvos apresentou depósito de 6,9 ppm, com os resíduos, atingindo 2,4 ppm aos 3 dias. Com 7 e 14 dias não foram detectáveis. Não havendo limite de tolerância estabelecido, fica impossibilitada a avaliação do intervalo de segurança. No entanto, uma limpeza de extrato concorreria, provavelmente, para aumentar a sensibilidade do método, fornecendo subsídios que, futuramente, possam ser utilizados nos estudos de persistência do produto.

Mevinfos, aos 3 dias ainda acusou resíduos prejudiciais

superiores ao limite de tolerância, fixado em 0,5 ppm de acordo com a resolução 23/66 da Comissão Permanente de Aditivos para Alimentos do Ministério da Saúde, referente ao decreto nº 55.871/65. A partir de uma semana, o método não os detectou. Os resultados contrariam as informações de PIGATTI et al. (1967), COFFIN & MCKINLEY (1964), HUDLESTON & GYRISCO (1962) e ATKINS et al. (1961), em couve-flor, alfafa, alfafa e frutos de laranja, respectivamente. Em face das observações encontradas, possivelmente ocorreu uma influência dos materiais co-extraídos, alterando a resposta do organismo. Deste modo, o extrato carece de uma limpeza cuidadosa. A ausência de pesquisas nas condições brasileiras com esta cultura, através de métodos biológicos ou outros mais precisos, levanta a possibilidade de comprovação experimental dos resultados, pois conforme GIANNOTTI et al. (1972), o intervalo de segurança para mevinfos varia de 1 a 3 dias e, em casos excepcionais, pode atingir 14 dias. Nas condições do ensaio, não se pôde determinar intervalo de segurança.

Paratiom metílico, com 1 semana apresentou níveis residuais de 1,4 ppm, acima do limite de tolerância, correspondente a 1 ppm e, aos 14 dias não foram detectados. Atentando-se para o Gráfico 8 é óbvio que não é possível fixar-se, com precisão, o período de carência, mas com boa margem de acerto, próximo aos 14 dias, os resíduos que, porventura possam existir não comprometeriam a saúde dos consumidores. Entretanto, uma limpeza de extrato poderia elucidar o verdadeiro comportamento do produto. GIANNOTTI et al. (1972) sugerem como intervalo de segurança, 7 a 14 dias, estando de acordo com os resultados alcançados.

Resíduos de paratiom etílico atingiram o limite de tolerância de 1 ppm, aos 7 dias e no 14º dia apresentaram-se muito abai

xo (Gráfico 9). As observações indicam a colheita segura do vegetal a partir de 7 dias, sem o perigo de intoxicações. A ausência do cômputo de dados climáticos não permite estabelecer comparações entre estes ^atores e o decréscimo dos resíduos do tóxico, pois conforme SLOAN et al. (1951), fatores ambientais e crescimento vegetal influem, positivamente, na redução dos seus níveis residuais. Em alface, SMITH (1952) e COFFIN (1966) observaram a persistência do produto por 3 semanas e níveis de 0,1 ppm, após 4 dias, respectivamente. Os dados coligidos na presente investigação concordam com GIANNOTTI et al. (1972).

Com fentoato, os depósitos iniciais assumiram 6,0 e 5,3 ppm, porém aos 14 dias, os resíduos decresceram para 0,7 ppm. Ainda não foram estabelecidos o limite de tolerância e período de carência para o produto, de modo que o Gráfico 10 não possibilita informações seguras quanto à utilização do inseticida na cultura em apreço. Segundo MONTECATINI EDISON S.p.A. (1967), o tóxico decresce, rapidamente, em maçãs e peras, atingindo 0,3 ppm após a colheita. DE PIETRI-TONELLI & BARONTINI (1964) avaliaram resíduos inferiores a 1 ppm, em maçãs, 1 dia após a última aplicação.

A situação de diazinom seguiu o mesmo caminho de mevinfos, sendo os resíduos presentes, acima do limite de tolerância de 0,75 ppm, no 3º dia e não detectáveis nas amostragens seguintes. De modo similar, não há possibilidade de sugerir-se intervalo de segurança, devido desconhecer-se os teores residuais, supostos presentes naquelas amostragens. Assim, são válidas as observações referentes à limpeza de extratos, incluindo indicações no uso de larvas de menor idade fisiológica, tendo em vista a relativa sensibilidade do organismo experimental a diazinom. COFFIN & MCKINLEY (1964) determinaram resíduos de 0,1 ppm do inseticida em alface, aos 10 dias. Os re

sultados encontrados para os resíduos do tóxico em análise não podem ser comparados com as opiniões de GIANNOTTI et al. (1972).

Com respeito ao malatium, os resultados foram mais esclarecedores. Apesar de fornecer depósito inicial de 18 ppm, com 1 dia, os níveis tóxicos afastaram-se do limite de tolerância de 8 ppm, de crescendo até o 7º dia e não sendo detectados aos 14 dias (Gráfico 11). As observações são comparáveis aos trabalhos de RICHARDSON & WESTDAL (1963), COFFIN (1966) e SMITH et al. (1954), em alface. PI GATTI & AMARAL (1960) encontraram níveis do tóxico, abaixo do limite de tolerância no 2º dia, em cogumelos crus e cozidos. Deste modo, recomenda-se a utilização da hortaliça a partir do 1º dia, concordan do com GIANNOTTI et al. (1972).

QUADRO X - Alfaca - Depósitos dos inseticidas fosforados, logo após a última aplicação.

Tratamento	diluição	Nº de larvas mortas		Média	% de mortalidade	ppm no copo (100 ml)	fator de correção	ppm na amostra	Média (ppm)
		I	II						
A <sub>1</sub>	1:2	15	12	8,5	42,5	0,07216	1,214	7,000	6,9
A <sub>2</sub>	1:2	4	12	8,0	40,0	0,07060	1,214	6,864	
B <sub>1</sub>	1:2	2	7	4,5	22,5	0,07705	0,856	5,270	5,2
B <sub>2</sub>	1:2	5	3	4,0	20,0	0,07480	0,856	5,120	
C <sub>1</sub>	1:128	13	20	16,5	82,5	0,08547	0,696	30,464	29,8
C <sub>2</sub>	1:128	18	14	16,0	80,0	0,08172	0,696	29,133	
D <sub>1</sub>	1:32	15	20	17,5	87,5	0,01847	0,975	23,040	20,9
D <sub>2</sub>	1:32	11	15	13,0	65,0	0,01505	0,975	18,816	
E <sub>1</sub>	1:8	13	18	15,5	77,5	0,02714	0,966	8,640	6,0
E <sub>2</sub>	1:8	6	1	3,5	17,5	0,01159	0,966	3,680	
F <sub>1</sub>	1:4	9	15	12,0	60,0	0,25350	0,307	12,448	12,0
F <sub>2</sub>	1:4	8	13	10,5	52,5	0,23380	0,307	11,488	
G <sub>1</sub>	1:4	12	10	11,0	55,0	0,19430	0,389	12,096	18,0
G <sub>2</sub>	1:8	10	8	9,0	45,0	0,17730	0,422	23,936	

QUADRO XI - Alfaxe - Depósitos dos inseticidas fosforados, 1 dia após a última aplicação.

Tratamentos	diluição	nº de larvas mortas		Média	% de mortalidade	ppm no copo (100 ml)	fator de correção	ppm na amostra	Média
		I	II						
A <sub>1</sub>	puro	6,0	5,0	5,5	27,5	0,06393	1,149	2,940	2,8
A <sub>2</sub>	puro	2,0	5,0	3,5	17,5	0,05721	1,149	2,630	
B <sub>1</sub>	puro	4,0	4,0	4,0	20,0	0,07480	1,224	3,660	4,9
B <sub>2</sub>	puro	13,0	17,0	15,0	75,0	0,12520	1,224	6,120	
C <sub>1</sub>	1:128	4,0	3,0	3,5	17,5	0,00347	0,696	12,390	18,7
C <sub>2</sub>	1:128	11,0	17,0	14,0	70,0	0,00701	0,696	24,986	
D <sub>1</sub>	1:16	13,0	14,0	13,5	67,5	0,01532	0,939	9,216	9,5
D <sub>2</sub>	1:16	15,0	15,0	15,0	75,0	0,01629	0,939	9,792	
E <sub>1</sub>	1:8	9,0	16,0	12,5	62,5	0,02179	0,996	6,944	5,3
E <sub>2</sub>	1:4	19,0	12,0	15,5	77,5	0,02714	0,851	3,696	
F <sub>1</sub>	1:2	3,0	1,0	2,0	10,0	0,13210	0,330	3,488	4,4
F <sub>2</sub>	1:2	8,0	8,0	8,0	40,0	0,20495	0,330	5,408	
G <sub>1</sub>	1:2	8,0	3,0	5,5	27,5	0,14940	0,421	5,032	5,1
G <sub>2</sub>	1:2	7,0	5,0	6,0	30,0	0,15340	0,421	5,168	

QUADRO XII - Alfance - Resíduos dos inseticidas fosforados, 3 dias após a última aplicação.

Tratamen- tos	diluuição	nº de larvas mortas		Média	% de morta- lidade	ppm no copo (100 ml)	fator de correção	ppm na amostra	Média (ppm)
		I	II						
A <sub>1</sub>	puro	4,0	2,0	3,0	15,0	0,05544	1,149	2,548	2,4
A <sub>2</sub>	puro	2,0	2,0	2,0	10,0	0,05135	1,149	2,360	
B <sub>1</sub>	puro	2,0	9,0	5,5	27,5	0,08127	1,224	3,980	4,3
B <sub>2</sub>	puro	5,0	16,0	10,5	52,5	0,10175	1,224	4,560	
C <sub>1</sub>	1:16	10,0	17,0	13,5	67,5	0,00678	0,669	2,900	3,3
C <sub>2</sub>	1:16	17,0	16,0	16,5	82,5	0,008547	0,669	3,660	
D <sub>1</sub>	1:4	15,0	9,0	12,0	60,0	0,01453	1,057	2,450	2,3
D <sub>2</sub>	1:4	4,0	10,0	7,0	35,0	0,01228	1,057	2,080	
E <sub>1</sub>	1:2	-	2,0	1,0	5,0	-	0,966	-	1,3
E <sub>2</sub>	1:2	5,0	12,0	8,5	42,5	0,01687	0,966	1,344	
F <sub>1</sub>	puro	17,0	5,0	11,0	55,0	0,24020	0,388	3,728	3,2
F <sub>2</sub>	puro	6,0	4,0	5,0	25,0	0,17090	0,388	2,652	
G <sub>1</sub>	puro	3,0	4,0	3,5	17,5	0,13210	0,643	3,396	3,3
G <sub>2</sub>	puro	3,0	3,0	3,0	15,0	0,12740	0,643	3,276	

QUADRO XIII - Alface - Resíduos dos inseticidas fosforados, 7 dias após a última aplicação.

Tratamentos	diluição	nº de larvas mortas		Média	% de mortalidade	ppm no copo (100 ml)	fator de correção amostra	ppm na Média
		I	II					
A <sub>1</sub>	puro	-	-	-	-	N.D	1,149	N.D
A <sub>2</sub>	puro	-	-	-	-	N.D	1,149	N.D
B <sub>1</sub>	puro	-	-	-	-	N.D	1,224	N.D
B <sub>2</sub>	puro	-	-	-	-	N.D	1,224	N.D
C <sub>1</sub>	1:4	15,0	15,0	15,0	75,0	0,00754	0,734	0,885
C <sub>2</sub>	1:8	13,0	19,0	16,0	80,0	0,00817	0,759	1,984
D <sub>1</sub>	1:2	5,0	2,0	3,5	17,5	0,01062	1,068	0,904
D <sub>2</sub>	1:2	6,0	8,0	7,0	35,0	0,01228	1,068	1,048
E <sub>1</sub>	puro	6,0	5,0	5,5	27,5	0,01373	1,514	0,832
E <sub>2</sub>	puro	4,0	6,0	5,0	25,0	0,01321	1,514	0,800
F <sub>1</sub>	puro	-	-	-	-	N.D	0,388	N.D
F <sub>2</sub>	puro	-	-	-	-	N.D	0,388	N.D
G <sub>1</sub>	puro	2,0	2,0	2,0	10,0	0,11650	0,643	2,996
G <sub>2</sub>	puro	3,0	3,0	3,0	15,0	0,12740	0,643	3,276

QUADRO XIV - Alfaxe - Resíduos dos inseticidas fosforados, 14 dias após a última aplicação.

Tratamentos	diluição	nº de larvas mortas		Média	% de mortalidade	ppm no copo (100 ml)	fator de correção amostra	ppm na amostra	Média
		I	II						
A1	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D	N.D
A2	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D	N.D
B1	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D	N.D
B2	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D	N.D
C1	puro	1,0	-	0,5	2,5	N.D	0,820	N.D	N.D
C2	puro	-	-	-	-	N.D	0,820	N.D	N.D
D1	puro	2,0	2,0	2,0	10,0	0,00969	0,939	0,364	0,4
D2	puro	3,0	5,0	4,0	20,0	0,01080	0,939	0,404	
E1	puro	3,0	5,0	4,0	20,0	0,01214	1,514	0,736	0,7
E2	puro	6,0	2,0	4,0	20,0	0,01214	1,514	0,736	
F1	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D	N.D
F2	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D	N.D
G1	puro	1,0	2,0	1,5	-	N.D	0,643	N.D	N.D
G2	puro	2,0	1,0	1,5	-	N.D	0,643	N.D	N.D

QUADRO XV - Alface - Resíduos dos inseticidas.

Tratamentos	Resíduos, ppm				
	Intervalos a partir da última aplicação				
	logo após	1 dia	3 dias	7 dias	14 dias
diclorvos	6,9	2,8	2,4	N.D	N.D
mevinfos	5,2	4,9	4,3	N.D	N.D
paratiom me					
tílico	29,8	18,7	3,3	1,4	N.D
paratiom eti					
lico	20,9	9,5	2,3	1,0	0,4
fentoato	6,0	5,3	1,3	0,8	0,7
diazinom	12,0	4,4	3,2	N.D	N.D
malatiom	18,0	5,1	3,3	3,0	N.D

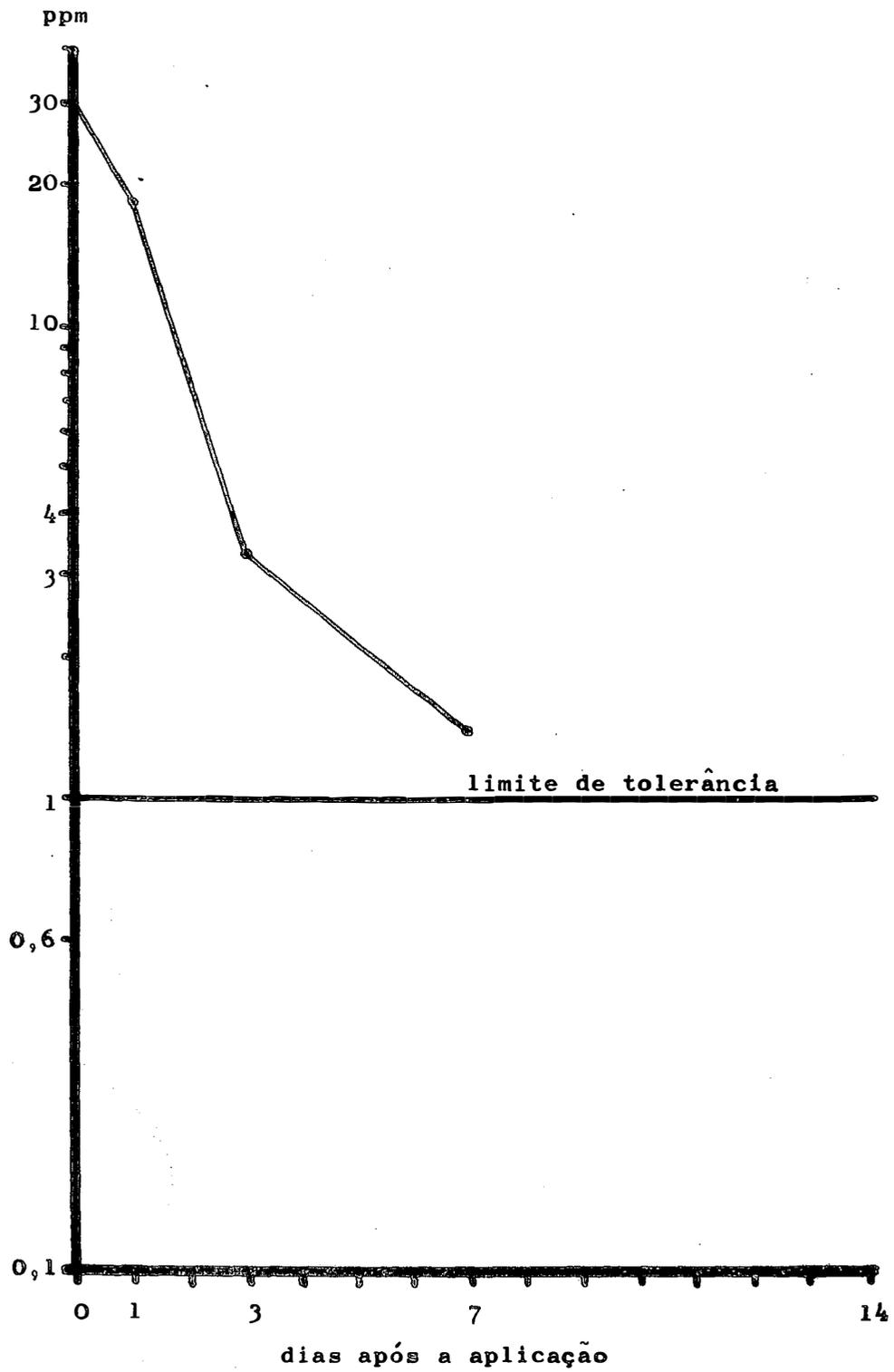


GRÁFICO 8 - Resíduos de paratiom metílico em alface.

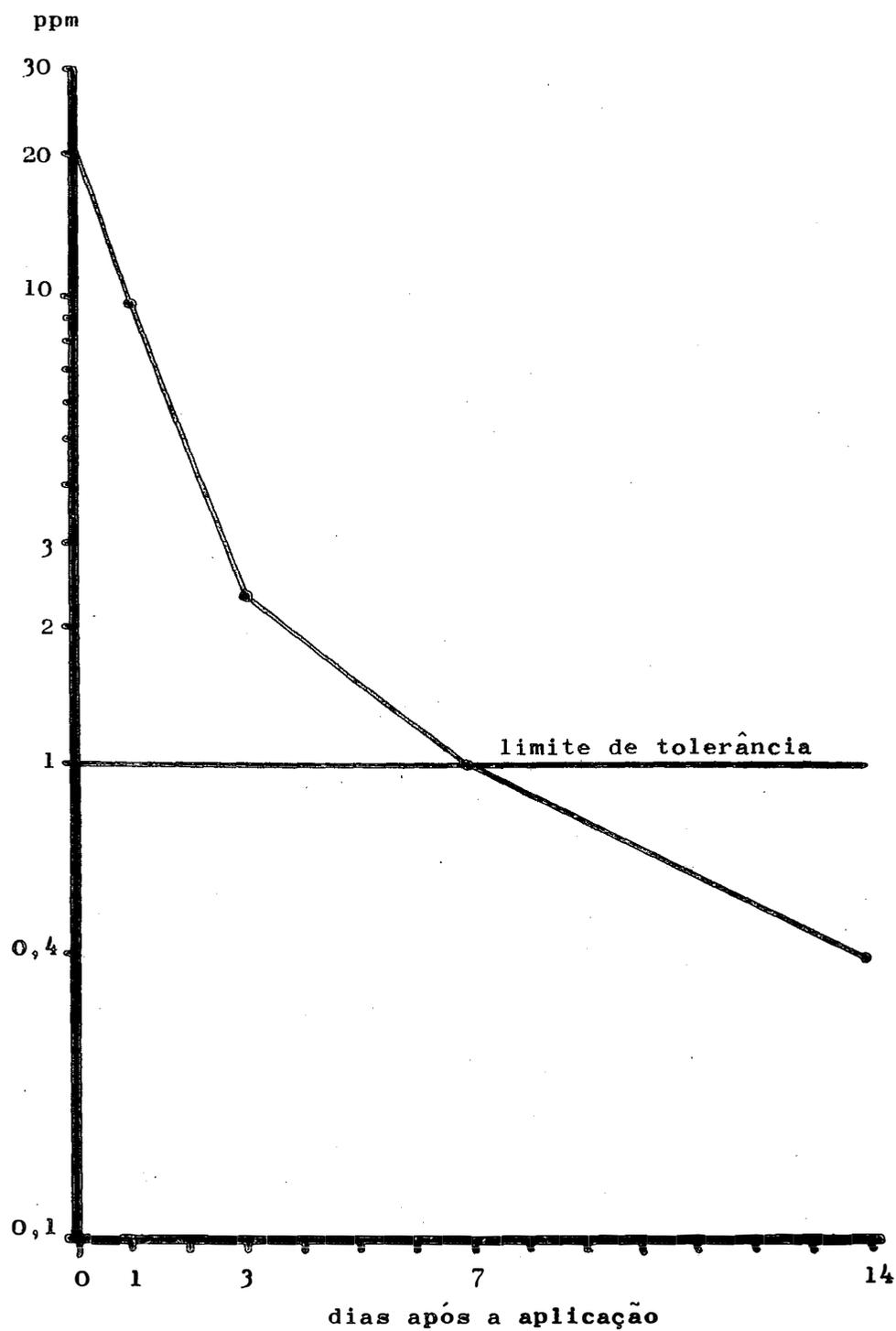


GRÁFICO 9 - Resíduos de paratiom étílico em alface.

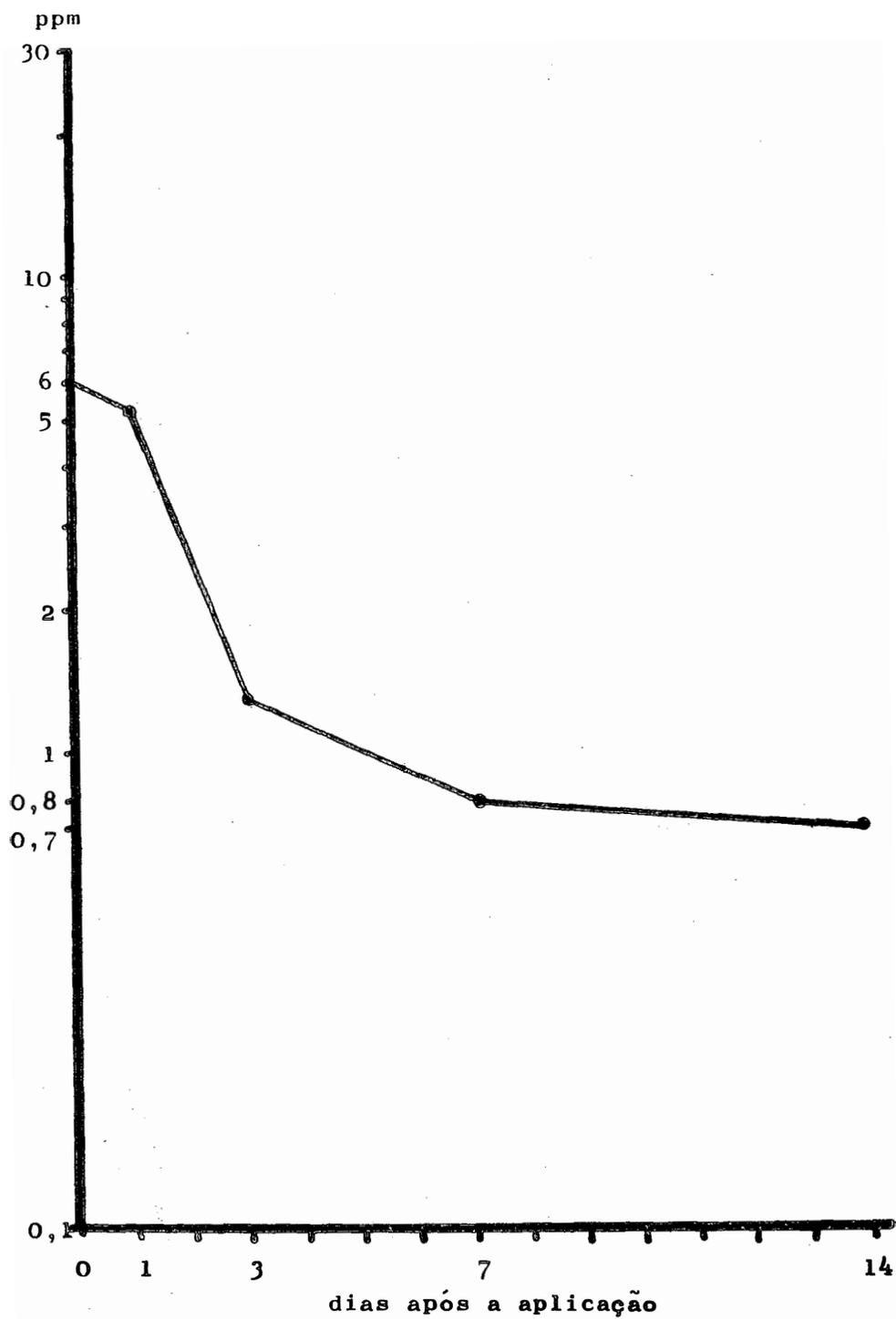


GRÁFICO 10 - Resíduos de fentoato em alface.

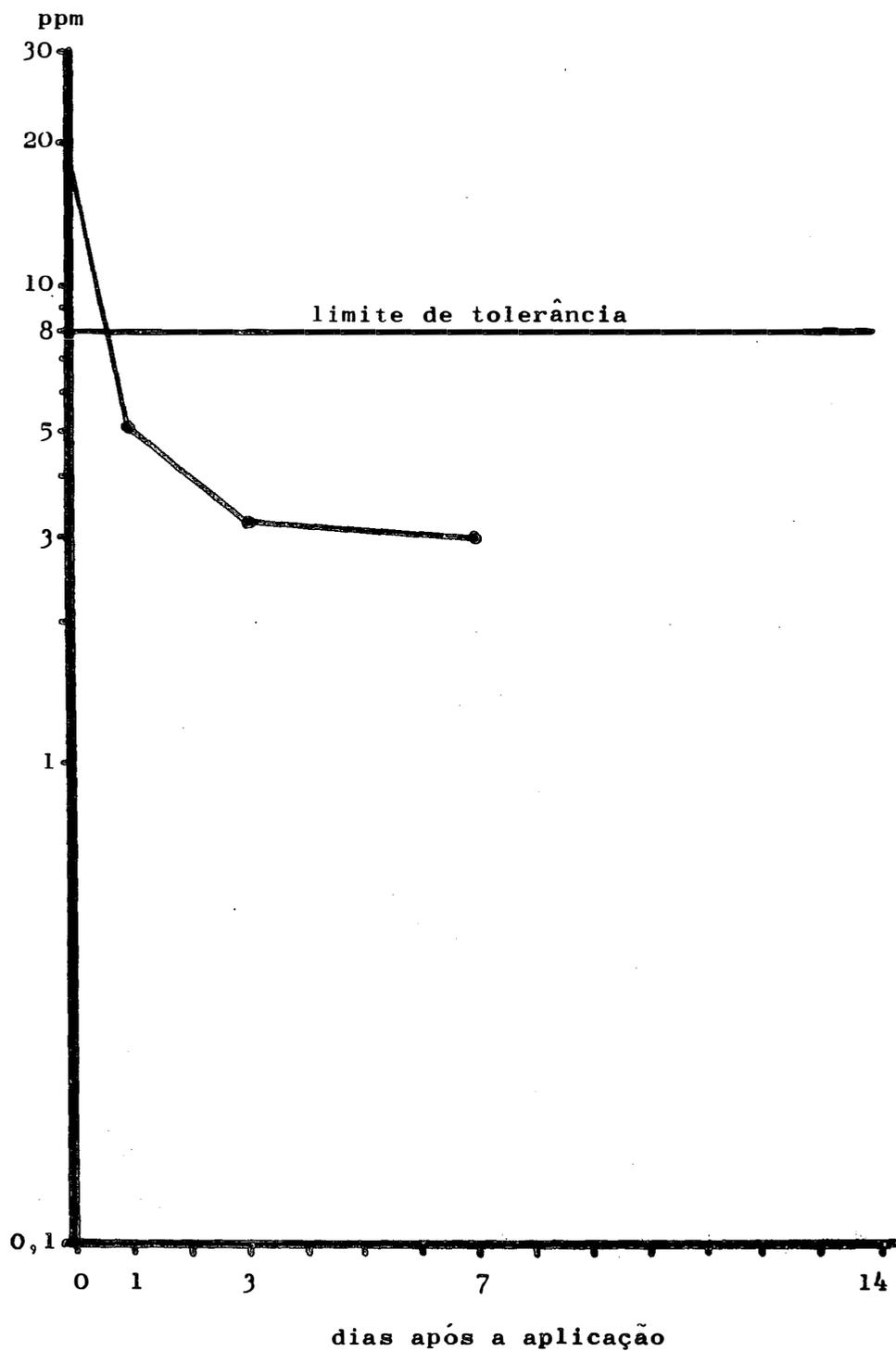


GRÁFICO 11 - Resíduos de malation em alface.

#### 4.3.2. Couve

Os resultados dos níveis de depósitos ou resíduos obtidos nas várias amostragens, acham-se coligidos nos QUADROS XVI a XX e o QUADRO XXI expressa esses valores de maneira sucinta.

Depósitos iniciais de diclorvos e mevinfos alcançaram 5,3 e 8,0 ppm, respectivamente. Aos 3 dias não foram detectados resíduos. Para o primeiro produto não é possível fixar-se intervalo de segurança, pelos motivos expostos na discussão do tóxico em alface. Desta maneira, as sugestões apresentadas naquela ocasião, são plenamente válidas na presente situação. Contudo, para mevinfos o limite de tolerância é fixado em 1 ppm. Assim, com base no crédito concedido por PIGATTI et al. (1967), COFFIN & MCKINLEY (1964), ATKINS et al. (1961) e GIANNOTTI et al. (1972), pode-se, com relativa segurança, utilizar a hortaliça a partir do 3º dia, embora não haja meios exatos de firmar-se o intervalo de segurança.

Paratiom metílico comportou-se de modo diferente em relação a alface, apresentando resíduos abaixo do limite de tolerância aos 3 e 7 dias e não sendo detectados no 14º dia, conforme mostra o Gráfico 12. HOELSCHER et al. (1968) obtiveram, em repolho, resíduos deste produto abaixo do limite de tolerância legal após 4 dias. Com apoio nas observações obtidas, é válido recomendar o consumo da hortaliça do 3º dia em diante, sem o perigo de intoxicações, contrariando as opiniões de GIANNOTTI et al. (1972).

O Gráfico 13 demonstra que níveis de paratiom etílico de cresceram de 4,5 ppm, logo após a aplicação, para 0,4 ppm na amostragem de 3 dias, assumindo comportamento idêntico ao tóxico anterior. Deste modo, é coerente adotar-se o mesmo período de carência. As in

investigações discordam com pesquisas de HOELSCHER et al. (1968) e KASTING & HARCOURT (1952), em repolho e couve-flor, respectivamente. No entanto, PIGATTI & AMARAL (1960) e LIPPOLD et al. (1967) encontraram resultados equivalentes em cogumelos crus e cozidos e em brócoli, respectivamente. O intervalo de segurança proposto não concorda com GIANNOTTI et al. (1972).

A persistência de fentoato foi similar em alface e couve. Na primeira hortaliça, os resíduos persistiram aos 14 dias e em couve, no 7º dia, não sendo detectados na próxima amostragem, conforme o Gráfico 14. Na falta do estabelecimento do limite de tolerância para o produto em questão, é impossível avaliar-se o intervalo de segurança.

Níveis tóxicos estimáveis de diazinom, superiores ao limite de tolerância persistiram até o 3º dia, atingindo valores não detectáveis nas outras amostragens. Consequentemente, adota-se as mesmas sugestões referidas na discussão do tóxico em alface, devido a impossibilidade de avaliar-se o período de carência.

Depósitos iniciais de malatium atingiram 18,3 e 10,6 ppm, mas no 3º dia os resíduos permaneceram abaixo do limite de tolerância (Gráfico 15). Com apoio nas observações e atentando-se para as indicações de GIANNOTTI et al. (1972), recomenda-se a colheita do vegetal a partir do 3º dia, sem acarretar a presença de resíduos prejudiciais.

QUADRO XVI - Couve - Depósitos dos inseticidas fosforados, logo após a última aplicação.

Tratamen- tos	diluição	nº de larvas mortas		Média	% de morta- lidade	ppm no copo (100 ml)	fator de correção	ppm na amostra	Média
		I	II						
A <sub>1</sub>	puro	13	14	13,5	67,5	0,08816	1,031	3,636	5,3
A <sub>2</sub>	1:2	13	2	7,5	37,5	0,06930	1,253	6,944	
B <sub>1</sub>	puro	- (*)	-	-	-	-	-	-	8,0
B <sub>2</sub>	1:2	13	2	7,5	37,5	0,08936	1,120	8,000	
C <sub>1</sub>	1:32	17	15	16,0	80,0	0,00817	0,695	7,270	11,0
C <sub>2</sub>	1:64	15	16	15,5	77,5	0,00784	0,716	14,362	
D <sub>1</sub>	1:8	5	2	3,5	17,5	0,01062	0,975	3,300	4,5
D <sub>2</sub>	1:8	18	17	17,5	87,5	0,01842	0,975	5,728	
E <sub>1</sub>	1:16	10	15	12,5	62,5	0,02179	0,840	11,712	9,1
E <sub>2</sub>	1:8	19	10	14,5	72,5	0,02508	0,810	6,496	
F <sub>1</sub>	1:4	11	9	10,0	50,0	0,22770	0,373	13,584	11,2
F <sub>2</sub>	1:4	4	2	3,0	15,0	0,14660	0,373	8,752	
G <sub>1</sub>	1:4	20	15	17,5	87,5	0,28200	0,438	19,680	18,3
G <sub>2</sub>	1:8	1	4	2,5	12,5	0,12220	0,431	16,832	

(\*) parcela perdida

QUADRO XVII - Couve - Depósitos dos inseticidas fosforados, 1 dia após a última aplicação.

Tratamen- tos	diluuição	nº de larvas mortas		Média	% de morta- lidade	ppm no copo (100 ml)	fator de correção	ppm na amostra	Média
		I	II						
A1	puro	17	16	16,5	82,5	0,10300	1,031	4,240	3,4
A2	puro	4	6	5,0	25,0	0,06203	1,031	2,556	
B1	puro	12	5	8,5	42,5	0,09340	1,130	4,200	4,2
B2	puro	4	13	8,5	42,5	0,09340	1,130	4,200	
C1	1:64	10	5	7,5	37,5	0,00467	0,716	8,550	7,6
C2	1:64	4	4	4,0	20,0	0,00364	0,716	6,656	
D1	1:4	11	7	9,0	45,0	0,01315	0,950	2,000	1,8
D2	1:4	5	2	3,5	17,5	0,01062	0,950	1,600	
E1	1:8	17	15	16,0	80,0	0,02835	0,810	7,360	6,2
E2	1:8	7	14	10,5	52,5	0,01916	0,810	4,960	
F1	puro	4	3	3,5	17,5	0,15300	0,540	3,300	3,3
F2	puro	5	2	3,5	17,5	0,15300	0,540	3,300	
G1	1:4	8	5	6,5	32,5	0,15740	0,438	11,020	10,6
G2	1:2	8	11	9,5	47,5	0,18140	0,704	10,240	

QUADRO XVIII - Couve - Resíduos dos inseticidas fosforados, 3 dias após a última aplicação.

Tratamentos	diluição	nº de larvas mortas		Média	% de mortalidade	ppm no copo (100 ml)	fator de correção	ppm na amostra	Média (ppm)
		I	II						
A <sub>1</sub>	puro	1	2	1,5	7,5	N.D	1,031	N.D	N.D
A <sub>2</sub>	puro	2	-	1,0	5,0	N.D	1,031	N.D	N.D
B <sub>1</sub>	puro	3	-	1,5	7,5	N.D	1,130	N.D	N.D
B <sub>2</sub>	puro	2	1	1,5	7,5	N.D	1,130	N.D	N.D
C <sub>1</sub>	1:2	12	16	14,0	70,0	0,007012	0,880	0,494	0,7
C <sub>2</sub>	1:4	16	6	11,0	55,0	0,00578	0,975	0,902	0,4
D <sub>1</sub>	puro	1	10	5,5	27,5	0,01161	1,009	0,468	0,6
D <sub>2</sub>	puro	2	2	2,0	10,0	0,00968	1,009	0,390	0,6
E <sub>1</sub>	puro	5	5	5,0	25,0	0,01325	0,912	0,484	0,6
E <sub>2</sub>	puro	16	10	13,0	65,0	0,02255	0,912	0,824	0,6
F <sub>1</sub>	puro	1	3	2,0	10,0	0,13210	0,540	2,8	2,8
F <sub>2</sub>	puro	2	2	2,0	10,0	0,13210	0,540	2,8	2,8
G <sub>1</sub>	puro	3	2	2,5	12,5	0,12220	0,652	3,188	3,0
G <sub>2</sub>	puro	2	2	2,0	10,0	0,11650	0,652	3,036	3,0

QUADRO XIX - Couve - Resíduos dos inseticidas fosforados, 7 dias após a última aplicação.

Tratamentos	diluição	nº de larvas mortas		Média	% de mortalidade	ppm no copo (100 ml)	fator de correção	ppm amostra	Média (ppm)
		I	II						
A <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D	N.D
A <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D	N.D
B <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D	N.D
B <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D	N.D
C <sub>1</sub>	puro	5	1	3,0	15,0	0,003307	1,061	0,140	0,1
C <sub>2</sub>	puro	2	4	3,0	15,0	0,003307	1,061	0,140	0,4
D <sub>1</sub>	puro	2	2	2,0	10,0	0,00968	1,009	0,390	0,4
D <sub>2</sub>	puro	3	1	2,0	10,0	0,00968	1,009	0,390	0,4
E <sub>1</sub>	puro	2	6	4,0	20,0	0,01215	0,912	0,4	0,4
E <sub>2</sub>	puro	7	1	4,0	20,0	0,01215	0,912	0,4	0,4
F <sub>1</sub>	puro	1	2	1,5	7,5	-	0,540	N.D	N.D
F <sub>2</sub>	puro	1	-	0,5	2,5	-	0,540	N.D	N.D
G <sub>1</sub>	puro	2	-	1,0	5,0	-	0,652	N.D	N.D
G <sub>2</sub>	puro	2	1	1,5	7,5	-	0,652	N.D	N.D

QUADRO XX - Couve - Resíduos dos inseticidas fosforados, 14 dias após a última aplicação.

Tratamentos	diluição	nº de larvas mortas		Média	% de mortalidade	ppm no copo (100 ml)	fator de correção amostra	Média na
		I	II					
A <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D
A <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D
B <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D
B <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D
C <sub>1</sub>	puro	-	-	-	-	N.D	1,061	N.D
C <sub>2</sub>	puro	-	-	-	-	N.D	1,061	N.D
D <sub>1</sub>	puro	1	1	0,5	2,5	N.D	1,009	N.D
D <sub>2</sub>	puro	1	2	1,0	5,0	N.D	1,009	N.D
E <sub>1</sub>	puro	2	-	1,0	5,0	N.D	0,912	N.D
E <sub>2</sub>	puro	-	-	-	-	N.D	0,912	N.D
F <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D
F <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D
G <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D
G <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D

QUADRO XXI - Couve - Resíduos dos inseticidas

Tratamentos	Resíduos, ppm				
	Intervalos a partir da última aplicação				
	logo após	1 dia	3 dias	7 dias	14 dias
diclorvos	5,3	3,4	N.D	N.D	N.D
mevinfos	8,0	4,2	N.D	N.D	N.D
paratiom <u>me</u>					
tílico	11,0	7,6	0,7	0,1	N.D
paratiom <u>eti</u>					
lico	4,5	1,8	0,4	0,4	N.D
fentoato	9,1	6,2	0,6	0,4	N.D
diazinom	11,2	3,3	2,8	N.D	N.D
malatiom	18,3	10,6	3,0	N.D	N.D

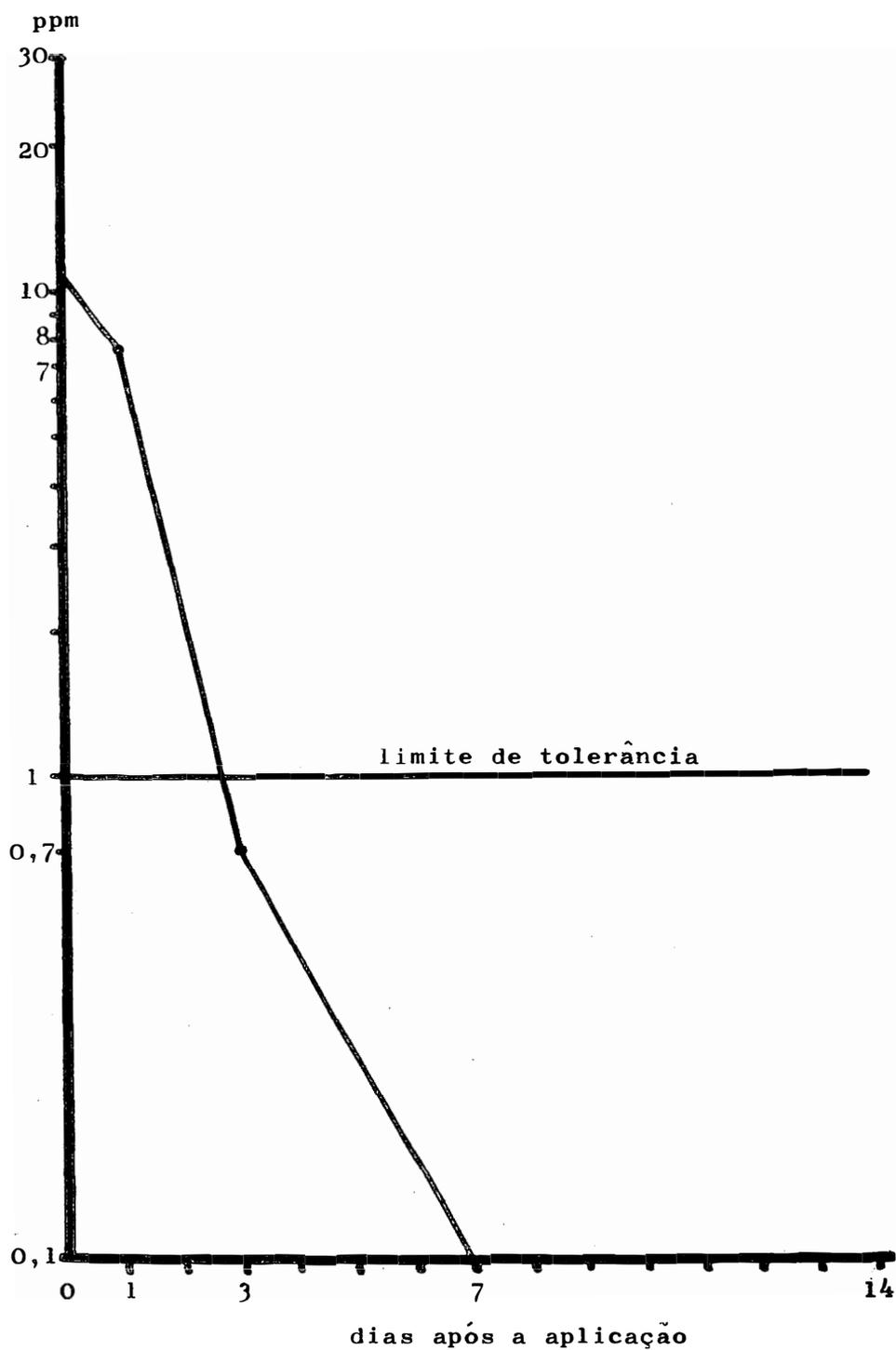


GRÁFICO 12 - Resíduos de paratíon metílico em couve.

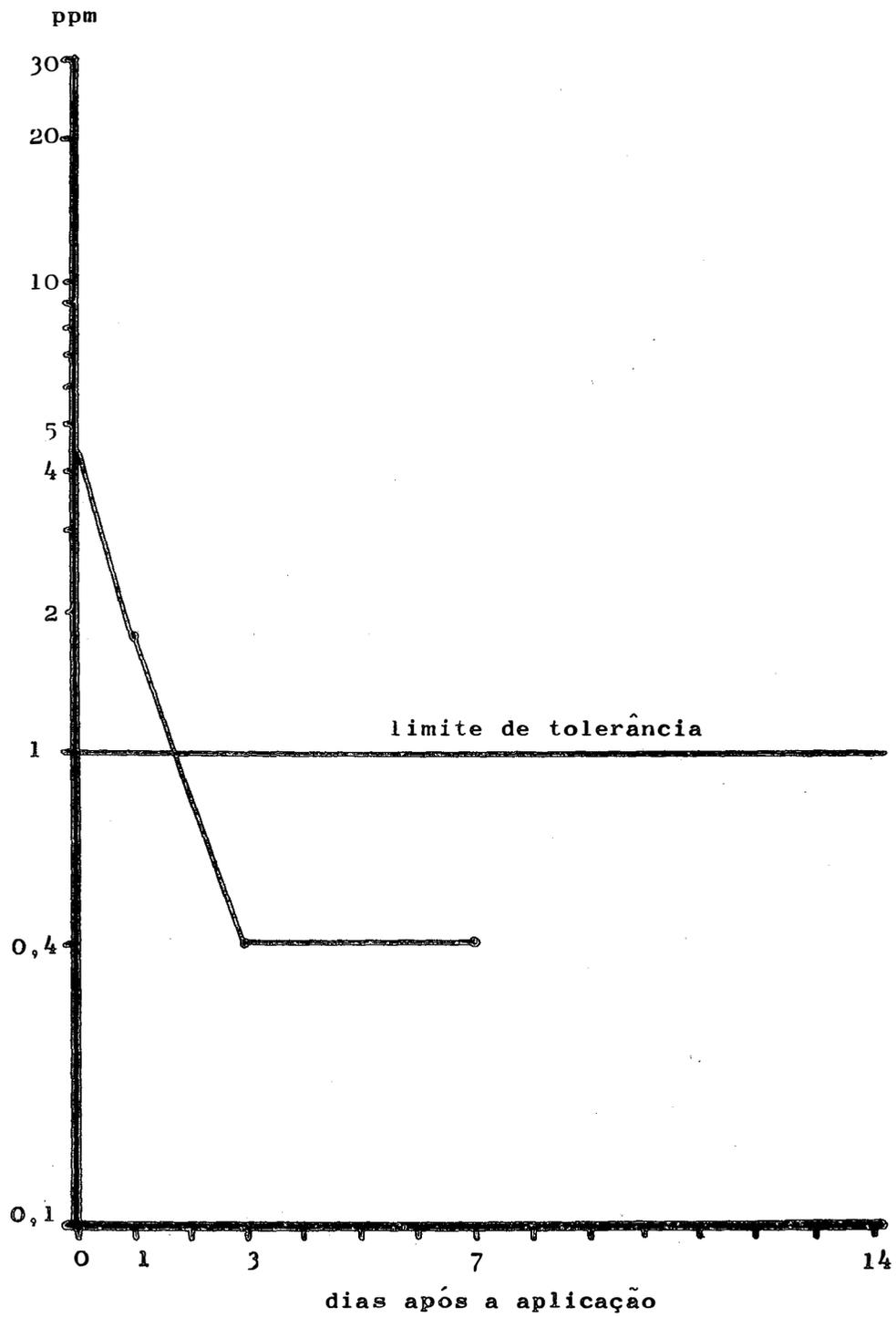


GRÁFICO 13 - Resíduos de paratíom etílico em couve.

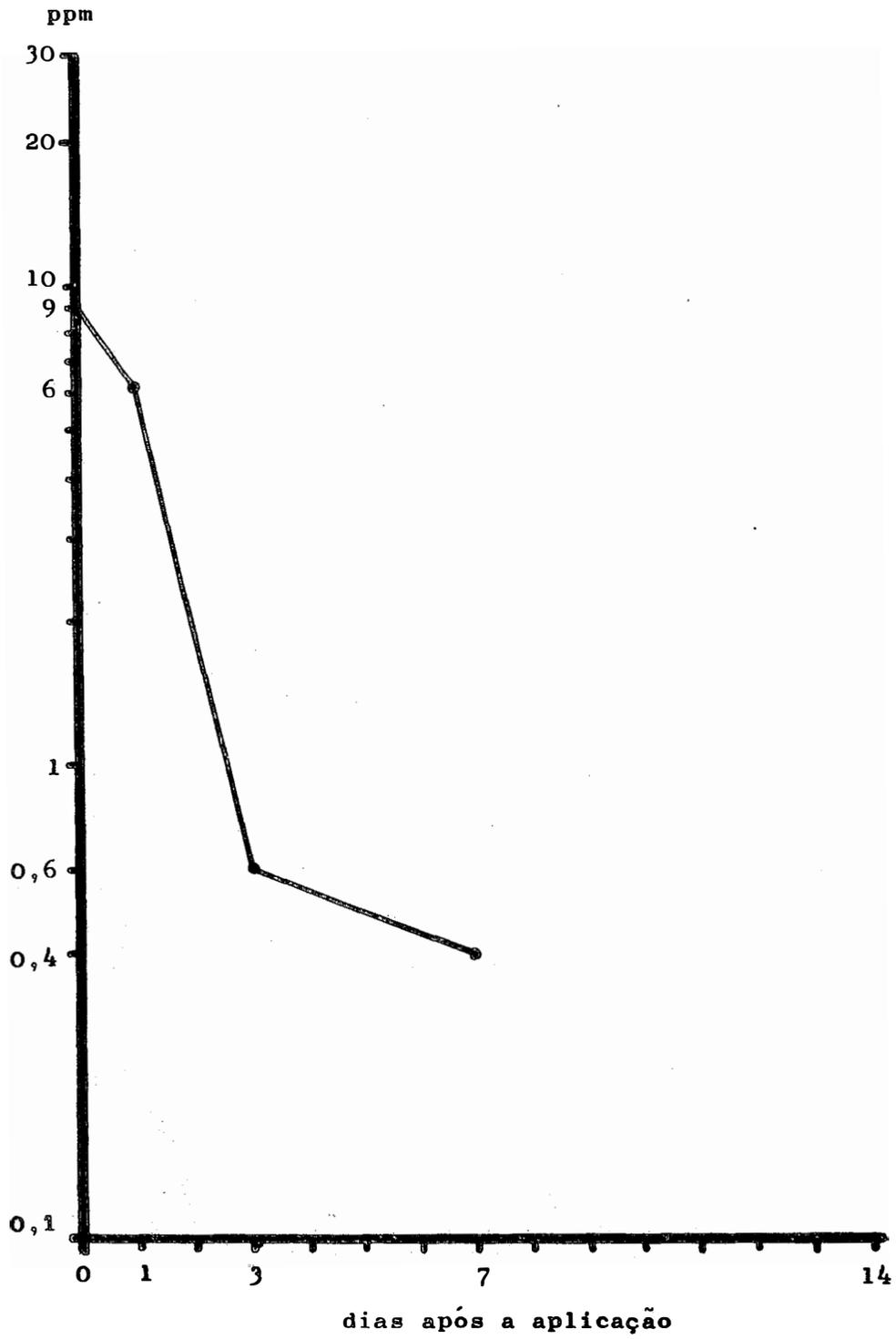


GRÁFICO 14 - Resíduos de fungoato em couve.

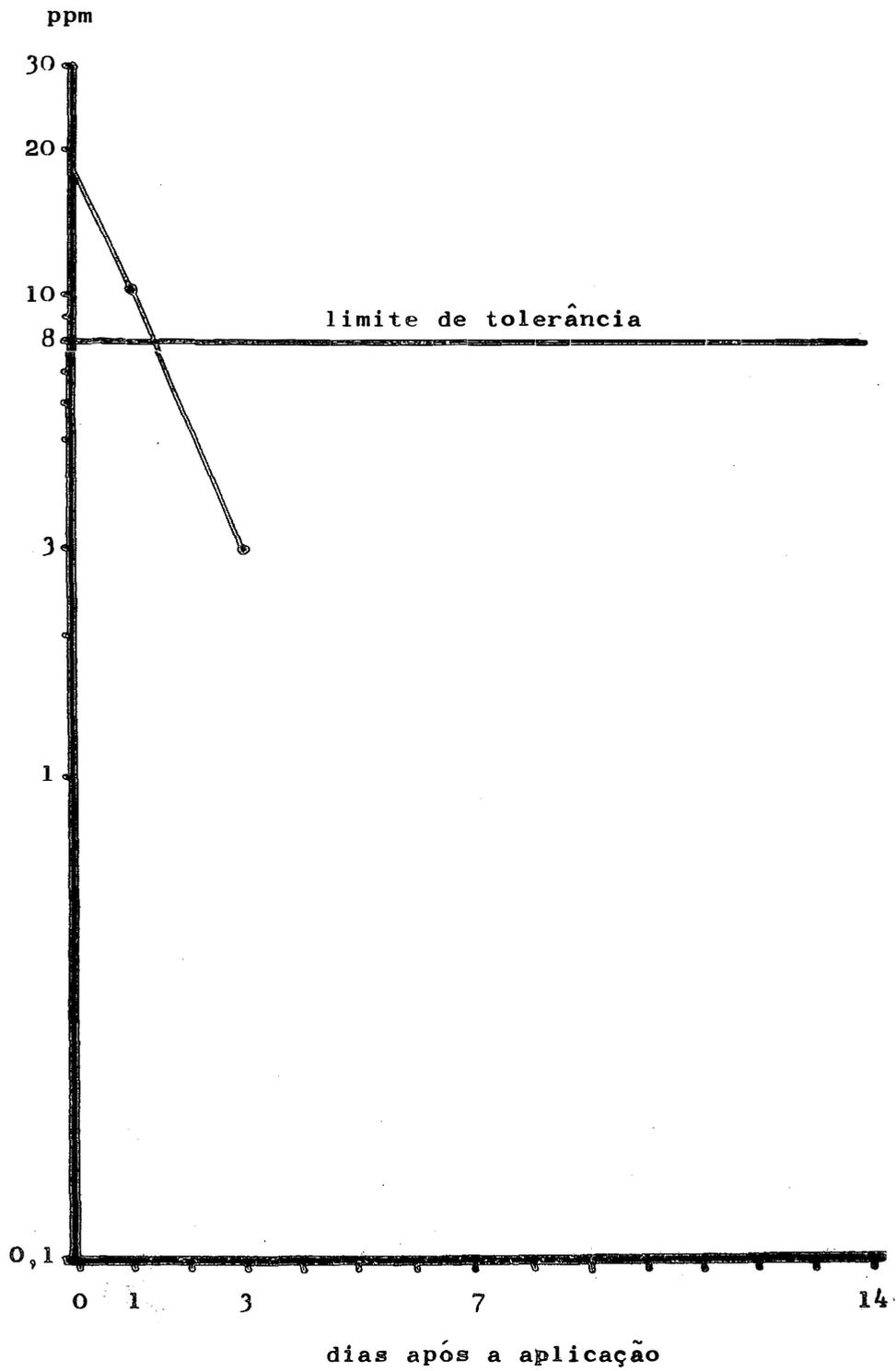


GRÁFICO 15 - Resíduos de malatiom em couve.

#### 4.3.3. Almeirão

Trata-se de uma hortaliça muito pouco estudada sob o ponto de vista da aplicação de inseticidas e sua persistência residual, tanto que, na literatura pesquisada não se deparou com nenhuma informação.

Os valores dos depósitos ou resíduos nas amostragens efetuadas, encontram-se representados nos QUADROS XXII a XXV e no QUADRO XXVI estes resultados apresentam-se de forma sumária.

Diclorvos acusou resíduos detectáveis na amostragem de 1 dia, semelhante ao ocorrido em couve. Conforme já foi mencionado, a ausência do limite de tolerância para o produto, impede a avaliação do intervalo de segurança, sendo válidas para a cultura em questão, as opiniões emitidas em alface.

Para mevinfos, devido a existência do limite de tolerância que é de 1 ppm, por analogia com os resultados experimentais mencionados em couve, e de acordo com as observações apresentadas, é recomendável a colheita do vegetal desde o 3º dia, estando de conformidade com GIANNOTTI et al. (1972). Todavia, cabe também, indicar uma limpeza de extrato, possibilitando a colocação nos copos de uma maior quantidade de materiais extraídos, bem como o uso de larvas do 2º ou 3º instares, a fim de incrementar-se a precisão dos resultados.

Paratiom metílico mostrou depósitos relativamente altos, nas 3 hortaliças, porém, em almeirão aos 3 dias, os resíduos estavam um pouco acima do limite de tolerância (Gráfico 16). Com alguma segurança, mas sem meios de comprovação experimental, sugere-se a colheita do vegetal próxima a uma semana, pois os resíduos que porventura permaneçam naquele período, estariam muito abaixo deste limi

te, não causando efeitos prejudiciais. Provavelmente, uma limpeza de extrato provocaria a detecção de níveis do tóxico aos 7 e 14 dias, fornecendo uma indicação precisa do período de carência. Os dados observados não podem ser corroborados com as opiniões de GIANNOTTI et al. (1972).

Paratiom etílico demonstrou, de modo similar em couve, resíduos detectáveis abaixo do limite de tolerância no 3º dia, evidenciados no Gráfico 17, diferindo de alface, cujo nível tolerável estabeleceu-se com 1 semana. De acordo com as condições do ensaio, a partir do 3º dia, os resíduos presentes não comprometeriam a saúde dos consumidores, contrariando as sugestões de GIANNOTTI et al. (1972).

Nas hortaliças estudadas, fentoado degradou-se mais rapidamente em almeirão, atingindo 0,6 ppm no 3º dia (Gráfico 18). Conforme afirmações anteriores na discussão do tóxico em alface, é impraticável a fixação do período de carência.

Diazinon forneceu resíduos tóxicos superiores ao limite de tolerância no 3º dia, também em almeirão, de modo que, nesta situação, não há meios de estabelecer-se intervalo de segurança, conforme evidências anteriores, cabendo também, no caso em questão, as sugestões apresentadas.

Malatiom, apenas em couve persistiu em nível superior ao limite de tolerância na amostragem de 1 dia. Em alface e almeirão, na mesma época, apresentou-se abaixo deste limite, de acordo com os Gráficos 11 e 19, respectivamente. Voltando-se, no entanto, para as observações é recomendável a colheita da hortaliça em estudo, 1 dia após a aplicação, sem o risco de intoxicações, concordando com GIANNOTTI et al. (1972).

A pesquisa no campo de resíduos de defensivos agrícolas

é, sumamente complexa, envolvendo problemas dos mais variados, às vezes de difíceis soluções. A evidência é demonstrada pela enorme diversidade de resultados encontrados na literatura, mesmo em se tratando do mesmo produto, método e cultura. Técnicas de extração, uso de solventes inadequados, limpeza de extrato, sensibilidade do método, quantidade do tóxico empregada, condições climáticas, estágio da planta, condições experimentais, além de uma gama de fatores não detectáveis, contribuem na modificação do panorama das investigações. Os tóxicos sofrem influência de inúmeros fatores nas áreas ecológicas em que atuam, daí a necessidade do incremento de pesquisas em diversos locais, visando estudar o comportamento dos produtos em culturas, principalmente, alimentícias, para efeitos comparativos, a fim de evitar-se extrapolações mal conduzidas.

A simplicidade do método analítico já foi, por demais, repisada em parágrafos anteriores. Entretanto, carece de algumas sugestões que se julgam de grande valia:

- a) utilizar-se, sempre que possível, limpeza de extrato;
- b) emprego de larvas do 2º ou 3º ínstares, com o intuito de incrementar-se a sensibilidade do método.

Sem o desconhecimento de outros métodos analíticos mais sofisticados e sensíveis, acredita-se que, a bio-análise ainda continuará por muito tempo, prestando incontestável contribuição na toxicologia dos defensivos.



QUADRO XXIII - Almeirão - Depósitos dos inseticidas fosforados, 1 dia após a última aplicação.

Tratamentos	diluuição	nº de larvas mortas		Média	% de mortalidade	ppm no copo (100 ml)	fator de correção amostra	ppm na Média
		I	II					
A <sub>1</sub>	puro	2	2	2,0	10,0	0,05325	0,876	1,864
A <sub>2</sub>	puro	2	2	2,0	10,0	0,05325	0,876	1,864
B <sub>1</sub>	puro	5	6	5,5	27,5	0,08127	0,978	3,180
B <sub>2</sub>	puro	5	4	4,5	22,5	0,07705	0,978	2,840
C <sub>1</sub>	1:64	6	11	8,5	42,5	0,00497	0,820	10,444
C <sub>2</sub>	1:64	4	1	2,5	12,5	0,00313	0,820	6,579
D <sub>1</sub>	1:8	8	7	7,5	37,5	0,01250	0,921	3,680
D <sub>2</sub>	1:8	11	11	11,0	55,0	0,01405	0,921	4,128
E <sub>1</sub>	1:8	14	16	15,0	75,0	0,02606	0,851	7,072
E <sub>2</sub>	1:8	5	12	8,5	42,5	0,01687	0,851	4,576
F <sub>1</sub>	puro	15	18	16,5	82,5	0,33870	0,563	7,640
F <sub>2</sub>	puro	17	2	9,5	47,5	0,22640	0,563	5,080
G <sub>1</sub>	1:2	16	4	10,0	50,0	0,18560	0,477	6,840
G <sub>2</sub>	1:2	11	10	10,5	52,5	0,18990	0,477	7,248

QUADRO XXIV - Almeirão - Resíduos dos inseticidas fosforados, 3 dias após a última aplicação.

Tratamen- tos	diluição	nº de larvas mortas		Média	% de morta- lidade	ppm no copo (100 ml)	fator de correção	de ppm amostra	na Média
		I	II						
A <sub>1</sub>	puro	2	1	1,5	7,5	N.D	0,876	N.D	N.D
A <sub>2</sub>	puro	1	-	0,5	2,5	N.D	0,876	N.D	N.D
B <sub>1</sub>	puro	1	-	0,5	2,5	N.D	0,978	N.D	N.D
B <sub>2</sub>	puro	1	1	1,0	5,0	N.D	0,978	N.D	N.D
C <sub>1</sub>	1:8	15	17	16,0	80,0	0,00817	0,880	2,300	1,6
C <sub>2</sub>	1:8	2	2	2,0	10,0	0,00294	0,880	0,826	0,6
D <sub>1</sub>	puro	7	7	7,0	35,0	0,01228	1,022	0,500	0,6
D <sub>2</sub>	puro	17	17	17,0	85,0	0,01787	1,022	0,732	0,6
E <sub>1</sub>	puro	14	4	9,0	45,0	0,01741	0,810	0,564	0,6
E <sub>2</sub>	puro	15	7	11,0	55,0	0,01977	0,810	0,640	0,6
F <sub>1</sub>	puro	2	2	2,0	10,0	0,13210	0,563	2,976	3,0
F <sub>2</sub>	puro	3	2	2,5	12,5	0,13970	0,563	3,144	3,0
G <sub>1</sub>	1:2	7	5	6,0	30,0	0,15340	0,477	5,856	5,5
G <sub>2</sub>	1:2	6	2	4,0	20,0	0,13670	0,477	5,216	5,5

QUADRO XXV - Almeirão - Resíduos dos inseticidas fosforados, 7 dias após a última aplicação.

Tratamentos	diluição	nº de larvas mortas		Média	% de mortalidade	ppm no copo (100 ml)	fator de correção amostra	ppm na amostra	Média (ppm)
		I	II						
A1	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D	N.D
A2	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D	N.D
B1	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D	N.D
B2	-	-	-	-	-	N.D	-	N.D	N.D
C1	puro	2	1	1,5	7,5	N.D	0,960	N.D	N.D
C2	puro	1	1	1,0	5,0	N.D	0,960	N.D	N.D
D1	puro	2	1	1,5	7,5	N.D	1,022	N.D	N.D
D2	puro	1	1	1,0	5,0	N.D	1,022	N.D	N.D
E1	puro	1	1	1,0	5,0	N.D	0,810	N.D	N.D
E2	puro	2	-	1,0	5,0	N.D	0,810	N.D	N.D
F1	puro	2	1	1,5	7,5	N.D	0,563	N.D	N.D
F2	puro	2	-	1,0	5,0	N.D	0,563	N.D	N.D
G1	puro	2	6	4,0	20,0	0,13670	0,620	3,380	3,4
G2	puro	5	3	4,0	20,0	0,13670	0,620	3,380	3,4

QUADRO XXVI - Almeirão - Resíduos dos inseticidas

Tratamentos	Resíduos, ppm				
	Intervalos a partir da última aplicação				
	logo após	1 dia	3 dias	7 dias	14 dias
diclorvos	6,9	1,9	N.D	N.D	N.D
mevinfos	3,2	3,1	N.D	N.D	N.D
paratiom me					
tílico	27,8	8,5	1,6	N.D	N.D
paratiom eti					
lico	7,5	3,9	0,6	N.D	N.D
fentoato	15,0	5,8	0,6	N.D	N.D
diazinom	22,3	6,4	3,0	N.D	N.D
malatiom	24,0	7,0	5,5	3,4	N.D

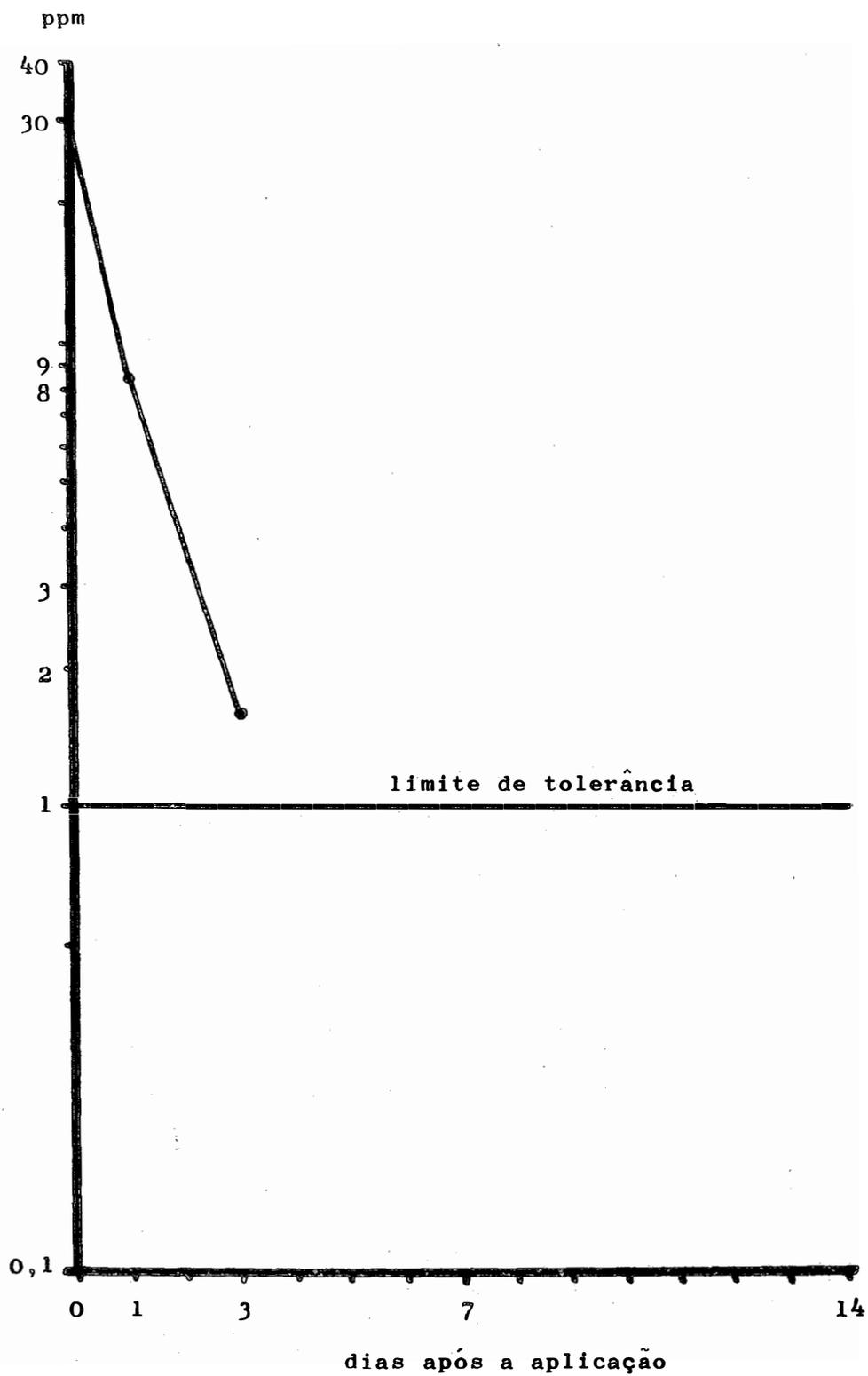


GRÁFICO 16 - Resíduos de paratíon metílico em almeirão.

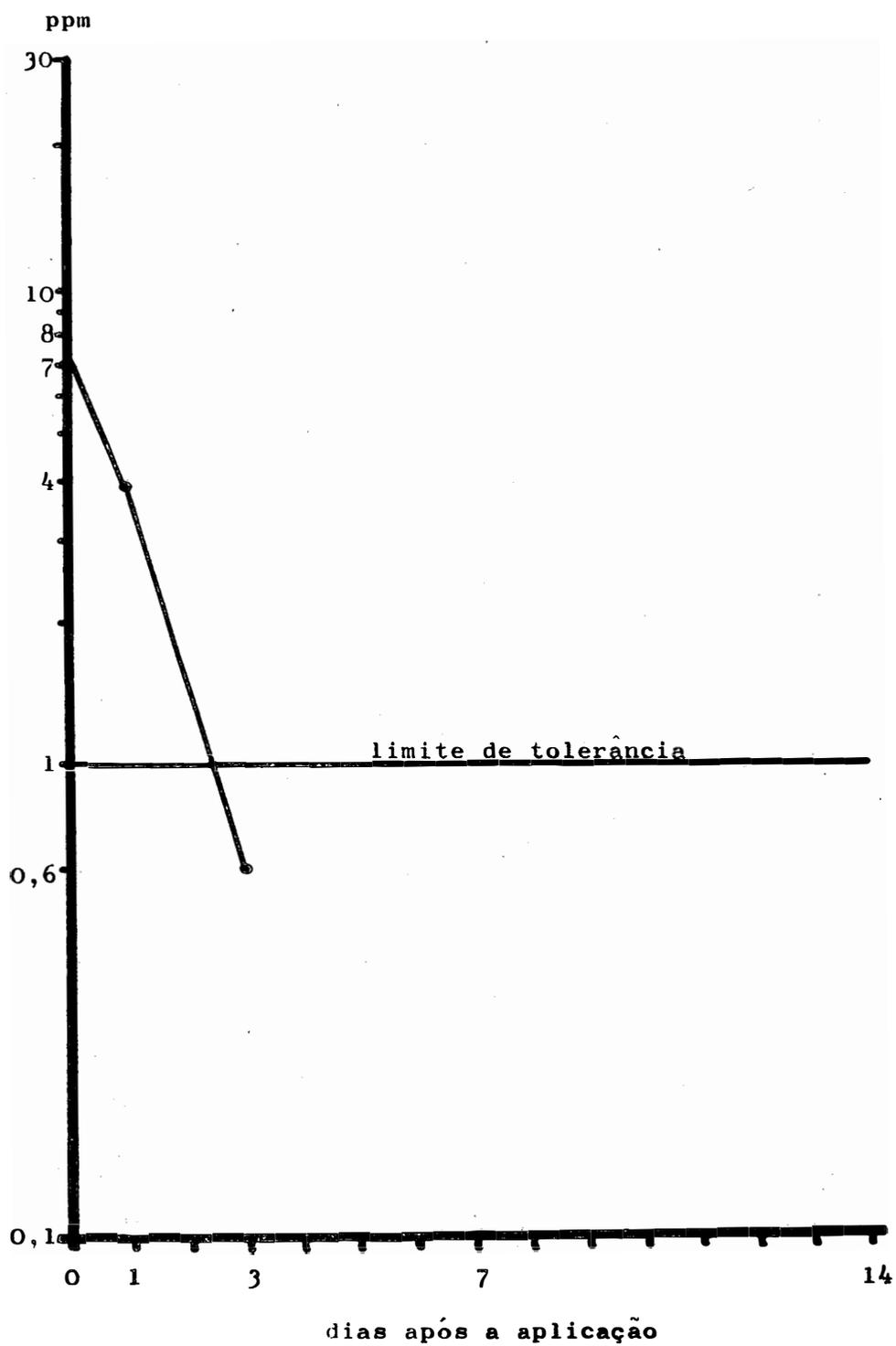


GRÁFICO 17 - Resíduos de paratíom etílico em almeirão.

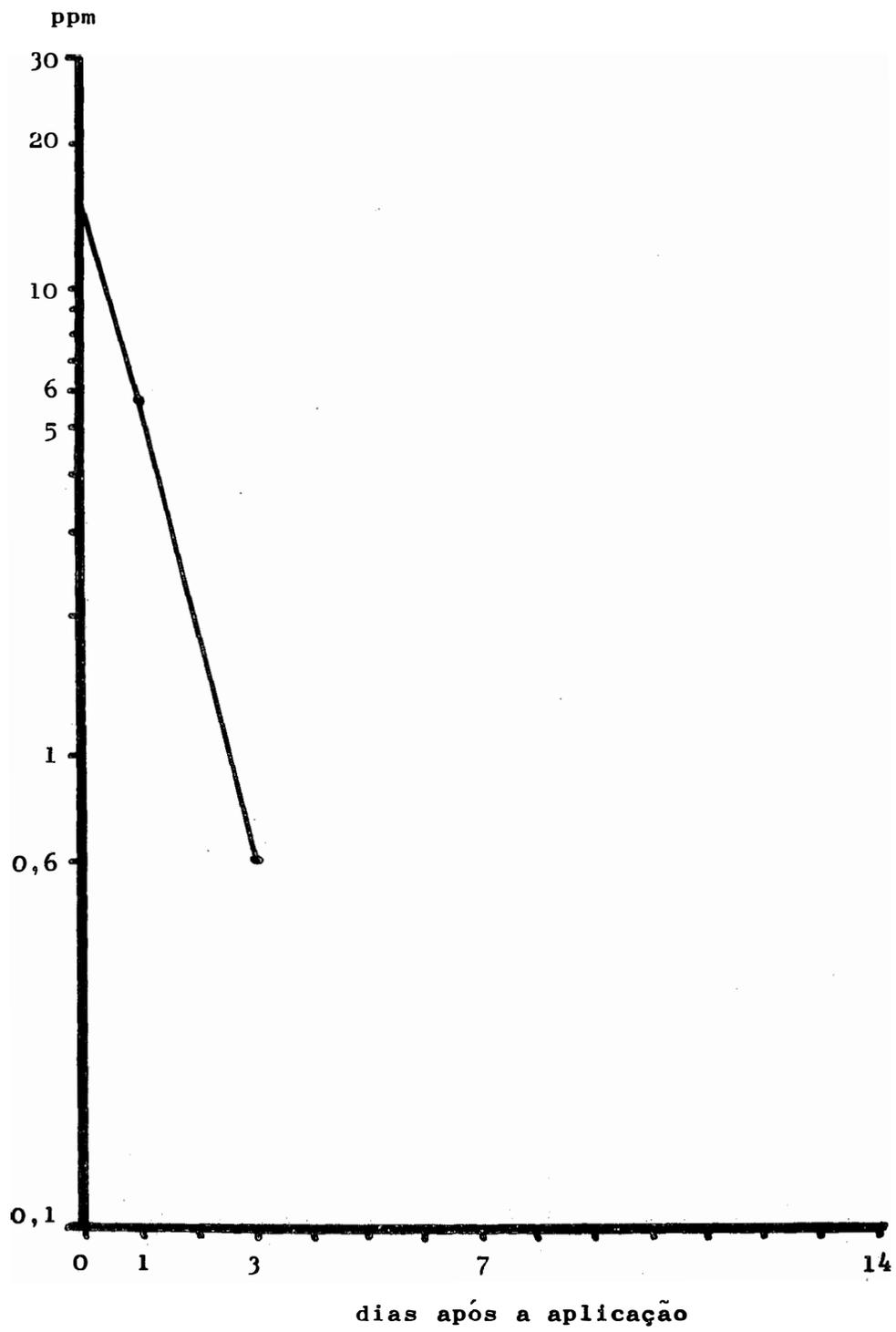


GRÁFICO 18 - Resíduos de fentoato em almeirão.

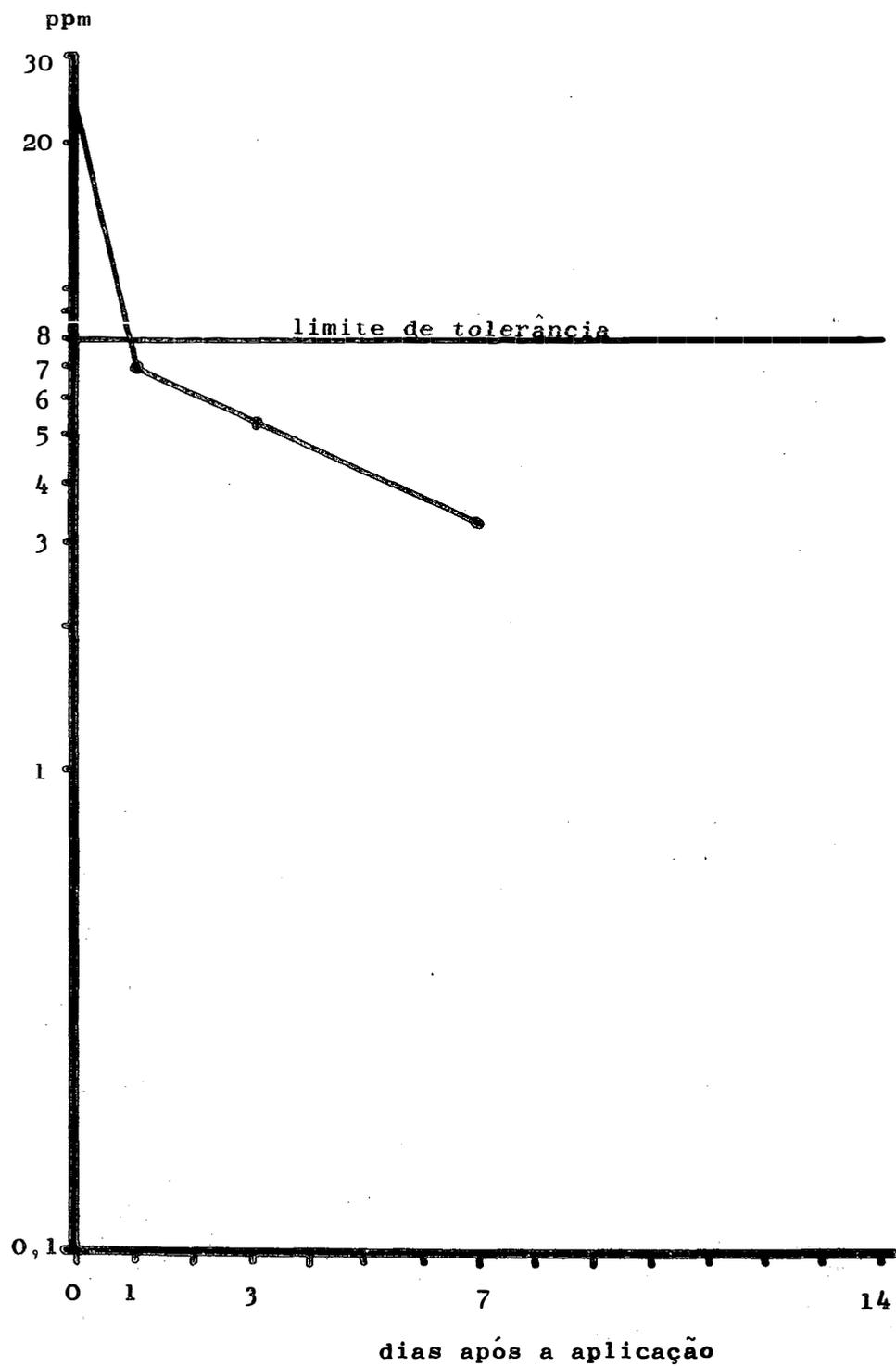


GRÁFICO 19 - Resíduos de malatíom em almeirão.

#### 4.4. Fatores de correção

Os fatores de correção estabelecidos no cálculo dos depósitos ou resíduos de inseticidas fosforados, em culturas de alface, couve e almeirão, encontram-se representados nos QUADROS X a XIV, XVI a XX e XXII a XXV, respectivamente. Conforme se pode aquilatar, para cada nível de diluição dos extratos obteve-se um fator, inclusive nos casos em que as diluições foram dispensadas, a fim de ser posta a prova a validade do método.

Nas circunstâncias experimentais, hipoteca-se que o método em referência é bastante válido, já que foi possível comparações entre as respostas do organismo-teste nas amostras analisadas com uma série de testemunhas, submetidas a níveis tóxicos conhecidos e em igualdade de condições, pela obtenção de valores de mortalidade, dentro dos limites considerados aceitáveis para fins analíticos.

Em algumas observações pôde-se conjecturar sobre a existência provável de efeitos sinérgicos. Neste caso, após a técnica de análise, teores de inseticidas em torno da concentração letal 50% conduziam a mortalidades superiores às quantidades dos tóxicos, teoricamente esperadas, colocadas nos copos. Atentando-se para os quadros mencionados, enquadraram-se na presente situação, os inseticidas diazinom e malation nas 3 hortaliças estudadas. O fato é perfeitamente compreensível, observando-se a fórmula adotada no cálculo dos fatores de correção (item 3.5.), pois se a recuperação do tóxico inicialmente fornecido nos copos for bastante superior ao valor teórico esperado, logicamente, o fator de correção se afastará em muito da unidade. Naturalmente, os efeitos mencionados não passam de suposições aventadas, já que não houve comprovação experimental, sem invalidar, no entanto, a ação de outros fatores.

## 5. CONCLUSÕES

A análise dos resultados obtidos, nas condições em que as investigações foram realizadas, permite concluir que:

- a) As larvas do 4º instar de A.aegypti mostram-se bastante sensíveis aos inseticidas fosforados empregados, com valores  $LC_{50}$ , que variam de 0,0054 a 0,227 ppm;
- b) a população de larvas do A.aegypti testada com a idade referida, responde rapidamente a valores crescentes dos inseticidas estudados, variando de  $83^{\circ}27'$  a  $77^{\circ}40'$  os valores dos ângulos formados pelas retas de regressão e o eixo das abcissas;
- c) amostras de 50 g das hortaliças analisadas e volume de 0,5 ml dos materiais co-extraídos não causam interferência nos resultados do método biológico adotado;
- d) considera-se válido o método estudado, porque possibilita estabelecer-se comparações entre as respostas fisiológicas dos insetos submetidos a amostras tratadas com os defensivos usados e testemunhas sob a influência dos tóxicos em concentrações conhecidas, nas mesmas condições experimentais;
- e) em alface, o método permite avaliar intervalos de segurança para paratiom etílico, malatiom; contudo, em relação a mevinfos, paratiom metílico e diazinom, é

necessária a técnica de limpeza do extrato. Para diclorvos, dependendo do futuro estabelecimento do limite de tolerância, a bio-análise em apreço, não parece ser indicada na estimativa dos seus resíduos, a menos que se proceda a uma limpeza do extrato. Com fentoato, o método revela-se eficiente para o cálculo dos níveis residuais, sem exigir limpeza do extrato, embora não exista limite de tolerância regulado por lei;

- f) o método biológico em referência, consegue determinar períodos de carência para paratiom metílico, paratiom etílico e malatiom, em plantas de couve; no entanto, esta operação é essencial para maior precisão de cálculo dos resíduos de diclorvos, mevinfos, fentoato e diazinom;
- g) em almeirão, o mesmo método analítico apresenta-se preciso apenas no estabelecimento de períodos de carência no tocante a paratiom etílico e malatiom. A persistência residual de diclorvos, mevinfos, fentoato, paratiom metílico e diazinom é melhor investigada com limpeza do extrato.

## 6. RESUMO

A presente investigação trata do estudo da suscetibilidade de larvas do 4º ínstar de A.aegypti a inseticidas organo-fosforados e determinação dos seus depósitos ou resíduos em plantas de alface, couve e almeirão.

Inicialmente, preparou-se soluções-padrão dos inseticidas técnicos, diclorvos, mevinfos, paratiom metílico, paratiom etílico, fentoato, diazinom e malatiom em acetona destilada, diluindo-as, a seguir, no mesmo solvente, a fim de obter-se concentrações variáveis e conhecidas destes produtos. Posteriormente, submetia-se 20 larvas da população experimental a níveis crescentes dos inseticidas, em soluções aquosas de 100 ml, aproximadamente. Adotou-se o critério de mortalidade na avaliação da resposta fisiológica do organismo. A partir das percentagens de mortalidade obtidas, após 24 horas, traçou-se as curvas dosagem x mortalidade, através de regressão linear, conforme BLISS (1953). A toxicidade dos inseticidas para o organismo estudado, baseou-se nos valores  $LC_{50}$ , obedecendo a seguinte ordem decrescente: paratiom metílico, paratiom etílico, fentoato, diclorvos, mevinfos, malatiom e diazinom.

Em plantas de alface, couve e almeirão, pertencentes às variedades Babá, Manteiga e Folha Larga, respectivamente, procedeu-se 3 pulverizações, espaçadas de 7 dias, 25 dias antes da colheita, em Piracicaba-São Paulo, Brasil. Utilizou-se 7 tratamentos e 2 repetições, em conformidade ao delineamento experimental inteiramente casualizado. Empregou-se os seguintes inseticidas, com as quantidades

tóxicas expressas em p.a/ha, para cada aplicação:

a) diclorvos	C.E.	100%	2.550 ml
b) mevinfos	S.C.	25%	1.220 ml
c) paratiom metílico	C.E.	60%	1.430 ml
d) paratiom etílico	C.E.	60%	820 ml
e) fentoato	C.E.	50%	3.060 ml
f) diazinom	P.M.	40%	1.770 g
g) malatiom	C.E.	50%	3.740 ml

Avaliou-se níveis de depósitos ou resíduos em amostras de 50 g de folhas, colhidas logo em seguida ao último tratamento e com 1 dia, 3, 7 e 14 dias depois. O método analítico adotado, baseou-se na técnica proposta por LAUG (1946), com algumas modificações. Estudos da influência de materiais co-extraídos e cálculo dos fatores de correção foram efetuados com amostras-testemunha, coletadas de canteiros separados.

Nas condições do ensaio, a bio-análise em referência de terminou os intervalos de segurança, a seguir:

a) alface - 1 e 7 dias, respectivamente, para malatiom e paratiom etílico;

b) couve - 3 dias, respectivamente, para malatiom, para tiom metílico e paratiom etílico;

c) almeirão - 1 e 3 dias, respectivamente, para mala tiom e paratiom etílico.

Nos casos de paratiom metílico em alface e almeirão, mevinfos e diazinom nas três hortaliças, será necessária limpeza dos extratos para o emprego conveniente deste ou de outro método biológico, a fim de se estabelecer períodos de carência precisos.

Para diclorvos e fentoato, dada a inexistência de limi  
tes de tolerância reconhecidos pelas leis brasileiras, não se pôde  
estabelecer estes intervalos de segurança. Entretanto, o método ana  
lítico revelou-se satisfatório para análises de resíduos de fentoato  
nas três hortaliças emprega

## 7. SUMMARY

The present research deals with the study of susceptibility of 4<sup>th</sup> instar A.aegypti larvae to organic-phosphate insecticides and determination of their deposits or residues on the foliage of lettuce, kale and wild chicory.

Initially, standard solutions of technical insecticides dichlorvos, mevinphos, methyl parathion, ethyl parathion, phenthoate, diazinon and malathion were prepared in diluted acetone. Then, these solutions were diluted in the same solvent in order to obtain variable and pre-determined concentrations of these products. Subsequently, 20 larvae of the experimental population were submitted to increasing levels of the insecticides, in aqueous solutions at 100 ml, approximately. The criterion of mortality was adopted in the evaluation of the physiological response of the organism. The dosage x mortality curves were drawn from the percentages of mortality obtained after 24 hours, through linear regression as in BLISS (1953). The toxicity of the insecticides for the organism studied was based on the values  $LC_{50}$ , in decreasing order: methyl parathion, ethyl parathion, phenthoate, dichlorvos, mevinphos, malathion and diazinon.

Three spray applications, spaced at 7-day intervals, 25 days before harvest, were conducted on the foliage of lettuce, kale, and wild chicory (Babá, Manteiga and Folha Larga varieties, respectively) in Piracicaba, São Paulo, Brazil. Seven treatments and 2 repetitions were utilized, according to experimental delineation, entirely randomized. The following insecticides, with toxic quantities expressed in active ingredient/ha, were employed for each application

tion:

a) dichlorvos	EC 100%	2.550 ml
b) mevinphos	CS 24%	1.220 ml
c) methyl parathion	EC 60%	1.430 ml
d) ethyl parathion	EC 60%	820 ml
e) phentoate	EC 50%	3.060 ml
f) diazinon	WP 40%	1.770 g
g) malathion	EC 50%	3.740 ml

Deposit or residue levels were determined in 50 g samples of leaves, collected immediately after last treatment, and also after 1, 3, 7 and 14 days. The analytical method adopted was based on a technique proposed by LAUG (1946), with some modifications. Studies of the influence of materials co-extracted and correction factors were made with control samples, collected in separate plots.

Under trial conditions, the bioassay, in reference, was determined by the following safety intervals:

a) lettuce - 1 and 7 days, for malathion and ethyl parathion, respectively;

b) kale - 3 days for each malathion, methyl parathion and ethyl parathion;

c) wild chicory - 1 and 3 days, for malathion and ethyl parathion, respectively.

In the cases of methyl parathion on lettuce and wild chicory, mevinphos and diazinon on the three vegetables, it will be necessary to effect clean-up of the extracts for the satisfactory employment of this or other biological methods, in order to establish

precise periods from treatment to harvest. Due to the fact that Brazilian laws do not set tolerance limits for dichlorvós and phenthoate it was not possible to stablish safety intervals. However, the analytical method proved to be satisfactory for analysis residues of phenthoate in the three vegetables employed.

8. LITERATURA CITADA

- ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of economic Entomology, Menasha, 18 : 265-7, 1925.
- ALMEIDA, W.F. Base para a avaliação toxicológica de resíduos de pesticidas e estabelecimento de tolerâncias em alimentos. O Biológico, São Paulo 34(11) : 235-45, 1968.
- \_\_\_\_\_. & SVETLICIC, B. Aspectos da saúde pública referentes ao uso de pesticidas no Brasil. O Biológico, São Paulo, 34(4) : 99-104, 1972.
- ATKINS JR., E.L.; BLINN, R.C.; FUKUTO, T.R.; GUNTHER, F.A. Residues on oranges resulting from the use of DDT, parathion, phosdrin and TDE for the control of orangeworms. Journal of economic Entomology, Menasha, 54(3) : 455-6, 1961.
- BECKMAN, H.; BEVENUE, A.; GAVER, W.O.; ERRO, F. An improved method for cleanup of Brassica for parathion analysis. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists, Washington, 48(6): 1169-73, 1965.
- BLISS, C.I. The calculation of the dosage-mortality curves. The Annals of applied Biology, Cambridge, 22: 134-67, 1953.
- BOONE, C.H. Determination of Dibron and DDVP residues in some fruit and vegetables crops by microcoulometric gas chromatography. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists, Washington, 48(4) : 748-52, 1965.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Resíduos de pesticidas em alimentos. Brasília,

1972, 47 p.

- BURCHFIELD, H.P. & HARTZELL, A. A new bioassay method for evaluation of insecticide residues. Journal of economic Entomology, Menasha, 48(2) : 210-14, 1955.
- BURKHARDT, C.C. & FAIRCHILD, M.L. Bioassay of field-treated soils to determine bioactivity and movement of insecticides. Journal of economic Entomology, Menasha, 60(6) : 1602-10, 1967.
- BUSHLAND, R.C. Attempts to utilize mosquito larvae in a bioassay method for insecticide residues in animal products. Journal of economic Entomology, Menasha, 44(3) : 421-3, 1951.
- COFFIN, D.E. Oxidative metabolism and persistence of parathion and malathion on field-sprayed lettuce. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, Washington, 49(5) : 1018-21, 1966. Apud Horticultural Abstracts, Farnham Royal, 37 : 364, 1967.
- \_\_\_\_\_. & MCKINLEY, W.P. The metabolism and persistence of systox, diazinon and phosdrin on field-sprayed lettuce. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists, Washington, 47:632-40, 1964. Apud Horticultural Abstracts, Farnham Royal, 35 : 377, 1965.
- DAVID, W.A.L. & ALDRIDGE, W.N. The insecticidal material in leaves of plants growing in soil treated with parathion. The Annals of applied Biology, Cambridge, 45(2) : 332-46, 1957.
- DE PIETRI-TONELLI, P. & BARONTINI, A. Modo d'azione e residui dell'estere etilico dell'acido O,O-dimetilditiofosforilacético (L 561, Cidial) nella lotta contro la Carpocapsa pomonella L. Contributi. Istituto di Ricerche agrarie, Milano, 6 : 58-80, 1962/63. Apud Review of Applied Entomology: series A, Agricultural, London, 54: 93, 1966.

- DEWEY, J.E. & PARKER, B.L. Mass rearing of Daphnia magna for insecticide bioassay. Journal of economic Entomology, Menasha, 57(6) : 821-5, 1964.
- DIXON, R.D. & BRUST, R.A. Field testing of insecticides used in mosquito control and a description of the bioassay technique used in temporary pools. Journal of economic Entomology, Menasha, 64(1): 11-4, 1971.
- DRAGER, G. Método gascromatográfico para la determinación de residuos de dichlorvos en plantas y leche. Pflanzenschutz Nachrichten "Bayer", Leverkusen, 21(3) : 385-92, 1968.
- FORATTINI, O.P. Entomologia médica. São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo, 1965. v.2, p.231-506.
- FREAR, D.E.H. & BOYD, J.E. Use of Daphnia magna for the microbioassay of pesticides. I. Development of standardized techniques for rearing Daphnia and preparation of dosage-mortality curves for pesticides. Journal of economic Entomology, Menasha, 60(2) : 1228-39, 1967.
- GETZIN, L.W. & SHANKS JR., C.H. Persistence, degradation and bioactivity of phorate and its oxidative analogues in soil. Journal of economic Entomology, Menasha, 63(1) : 52-8, 1970.
- GIANG, B.Y. & BECKMAN, H.F. Determination of Bidrin, Azodrin, and their metabolites with the thermionic detector. Journal of agricultural and Food Chemistry, Easton, 16(6) : 899-902, 1968.
- GIANG, P.A.; SMITH, F.F.; HALL, S.A. Enzymic estimation of dimethyl 2:2 dichlorovinyl phosphate spray residues. Journal of agricultural and Food Chemistry, Easton, 4 : 621-2, 1956. Apud Journal of the Science of Food and Agriculture: Abstracts, London: 132, 1957.

- GIANNOTTI, O.; ORLANDO, A.; PUZZI, D.; CAVALCANTE, R. D.; MELLO, E. J. R. Noções básicas sobre praguicidas: generalidades e recomendações de uso na agricultura do Estado de São Paulo. O Biológico, São Paulo, 38(8/9) : 223-339, 1972.
- HASSETT, C. C.; KIRK, R.; CRAIG, G. B. Apparatus for insecticide assay. Journal of economic Entomology, Menasha, 53(3) : 483, 1960.
- HIGHTOWER, B. G. Bioassays of weathered residues of several organophosphorus insecticides. Journal of economic Entomology, Menasha, 52(5) : 840-2, 1959.
- HOELSCHER, C. E.; WOLFENBARGER, D. A.; FOSTER, N. E. Parathion and methyl parathion on cabbage and southernpeas. Journal of economic Entomology, Menasha, 61(1) : 56-8, 1968.
- HUDDLESTON, E. W. & GYRISCO, G. G. Residues of phosdrin on alfalfa and its effectiveness on the insect complex. Journal of economic Entomology, Menasha, 51(1) : 209-10, 1961.
- KALKAT, G. S.; DAVIDSON, R. H.; BRASS, C. L. The effects of controlled temperature and humidity on the residual life of certain insecticides. Journal of economic Entomology, Menasha, 54(6) : 1186-90, 1961.
- KANAZAWA, J. Survey of pesticide residue in agricultural commodities in Japan. Japan Pesticide Information, Tokyo(11) : 5-16, Apr. 1972.
- KASTING, R. & HARCOURT, D. G. Parathion residues of cauliflower heads after spraying. Scientific Agriculture, Ottawa, 32 : 299-303, 1952.
- KENAGA, E. E. & ALLISON, W. E. Commercial and experimental organic insecticides. Bulletin of the Entomological Society of America, Chicago,

15(2) : 85-148, 1969.

KILGORE, L. & WINDHAN, F. Disappearance of malathion residue in brocoli during cooking and freezing. Journal of agricultural and Food Chemistry, Easton, 18(1) : 162-3, 1970.

KRUEGER, H.R.; LINDQUIST, R.K.; BAUERLE, W.L. Phorate and aldicarb in greenhouse lettuce: effect of CO<sub>2</sub> on residues. Journal of economic Entomology, Menasha, 66(2) : 573, 1973.

LAUG, E.P. A biological assay method for determining 2,2 bis (p-chlorophenyl), 1,1,1, trichloroethane (DDT). Journal of Pharmacology and experimental Therapeutics, Baltimore, 86 : 324, 1946.

LIPPOLD, P.C.; DAVIS, A.C.; AVENS, A.W.; GIBBS, S.D. Analysis of parathion on broccoli: comparison of chemical, physical, and bioassay methods. Journal of economic Entomology, Menasha, 60(5) : 1364-7, 1967.

McKINLEY, W.P. & JOHAL, P.S. Esterase inhibition technique for detection of organophosphorus pesticides. II. Simplified version for routine checking. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists, Washington, 46(5) : 840-2, 1963.

MAC RAE, H.F. & McKINLEY, W.P. Chromatographic identification of some insecticides in the presence of plant extracts. Journal of agricultural and Food Chemistry, Easton, 11(2) : 174-8, 1963.

MENZER, R.E. & DITMAN, L.P. Phosphamidon residue studies on various crops. Journal of economic Entomology, Menasha, 56(1) : 88-92, - 1963.

MÖLLHOFF, E. Determinación gascromatográfica de residuos en plantas y muestras de terrenos después de la aplicación de preparados de la serie E 605 y Agritox. Pflanzenschutz Nachrichten "Bayer", Le

verkusen, 20(2) : 589-606, 1967.

MONTECATINI EDISON S.p.A. Cidial. Milano, 1967. 60 p.

MURPHY,R.T.; GASTON,L.K.; GUNTHER,F.A. Colorimetric analytical method for Bidrin residues in alfalfa, celery, lemon peel, lettuce, orange peel, potatoes, string beans, and tomatoes. Journal of agricultural and Food Chemistry, Easton, 13(3) : 242-4, 1965.

NELSON,H.A.; MENZER,R.E.; DITMAN,L.P. Dimethoate residues in leafy crops. Journal of economic Entomology, Menasha, 59(2) : 404-6, - 1966.

NOLAN,K. & WILCOXON,F. Method of bioassay for traces of parathion in plant materials. Agricultural Chemicals, Baltimore, 5(1) : 53-74, 1950.

PARKER,B.L.; DEWEY,J.E.; BACHE,C.A. Carbamate bioassay using Daphnia magna. Journal of economic Entomology, Menasha, 63(3) : 710-4, 1970.

PIGATI,P. Resíduos de metasytox em folhas e frutos do tomateiro. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, 28 : 255-9, 1961.

PIGATTI,A. & AMARAL,J.F. Determinação de resíduos em cogumelos tratados com inseticidas. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, 27 : 35-41, 1960.

\_\_\_\_\_ & MELLO,E.J.R. Ação dos inseticidas orgânicos sobre larvas do mosquito Culex pipiens fatigans Wied. e sobre moscas domésticas (Musca domestica L.) do município de São Paulo. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, 28 : 101-12, 1961.

\_\_\_\_\_ & ORLANDO,A. Tratamento de tubérculos de batatinha com inseticidas sistêmicos para o controle de pulgões (Homoptera: Aphidi-

dae). Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, 26 : 153-60, - 1959.

PIGATTI, A.; ORLANDO, A.; GARRUTI, R.S. Determinação de resíduos e eventuais alterações de gosto em tubérculos de batatinha cultivados em solo tratado com inseticida. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, 28 : 40-51, 1961.

\_\_\_\_\_.; PIGATTI, P.; CAMARGO, L.S. Resíduos de mevinphos em couve-flor. O Biológico, São Paulo, 33(9) : 200-3, 1967.

\_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; ORLANDO, A.; SUPPLY FILHO, N.; SAMPAIO, A.S.; RIGITANO, O. Persistência de resíduos de fenthion em pêsego, ameixa e maçã. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, 34(4) : 275-84, 1967.

RAI, L.; BURKHARDT, C.C.; ROAN, C.C. The effects of alfalfa dehydration upon residues of malathion. Journal of economic Entomology, Menasha, 50(4) : 511-2, 1957.

READ, D.C. Bioassays on the activation and deactivation of some new insecticides in a mineral soil and absorption of toxic components by rutabagas. Journal of economic Entomology, Menasha, 64(4) : 796-800, 1971.

RICHARDSON, H.P. & WESTDAL, P.H. Control of the six-spotted leaf-hopper, Macrostelus fascifrons, and aster yellows on head lettuce in Manitoba. Canadian Journal of Plant Science, Ottawa, 43(1) : 12-7, 1963.

ROBERTS, J.E.; CHISHOLM, R.D.; KOBLITSKY, L. Persistence of insecticides in soil and their effects on cotton in Georgia. Journal of economic Entomology, Menasha, 55(2) : 153-5, 1962.

SANDRONI, S. & SCHLITT, H. A screening method for organochlorine and-

phosphorus pesticide residues in vegetables using thin-layer chromatography. Journal of Chromatography, Amsterdam, 55 : 385-94, - 1971.

SLOAN, M. J.; RAWLINS, W. A.; NORTON, L. B. Factors affecting the loss of DDT and parathion residues on lettuce. Journal of economic Entomology, Menasha, 44(5) : 710-9, 1951.

SMITH, F. F. & CLIFFORD, P. A. Translocation of parathion from foliage applications. Journal of economic Entomology, Menasha, 43(5) : 708-12, 1950.

\_\_\_\_\_.; EDWARDS, F. I.; GIANG, P.; FULTON, R. A. Residues of organic phosphorus compounds and DDT on greenhouse vegetables. Journal of economic Entomology, Menasha, 45(4) : 703-7, 1952.

\_\_\_\_\_.; GIANG, P.; FULTON, R. A. Residues of malathion on greenhouse lettuce and tomatoes and on green onions. Journal of economic Entomology, Menasha, 47(1) : 183-5, 1954.

\_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; TAYLOR, E. A. Reduction on malathion residues on vegetables by washing. Journal of economic Entomology, Menasha, 48(2) : 209, 1955.

SUN, Y. P. Bioassay of pesticide residues. Advances in Pest Control Research, New York, 1 : 449-96, 1957.

\_\_\_\_\_. & JOHNSON, E. R. A new bioassay technique, with special reference to the specific bioassay of DDVP insecticide. Journal of economic Entomology, Menasha, 56(5) : 635-41, 1963.

\_\_\_\_\_. & \_\_\_\_\_. Integration of physico-chemical and biological techniques in specific bioassay with special reference to Bidrin insecticide. Journal of economic Entomology, Menasha, 58(5) : 838-44, 1965.

- SUN, Y.P. & SANJEAN, J. Specificity of bioassay of insecticide residues, with special reference to phosdrin. Journal of economic Entomology, Menasha, 54(5) : 841-6, 1961.
- \_\_\_\_\_. & SUN, J.I.T. Microbioassay of insecticides, with special reference to aldrin and dieldrin. Journal of economic Entomology, Menasha, 45(1) : 26-37, 1952.
- TERRIERE, L.C. & INGALSBE, D.W. Translocation and residual action of soil insecticides. Journal of economic Entomology, Menasha, 46(5) : 751-3, 1953.
- UNTERSTENHOFER, G. & FREHSE, H. La naturaleza e importancia de la acción sistémica de insecticidas. Pflanzenschutz Nachrichten "Bayer", Leverkusen, 16(4) : 177-93, 1963.
- VAN MIDDELEM, C.H. & BARANOWSKI, R.M. Phorate residues in tomato fruit and foliage. Journal of economic Entomology, Menasha, 55(5) : 600-3, 1962.
- \_\_\_\_\_.; MOYE, H.A.; JANES, M.J. Carbofuran and 3-hydroxycarbofuran de termination in lettuce by alkali-flame gas chromatography. Journal of agricultural and Food Chemistry, Easton, 19(3) : 459-61, 1971.
- VARDELL, H.H.; GILLENWATER, H.B.; WHITTEN, M.E.; CAGLE, A.; EASON, G.; CAIL, R.S. Dichlorvos degradation on stored wheat and resulting -milling fractions. Journal of economic Entomology, Menasha, 66(3) : 761-3, 1973.
- WAITES, R.E. & VAN MIDDELEM, C.H. Residue studies of DDT and malathion on turnip tops, collards, snap beans and lettuce. Journal of economic Entomology, Menasha, 51(3) : 306-8, 1958.
- WESTLAKE, W.E. & BUTLER, L.I. Residues of malathion on fruits and vegetables. Journal of economic Entomology, Menasha, 46(5) : 850-

2, 1953.

WINTERLIN, W.; MOURER, C.; BECKMAN, H. Analysis of phosdrin in vegetables using gas-liquid chromatography. Journal of agricultural and Food Chemistry, Easton, 18(3) : 401-4, 1970.

WOLFENBARGER, D.A. & SHAVER, T.N. An infrared spectrophotometric technique for determining residues of several organophosphorus insecticides from cotton foliage. Journal of economic Entomology, Menasha, 66(2) : 332-6, 1973.