UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
ENGENHARIA AGROINDUSTRIAL AGROQUÍMICA

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS DE *Spirulina sp.* E ALHO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE *Bipolaris oryzae e Pyricularia grisea*

RAMIRO SUÁREZ ESTEVES

Santo Antônio da Patrulha
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
ENGENHARIA AGROINDUSTRIAL AGROQUÍMICA

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS DE *Spirulina sp.* E ALHO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE *Bipolaris oryzae e Pyricularia grisea*

RAMIRO SUÁREZ ESTEVES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Rio Grande, como parte dos requisitos necessários à graduação em Engenharia Agroindustrial Agroquímica.

Orientadora: Profª. Dra. Fernanda Arnhold Pagnussatt

Santo Antônio da Patrulha
2015

RESUMO

Os fungos *Bipolaris oryzae e Pyricularia grisea* são responsáveis por atacarem a cultura do arroz, causando doenças conhecidas como mancha parda e brusone, respectivamente. Em função disso, o controle dessas pragas é realizado com o uso de defensivos sintéticos que podem causar problemas ambientais e de saúde para os seres humanos e animais. Com isso, existe a necessidade de aumentar a segurança alimentar, através da aplicação de biofungicidas como alternativa ao uso de fungicidas sintéticos. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial inibitório de compostos bioativos extraídos de *Spirulina sp. LEB-18* e alho (*Allium sativum L*.) contra o crescimento de *Bipolaris oryzae* e *Pyricularia grisea ,* durante o ciclo de produção do arroz. A *Spirulina* sp. LEB - 18 foi cultivada pelo Laboratório de Engenharia Bioquímica da FURG e o alho foi adquirido no comercio local para extração dos compostos fenólicos livres. Os compostos fenólicos, quantificados por espectrofometria e identificados por HPLC-UV, foram aplicados como antifúngico natural em diferentes combinações e concentrações, através do método bioanalítico *in vitro,* para cada fungo em estudo*.* O método consistiu em acompanhar o desenvolvimento, através de medições ortogonais de cada micro-organismo em placas contendo meio agar batata dextrose (BDA) e extrato fenólico. O controle foi realizado adicionando-se água estéril em substituição aos extratos. Após a definição da concentração inibitória dos compostos fenólicos aplicados na forma individual, foi realizada uma comparação com o fungicida sintético triciclazol, conhecido como BIM® 750BR, que foi diluído de acordo com as orientações do fabricante e aplicado nas mesmas concentrações que os fungicidas de origem fenólica. O somatório dos ácidos fenólicos identificados por HPLC-UV no extrato de alho foi de 46,20 $\mu g.g^{-1}$, sendo composto, na sua maioria, por ácido siríngico (41%), ácido caféico (34%) e ácido gálico (10%). A *Spirulina sp*. LEB-18 apresentou um teor de ácidos fenólicos de 136,30 $\mu g.g^{-1}$, com predominância dos ácidos caféico (50%) e siríngico (41%). Os dois extratos fenólicos, nas concentrações de 40%, 30% e 20% (v/v), apresentaram elevada atividade inibitória contra os fungos estudados. O extrato fenólico de *Spirulina* apresentou efeito fungicida ao ser aplicado na maior concentração contra *P.grisea. O* extrato fenólico de alho inibiu, em média, 96% o crescimento micelial dos dois micro-organismos na mesma condição testada, indicando um efeito fungistático. A comparação entre o fungicida natural de *Spirulina* e o fungicida sintético permitiu verificar que o maior efeito inibidor para *B. oryzae* foi obtido ao usar extrato fenólico, com valor médio de 80%, contra 67% do BIM®. O extrato fenólico de alho foi mais eficiente do que o BIM®, nas concentrações de 30% e 20%. Nas concentrações menores que 10% de extrato fenólico de alho (v/v), não houve atividade inibitória, enquanto que o BIM inibiu em média 63% o crescimento fúngico. Sendo assim, os extratos fenólicos utilizados mostraram-se boas alternativas para o controle das doenças mancha parda e brusone. Dessa forma, recomenda-se a aplicação de uma concentração de, no mínimo, 20% (v/v) de antifúngico natural em ensaios futuros.

Palavras-chave: arroz; biofungicida; compostos fenólicos; fungos.

ABSTRACT

The fungi *Bipolaris oryzae and Pyricularia grisea* are responsable for attacking the rice culture, causing disease known as brow spot and brusone, respectively. The control of these pests is made using synthetic pesticides that can cause environmental and health problems to humans and animals. Therefore, there is a need to increase the food safety, by the application of biofungicide as an alternative to the use of the synthetic pesticides. The purpose of this work was to evaluate the potential inhibitory of the bioactives compounds, extracted for the *Spirulina sp. LEB-18* and garlic (*Allium sativum L*.), against the mycelial growth of *Bipolaris oryzae* and *Pyricularia grisea* during the rice crops. *Spirulina sp. LEB-18* was grown by the Laboratory of Biochemical Engineering of FURG and the garlic was acquired in the local market for the extraction of the free phenolic compounds. The phenolic compounds, quantified by spectrophotometry and identified by HPLC-UV, were applied as natural antifungal in different concentrations, by the bioanalytical method *in vitro,* for each studied fungi*.* The method was to follow the development through orthogonal measurements of each microorganism in plates with half potato dextrose agar (PDA) and phenolic extract. The control was made adding sterile water in substitution of the extracts. After determinate the inhibitory concentration of the phenolic compound applied individually, was realized a comparison with the synthetic fungicide triciclazole, known as BIM® 750BR, which was diluted according to the manufacturer instructions and applied in the same concentrations of the phenolic fungicide. Both phenolic extract, in 40%, 30% and 20% (v/v) concentration, presented high inhibitory activity against the studied fungi and represent a good alternative for the control of the brow spot and brusone. Therefore, it is recommended the use of a minimum concentration of 20% (v/v) from natural fungicides against the fungi commonly found in the rice culture. The addition of the phenolic acids identfy by HPLC-UV to the garlic extract was 46,20 µg.g-1, being composed mostly by syringic acid (41%), caffeic acid (34%) and gallic acid (10%). The *spirulina sp*. LEB-18 presented an acid phenolic content of 136,30 µg.g-1, with predominance of caffeic acid (50%) and syringic (41%). Both phenolic extracts, in 40%, 30% and 20% (v/v) concentration, present high inhibitory activity against the studied fungi. The *spirulina* phenolic extract showed fungicide effect when applied in higher concentration against P.grisea. The garlic phenolic extract inhibited, in average, 96% the mycelial growth from both microorganism in the same tested concentration, showing a fungistatic effect. The comparison between the natural s*pirulina* fungicide and the synthetic fungicide made possible to verify that the bigger inhibitory effect for B. oryzae was obtained by using phenolic extract, with average value of 80%, against 67% from BIM®. The garlic phenolic extract was more efficient than the BIM®, in the concentration of 30% and 20%. In concentrations lower than 10% the garlic phenolic extract (v/v) did not have inhibitory activity, while the BIM inhibited in average 63% from the fungi growth. Therefore, the used phenolic extracts show up as a good alternative to control of the sickness brow spot and brusone. It is recommended the application of a minimum concentration of 20% (v/v) of the natural anti-fungi in future trials.

Keywords: rice; biofungicide; phenolics compound; fungi.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura do órgão vegetativo do arroz. 10
Figura 2 – Panícula do arroz. 10
Figura 3 – Morfologia do grão de arroz. 11
Figura 4 – Mancha parda na planta de arroz. 14
Figura 5 – Mancha parda no grão de arroz. 15
Figura 6 – Brusone na planta de arroz. 16
Figura 7 – Brusone no grão de arroz. 16
Figura 8 – Estrutura química do Triciclazol. 19
Figura 9 – Estrutura básica dos fenóis 21
Figura 10 – Estrutura química de alguns ácidos fenólicos encontrados em tecidos vegetais e microbianos. 22
Figura 11 - Cromatograma dos padrões de compostos fenólicos quantificados por HPLC com coluna de fase reversa e detector UV. 28
Figura 12 - Crescimento micelial (cm) de *B.oryzae* das placas controle (C), com extrato de *Spirulina* (SP) e alho (AL) nas concentrações de 40% (A), 30% (B), 20% (C), 10% (D), 5% (E) e 2,5% (F). 31
Figura 13 - Halos no 9º dia de crescimento de *B.oryzae* nos meios controle, contendo diferentes concentrações de extrato fenólico de *Spirulina* e concentrações decrescentes de extrato fenólico de alho. 33
Figura 14 - Taxa de crescimento micelial (cm dia^{-1}) para *B.oryzae* nos experimentos controle (□) e com adição de diferentes concentrações de extrato de *Spirulina* (◆) ou BIM (△). 34
Figura 15 - Taxa de crescimento micelial (cm dia^{-1}) para *B.oryzae* nos experimentos controle (□) e com adição de diferentes concentrações de extrato de alho (◆) ou BIM (△). 35
Figura 16 - Halos no 2º dia de crescimento de *P. grisea* nos meios controle, contendo diferentes concentrações de extrato fenólico de *Spirulina* e de extrato fenólico de alho. 36
Figura 17 - Halos no 11º dia de crescimento de *P. grisea* nos meios controle, contendo diferentes concentrações de extrato fenólico de *Spirulina sp.* e de extrato fenólico de alho. 37
Figura 18 - Crescimento micelial (cm) de *P.grisea* das placas controle (C), com extrato de *Spirulina* (SP) e alho (AL) nas concentrações de 40% (A), 30% (B) e 20% (C). 39

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 6
2 OBJETIVOS 8
2.1 OBJETIVO GERAL 8
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 8
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 9
3.1 ARROZ 9
3.1.1 Produção e consumo 9
3.1.2 Características da cultura 9
3.1.3 Morfologia e características físico-químicas do grão de arroz 11
3.2 FUNGOS 13
3.2.1 Bipolaris oryzae (Mancha parda) 14
3.2.2 Pyricularia grisea (Brusone) 15
3.3 ANTIFÚNGICOS 17
3.3.1 Spirulina sp. 19
3.3.2 Alho 20
3.3.3 Compostos fenólicos 21
4 MATERIAL E MÉTODOS 23
4.1 MATERIAL 23
4.2 EXTRAÇÃO, QUANTIFICAÇÃO E PERFIL DOS COMPOSTOS FENÓLICOS 23
4.3 MICRO-ORGANISMOS UTILIZADOS E OBTENÇÃO DOS DISCOS DE MICÉLIO 24
4.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO* 25
4.4 ANÁLISE DE CUSTOS DE MATÉRIAS-PRIMAS 26
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA 26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 27
5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS EXTRAÍDOS DE *SPIRULINA SP*. LEB-18 E ALHO 27
5.2 INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE *BIPOLARIS ORYZAE* 29
5.3 INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE *PYRICULARIA GRISEA* 36
5.4 ESTIMATIVA DE CUSTOS DE MATÉRIAS PRIMAS 40
6 CONCLUSÃO 40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 42

1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma das principais fontes nutritivas da população mundial e para suprir essa demanda é necessário um aumento constante na produção deste cereal. No entanto, o ataque de patógenos prejudica o desenvolvimento da cultura e ocasiona quedas de produtividade, com perdas que variam de 20% a 50% nas lavouras do Rio Grande do Sul (FAO, 2015; BALARDIN, BORIN, 2001).

As condições úmidas do cultivo do arroz e as suas características físico-químicas fazem da cultura um meio propício para a proliferação microbiana, especialmente de fungos. As principais doenças que atacam o arroz durante o cultivo são a mancha parda e brusone, causada pelos fungos *Bipolaris oryzae* e *Pyricularia grisea,* respectivamente (EMBRAPA, 2006).

Para o controle desta contaminação, técnicas de manejo ao longo do desenvolvimento da cultura são utilizadas, com destaque para a aplicação de defensivos agrícolas de origem sintética ao longo do ciclo de crescimento do arroz. Porém, estudos tem demonstrado que o uso de produtos químicos está associado com a contaminação da água e do solo e com problemas toxicológicos em humanos e animais. Além disso, a resistência dos fungos em função da aplicação não controlada dos agrotóxicos nas culturas está aumentando, fazendo com que as empresas desenvolvam novas formulações ou indiquem maiores dosagens de uso como uma tentativa de garantir o efeito desejado do princípio ativo contra o crescimento fúngico (HEIDTMANN-BEMVENUTTI *et al*., 2012; DORS *et al*., 2011; PAGNUSSATT *et al*., 2011).

Métodos alternativos para o controle de pragas, como a aplicação de compostos extraídos de fonte vegetal ou microbiana tem sido alvo de estudos. Entre os compostos com comprovado efeito antifúngico, destaca-se o alho (*Allium sativum L*.) no controle de *Aspergillus niger* (SOUZA *et al., 2010)* e microalga *Spirulina no* controle de *Fusarium graminearum (*PAGNUSSATT *et al*., 2014*)* e *Aspergillus flavus* (SOUZA *et al.*, 2011).

Nesse sentido, torna-se interessante o estudo de compostos bioativos capazes de controlar os patógenos presentes em grãos, com o intuito de reduzir o intenso uso de agrotóxicos e contribuir com a segurança na cadeia produtiva de alimentos. Sendo assim, a hipótese que norteou esse trabalho é baseada no fato de

que o uso de compostos bioativos, em substituição parcial ou total aos fungicidas aplicados tradicionalmente servirá como uma medida preventiva ou inibitória da contaminação fúngica, permitindo o desenvolvimento de novos processos para a aplicação desses biofungicidas durante o cultivo de arroz.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial inibitório de extratos fenólicos de *Spirulina sp.* e alho contra os fungos *Bipolaris oryzae* e *Pyricularia grisea* .

2.2 Objetivos específicos

Estudar a ação antifúngica de extratos de *Spirulina sp.* contra o crescimento micelial de *Bipolaris oryzae* e *Pyricularia grisea;*

Analisar o efeito inibitório de extratos de alho sobre o crescimento de *Bipolaris oryzae* e *Pyricularia grisea;*

Comparar o potencial inibitório dos biofungicidas estudados em relação ao fungicida sintético tradicionalmente aplicado durante o cultivo do arroz (Bim® 750BR).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Arroz

3.1.1 Produção e consumo

O arroz é um dos alimentos mais importantes no mundo e é a base nutricional de mais de três bilhões de pessoas. Em 2013, a produção mundial foi de 494 milhões de toneladas do grão em casca, correspondendo a 29% do total de grãos usados na alimentação humana (FAO, 2015). Os países asiáticos produzem 90% do cereal, além de consumir entre 100 e 150 kg/pessoa/ano. O consumo médio mundial é de 60 kg/pessoa/ano, reduzido para 30 kg/pessoa/ano na América Latina (SOSBAI, 2010).

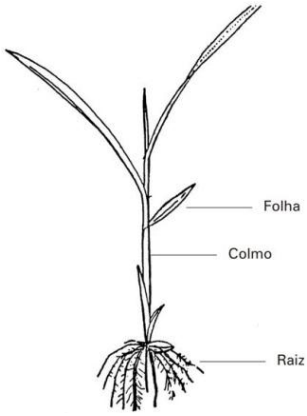
O Brasil é o nono maior produtor de arroz no mundo, com produção, em 2014, de 12,13 milhões toneladas. O Rio Grande do Sul, no mesmo ano, produziu 8,11 milhões toneladas, ou seja, 66 % da produção do país. Para a safra de 2015, devido a preocupação dos produtores com o ataque de doenças, houve redução da área plantada (CONAB, 2015).

3.1.2 Características da cultura

O arroz é um cereal pertencente a família das gramíneas e ao gênero *Oryza*, cultivado em regiões tropicais e temperadas, onde a luz e as chuvas são intensas (KHUSH, 1997). A duração do ciclo de desenvolvimento pode variar entre 100 e 140 dias para a maioria das cultivares utilizadas no Rio Grande do Sul (SOSBAI, 2010).

A planta pode ser dividida, morfologicamente, em órgão vegetativo (raízes, colmo e folha) e reprodutor (flor e semente), de acordo com a Figura 1 (CHANG, BARDENAS, 1965).

Figura 1 - Estrutura do órgão vegetativo do arroz.

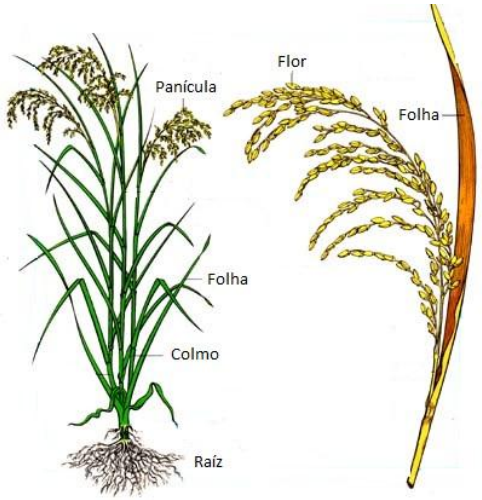


Fonte: Embrapa, 2010.

O colmo é uma estrutura não ramificada e é dividido em gomos em todo seu comprimento. Estes gomos são denominados entrenós e são separados entre si por discos transversais chamados nós. A região nodal sustenta uma folha e um broto, com dimensões variadas ao longo da planta, onde os nós e entrenós da parte de baixo tem maior diâmetro do que os de cima (EMBRAPA, 2010).

As panículas (Figura 2) são inflorescências, localizadas sobre o último entrenó do caule. Estas contém no seu interior a flor e o óvulo, o qual tem a função reprodutiva da espécie formando o grão de arroz (EMBRAPA, 2010).

Figura 2 – Panícula do arroz.



Fonte: Google imagens, 2015.

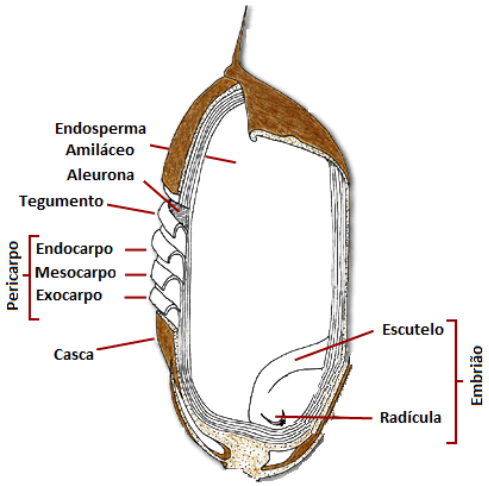
A duração do período de formação e enchimento dos grãos oscila entre 30 a 40 dias, em função da variação da temperatura do ar. Os grãos passam pelas etapas de grãos leitosos, grãos pastosos e grãos em massa dura até atingirem a maturação fisiológica. Normalmente, a colheita mecanizada inicia quando o grão apresenta umidade de 22%. Contudo, qualquer deficiência nutricional ou ocorrência de pragas ou moléstias durante o período de formação e enchimento reflete no peso dos grãos (SANTOS; STONES, VIEIRA, 2006; SOSBAI, 2007).

Em vista disso, pesquisas na área de melhoramento genético de arroz irrigado procuram o desenvolvimento de estratégias metodológicas que visam obter genótipos comerciais de alta e estável produtividade e com qualidade de grãos que atenda a preferência, inicialmente do mercado interno e posteriormente, do comércio externo. A liberação de cultivares que apresentem melhoria genética de grão, principalmente em termos de qualidade nutricional, tornando o arroz um alimento funcional, também são alvos de pesquisa (EMBRAPA, 2005).

3.1.3 Morfologia e características físico-químicas do grão de arroz

O grão de arroz é constituído pela casca (20%); pericarpo, tegumento e aleurona (4,8%); endosperma amiláceo (73%) e germe (2,2%), conforme a Figura 3 (HOSENEY, 1991).

Figura 3 – Morfologia do grão de arroz.



Fonte: Google imagens, 2015.

A casca é constituída praticamente de sílica e celulose e sua principal função é proteger o grão do ataque de insetos (HOSENEY, 1991). O pericarpo é uma película formada pelas paredes do ovário e divide-se em exocarpo, mesocarpo e endocarpo (FONSECA *et al*., 2008). O tegumento é uma camada dupla (testa e hialina), que fica ente o pericarpo e a aleurona (KENT, 1987). Já o endosperma amiláceo é constituído basicamente de amido e tem a função de nutrir o embrião durante a germinação (FONSECA *et al*., 2008).

No embrião ocorre a germinação, que dará origem a uma nova planta (FONSECA *et al.*, 2008). Ele pode ser dividido em plúmula, radícula e escutelo, que contém proteínas, vitaminas e enzimas (HOSENEY, 1991) e tem a função de transferir as reservas armazenadas no endosperma amiláceo para o embrião (KENT, 1987).

O arroz é um cereal constituído por diversos tecidos, que apresentam estrutura, composição química e funções diferenciadas. Em geral, apresenta 74% de carboidratos, 11% de proteínas, 6% de lipídios, 7,5% de fibra e 1,5% de cinzas. Para ser consumido, deve passar por um processo de beneficiamento, onde o produto principal é arroz polido ou parboilizado, destinado ao consumo humano, e a casca e o farelo como coprodutos (LEMOS, SOARES, 1999; ZDRADEK, 2001).

O farelo de arroz é constituído pelo pericarpo, tegumento, aleurona e germe, retirados no processo de beneficiamento. Ele constitui em torno de 8% do grão de arroz, sendo rico em proteínas, lipídios, vitaminas e sais minerais. A composição química do farelo é diversificada, sendo influenciada por fatores como lote do arroz e variedade, forma, tamanho e moagem, além do processo de beneficiamento que tenha sofrido o grão ou farelo (LEMOS, SOUZA-SOARES, 2000).

O farelo integral ou engordurado, mesmo com a presença de nutrientes importantes, apresenta limitação para uso em função da alteração de suas características físico-químicas em um curto intervalo de tempo. Isto é causado pela enzima lipase que requer desativação rápida, evitando a deterioração e o desenvolvimento de sabor desagradável durante o consumo humano (MORO; ROSA, HOELZEL, 2004).

No Brasil, o uso do farelo se restringe principalmente a aplicação como matéria-prima para a extração de óleo, para a produção de ração animal e, em menor escala, como produto dietético e na composição de “multimistura”. Nos Estados Unidos, o farelo é empregado como produto alimentício há 20 anos, a partir

de técnicas de beneficiamento industrial, com controle de qualidade e critérios de segurança alimentar, além de servir de matéria-prima para a extração de componentes valiosos, como os antioxidantes (SILVA, SANCHES, AMANTE 2001; COLLA, BADIALE-FURLONG, COSTA 2007). Além disso, o farelo de arroz pode ser utilizado para a extração de compostos bioativos, como os compostos fenólicos, com efeito antifúngico comprovado (SOUZA *et al*., 2010).

Já a casca do arroz é o coproduto mais volumoso resultante do processamento industrial, onde a geração de energia é seu principal destino. Esta é uma alternativa praticável do ponto de vista tecnológico, viável do ponto de visto econômico e ética do ponto de vista ecológico. Além disso, a combustão direta da casca resulta em cinzas, que por sua vez pode ser usada para produção de sílica, polímeros, cimento e concreto. Isto fecha o ciclo da industrialização do arroz, sendo possível o total aproveitamento da matéria-prima (FOLETTO *et al.,* 2005).

3.2 Fungos

A produtividade e qualidade dos grãos é motivo de grande preocupação para os produtores devido aos impactos econômicos. Entre os fatores que afetam a produtividade, as doenças fúngicas são responsáveis por danos variáveis entre 20% e 50% das lavouras do Rio Grande do Sul (BALARDIN, BORIN, 2001).

As condições de cultivo do arroz são realizadas principalmente sob a forma irrigada, este meio é propício para a proliferação de fungos no cereal. Além disso, as características físico-químicas do arroz torna esse cereal bastante susceptível ao ataque de micro-organismos (EMBRAPA, 2006).

Assim, Franco *et al*. (2012) destacam que no Rio grande do Sul, entre as doenças fúngicas, a brusone (*Pyricularia grisea*) é a mais importante devido aos prejuízos na produtividade. Além disso, doenças como a mancha parda (*Bipolaris oryzae*) também são frequentes na cultura do arroz. Já para Farias *et al*. (2007), outras espécies de fungo como *Alternaria padwickii* vem sendo detectadas com frequência no arroz.

3.2.1 *Bipolaris oryzae* (Mancha parda)

O fungo *Bipolaris oryzae* (Bredade Haan), é classificado na classe Hyphomycetes e família Dematiaceae. Ele é um Ascomycota denominado Cochiliobolus miyabeanus na sua forma sexuada, porém ainda não foi encontrada no Brasil. Produz bastante micélio de cor escura, conidióforos marrom-claros a marrom-oliváceos, tornando-se mais claros no ápice, retos aflexuosos, solitários ou em pequenos grupos (RIBEIRO, 2010; NETO, 2009).

A mancha parda, causada pelo fungo *Bipolaris oryzae*, afeta todas as regiões produtoras de arroz do mundo, em especial as regiões tropicais. Ela é a segunda doença mais importante e é o principal agente causador de manchas. As sementes infectadas com esse fungo sofrem uma redução significativa na germinação. Além disso, os grãos manchados causam perdas no rendimento (EMBRAPA, 2006).

Por este motivo, esta doença tem sido alvo de estudos e de grande preocupação para os produtores de arroz (FARIAS *et al*., 2007). A incidência da doença pode ter impactos econômicos significativos, pois segundo Prabhu (1995) pode causar danos de 12% a 30 % na massa dos grãos e de 18% a 22% no número de grãos cheios. Além disso, o fungo provoca o desenvolvimento de grãos gessados, chochos e de coloração escura (PRABHU, FILIPPI, 1997).

Os sintomas causados por *B. Oryzae* podem ser encontrados principalmente nas folhas e nos grãos, porém podem ser observados também na panícula e na bainha. Nas folhas, as manchas típicas da doença são ovais, de coloração marrom-avermelhada e geralmente com centro cinza (Figura 4). Já nos grãos, as manchas são de cor marrom escuro ou marrom-avermelhado e podem cobrir parcial ou totalmente a superfície do grão (Figura 5) (CARDOSO, KIMATI, 1997).

Figura 4 – Mancha parda na planta de arroz.

Fonte: EMBRAPA, 2006.

Figura 5 – Mancha parda no grão de arroz.

Fonte: EMBRAPA, 2006.

O fungo pode aparecer em qualquer etapa do ciclo do arroz, no entanto na floração a ocorrência é mais comum. O seu desenvolvimento é influenciado por diversos fatores como, temperatura, umidade, luz, pH e elementos nutricionais. A temperatura ótima para o crescimento é em torno de 28 ºC, ficando dentro da faixa de germinação da semente que é de 25 ºC a 28 ºC. A umidade das folhas que é de aproximadamente 89% já é suficiente para o crescimento do fungo (CARDOSO, KIMATI, 1997).

O principal local de sobrevivência do fungo é o grão, onde o inóculo pode manter-se vivo por vários anos em condições naturais de armazenamento. A contaminação também pode ocorrer através dos campos que repetem o plantio consecutivo por alguns anos (CORRÊA, 2006). Além disso, o fungo pode ser disseminado através do vento (SCHWANCK, 2012).

3.2.2 *Pyricularia grisea* (Brusone)

O fungo *Pyricularia grisea* é o estado teleomórfo do fungo *Magnaporthe grise.* Ele pertence ao filo Ascomycota, classe Sordariomicetes, ordem Magnaporthales e família Magnaporthaceae (MACIEL, 2011). Tem como características a formação de colônias diversificadas com colorações que variam do branco ao cinza escuro, com muita ou pouca produção de micélio, sendo essa característica variável em função do meio de cultivo utilizado para o crescimento do patógeno (DE MELO, 2013).

A brusone, causada pelo fungo *Pyricularia grisea*, é a doença fúngica mais incidente no cultivo do arroz (FRANCO *et al*., 2012). A característica sintomática desta praga na planta é o aparecimento de manchas nas folhas de cor castanho-avermelhadas (Figura 6), que evoluem para manchas alongadas com o centro

acinzentado. Ela pode ocorrer em todo o ciclo de crescimento da planta e em todas as partes da mesma, desde os colmos às panículas. Já no grão (Figura 7), apresenta-se como manchas marrons localizadas nas glumas, podendo atingir o embrião (CARDOSO, KIMATI, 1997).

Figura 6 – Brusone na planta de arroz.

Fonte: EMBRAPA, 2006.

Figura 7 – Brusone no grão de arroz.

Fonte: EMBRAPA, 2006.

Quando a doença ataca a planta, especialmente a base da panícula, a passagem de seiva é interrompida, o que leva a interrupção do processo normal de enchimento dos grãos e de maturação. Isto compromete a qualidade do produto final e o rendimento industrial do arroz, pois resulta em alta frequência de grãos gessados e pouco desenvolvidos (CASTRO *et al*., 1999). Para Embrapa (2006), as perdas ocasionadas pela brusone podem chegar a 100%.

Os fatores que mais influenciam no desenvolvimento do fungo são a temperatura, umidade e luminosidade. A temperatura ótima para esporulação é em torno de 28 ºC, sendo favorecida pela temperatura de germinação da semente, que é de 25 ºC a 28 ºC. A umidade que favorece o desenvolvimento do fungo é de 93% e esse mecanismo é acelerado com a alternância de luminosidade (CARDOSO, KIMATI, 1997).

Esses fatores refletem o fato de que existem regiões com maior incidência da doença, embora a planta esteja sujeita ao ataque de fungos durante todo o ciclo de crescimento. As regiões como o litoral norte do Rio Grande do Sul, com índices maiores de pluviosidade e alta umidade relativa do ar acarretam em infestações maiores, por apresentarem um meio mais apropriado para o desenvolvimento do fungo. Além disso, solos arenosos e com baixa fertilidade também estão mais propensos à contaminação (SOSBAI, 2010)

Segundo Prabhu, Guimarães e Berni (2001), a brusone é transmitida por sementes infectadas, porém elas não causam epidemias quando o plantio acontece em épocas de chuvas e o manejo é adequado. Outra fonte de transmissão da doença são os esporos presentes nos restos da cultura em lavouras de segundo ou terceiro ano de plantio consecutivo. Além disso, o vento pode trazer esporos contaminantes de lavouras vizinhas, sendo um fator importante de contaminação.

Segundo dados da CONAB (2015), por causa da doença, os produtores decidiram reduzir a área plantada, pois as perdas na produção de suas plantações aumentaram. Entretanto, em função das medidas corretas de manejo, como a aplicação de da dosagem correta de pesticidas, a produtividade deve aumentar e a produção pode superar à do ano anterior.

3.3 Antifúngicos

O arroz, ao longo do seu ciclo, é contaminado com diversas doenças que diminuem a produtividade e qualidade dos grãos. Por este motivo, o controle de doenças na cultura é de suma importância para minimizar prejuízos na produtividade. Os métodos mais comuns para a prevenção destas doenças são a resistência genética, as práticas culturais e a aplicação de pesticidas (EMBRAPA, 2006).

Os pesticidas abrangem um grande número de moléculas químicas, com diferentes modos de ação e toxicidade, sendo divididos em três grandes classes: inseticidas, herbicidas e fungicidas. Estes últimos são definidos como substâncias de origem natural ou sintética que visam inibir, eliminar ou controlar a população de fungos na planta e podem ser divididos em sistêmicos, mesostêmicos ou de contato (SILVA; FAY, 2004).

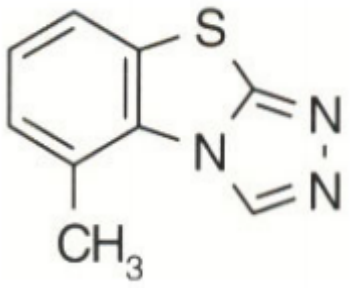
Os fungicidas sistêmicos penetram no tecido vegetal e, consequentemente, são transportados dentro do sistema vascular das plantas. Os mesostêmicos, penetram na camada superficial do vegetal. Já os de contato, ao contrário dos sistêmicos e mesostêmicos, não penetram no tecido vegetal, permanecendo na superfície da planta (SILVA e FAY, 2004).

Outra classificação dos fungicidas é quanto à sua função de proteção, podendo ter efeito preventivo ou curativo. Fungicidas de contato tem efeito preventivo; enquanto que fungicidas sistêmicos e mesostêmicos tem a função de penetrar na planta, agindo de forma preventiva e/ou curativa, impedindo o crescimento do patógeno antes ou após a infecção (MCGRATH, 2001).

Em relação aos fungicidas químicos, existem tipos específicos utilizados para cada doença (EMBRAPA, 2006). Para o controle da brusone e da mancha parda são utilizados, preferencialmente, princípios ativos do grupo dos triazóis e estrobirulinas, onde são de ação sistêmica e mesostêmica respectivamente, com capacidade de inibr ou de curar doenças fúngicas (SCHEUERMANN, EBERHARDT, 2011).

O produto Bim® 750BR é o fungicida mais utilizado atualmente durante o cultivo do arroz para o controle de fungos. Ele é fabricado pela empresa Dow Agrosciences, tem como principio ativo o Triciclazol (Figura 8) na concentração de 75% (m/m) e pertence ao grupo químico benzotiazol. O seu modo de ação é sistêmico e pode ser utilizado durante o cultivo do arroz ou para o tratamento das sementes (ANEXO 1) .

Figura 8 – Estrutura química do Triciclazol.



Fonte: Google imagem, 2015.

O uso indiscriminado destes fungicidas químicos podem levar os fungos a condições de estresse, levando a produção de compostos secundários tóxicos, como as micotoxinas. Além disso, os fungos têm a tendência de apresentar resistência ao princípio ativo destes compostos, em função da aplicação em concentrações acima do limite estabelecido pela legislação brasileira. Neste contexto, a busca por alternativas, como o uso de biofungicidas de origem natural, microbiana ou vegetal tem se destacado e pode ser utilizada no controle da contaminação fúngica ao longo da cadeia produtiva de cereais (PAGNUSSATT, 2013).

Entre os estudos que comprovaram o efeito antifúngico de compostos naturais, destacam-se a utilização de extratos fenólicos de *Spirulina sp.* no controle de *Fusarium graminearum* (PAGNUSSATT *et al.*, 2014) e *Aspergillus flavus* (SOUZA *et al*., 2011). Outros estudos também avaliaram o potencial antifúngico do extrato de alho, farelo de arroz e cebola na inibição do crescimento de fungos toxigênicos (MARTINS *et al*., 2010; SOUZA *et al*., 2010, PAGNUSSATT, 2013).

3.3.1 *Spirulina sp.*

A *Spirulina* é uma cianobactéria filamentosa, formada por células dispostas ao longo de um filamento em espiral com até 1,0 mm de comprimento. Assim como as plantas verdes superiores, seu metabolismo principal é a fotossíntese, onde a fonte de energia é a luz solar. O componente em maior concentração na biomassa desse micro-organismo é a proteína, que apresenta quantidades variando de 64 a 74%. Lipídeos e carboidratos variam entre 6 a 13% e 12 a 20%, respectivamente (VONSHAK, 1997).

Essa cianobactéria, que apresenta alto conteúdo proteico, também é rica em beta-caroteno, ferro absorvível e tem altos níveis de vitaminas e outros minerais.

Além disso, apresenta vantagem quando comparada com fontes nutricionais de origem vegetal e animal, devido à facilidade e a rapidez com que se reproduzem. Por estes motivos, é utilizada como alimento, pois é considerada um micro-organismo GRAS (“Generaly Recognized as Safe”), que não apresenta toxicidade e, portanto, permitida como suplemento alimentar pela “Food and Drug Administration” (FDA) (AMBROSI, 2009).

Segundo Souza (2012), os fatores físico-químicos e nutricionais limitantes do seu crescimento requerem interesse para o seu estudo, bem como a aplicação de condições de estresse no meio de cultivo. Os estudos justificam-se pelos resultados econômicos que resultam em maior rendimento de biomassa e produção de compostos de interesse específico. Os constituintes necessários para o crescimento celular são: água, fonte de carbono, nitrogênio, fósforo, potássio, magnésio.

O meio padrão para cultivo de *Spirulina* foi desenvolvido por Zarrouk (1996) e fornece entre outros nutrientes, carbono inorgânico na forma de CO_3^{-2} e HCO_3^- que se convertem em CO_2 utilizado na fotossíntese. A temperatura ótima de crescimento é em torno de 35 ºC e, ao contrário de outras cianobactérias, apresenta baixa susceptibilidade à contaminação de seus cultivos por outros micro-organismos devido ao elevado pH em que se desenvolve, sendo este aproximadamente pH 8. Deste modo, os fotobiorreatores para o cultivo podem ser abertos e agitados, sendo geralmente na forma retangular com cantos arredondados (VONSHAK, 1997).

3.3.2 Alho

O alho (*Allium sativum* L.) é uma planta aromática da família das *Alliaceae*, a mesma da cebola. Suas folhas tem formato estreito e alongado, com recobrimento de uma camada de cera. No Brasil, as regiões Sul e Sudeste são as mais propícias para o cultivo, pois a faixa de temperatura para um bom desenvolvimento deve variar entre 13 ºC e 24 ºC. É necessário que a temperatura no inverno reduza para menos de 15 ºC, estimulando a formação do bulbo (EMBRAPA, 1993).

A. sativum L. caracteriza-se por um bulbo arredondado, conhecido como cabeça. Esta, por sua vez, é composta de 10 a 12 bulbinhos (dentes) envoltos por uma casca, que pode ser branca, rosada ou roxa. A partir do bulbo, desenvolve-se um talo, longo e fino e que no seu extremo localiza-se uma flor. Em toda a literatura

é uma das plantas mais citadas para fins medicinais e nos últimos anos foi a segunda mais vendida nos Estados Unidos (SOUZA *et al*., 2010).

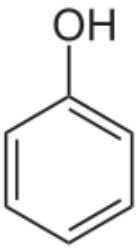
A principal substância que compõe o sabor característico do alho é a dialila dissulfeto que compõe aproximadamente 70% dos compostos voláteis deste produto, além disso apresenta ácidos fenólicos como o ácido caféico, gálico e siríngico (WU; TANG, LIU, 1996). Para Chung (2006), o extrato de alho tem propriedades antioxidantes, em decorrência dos compostos presentes como a aliina, alicina, alil cisteína e dissulfeto dialila. Já para Cavallito e Bailey (1994) a alicina tem princípios antimicrobianos e para Machado, Gutierres e Cross (1948) a garlicina tem as mesmas características.

Curtis *et al*. (2004) verificou a ação antifúngica de extrato de alho contra *Alternaria brassicicola, Botrytis cinerea, Magnaporthe grisea e Plectosphaerella cucumerina (Fusarium tabacinum).* Também foi comprovado este efeito em *A. Flavus* (CURTIS *et al*., 2004), *A. niger* (SOUZA *et al*., 2010), *Phomopsis viticola* e *Elsinoe ampelina* (LEITE *et al*., 2009).

3.3.3 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem anel aromático (Figura 9), com um ou mais grupos substituintes hidroxílicos, incluindo seus derivados funcionais (MALACRIDA, MOTA, 2005). Nas plantas, se apresentam na forma conjugada com um ou mais resíduos de açúcar unidos aos grupos hidroxílicos, ainda que em alguns casos se possam produzir uniões diretas entre uma molécula de açúcar e um carbono aromático (MARTINEZ-VALVERDE; PERIGOSO, ROS, 2000; ANGELO, JORGE, 2007).

Figura 9 – Estrutura básica dos fenóis



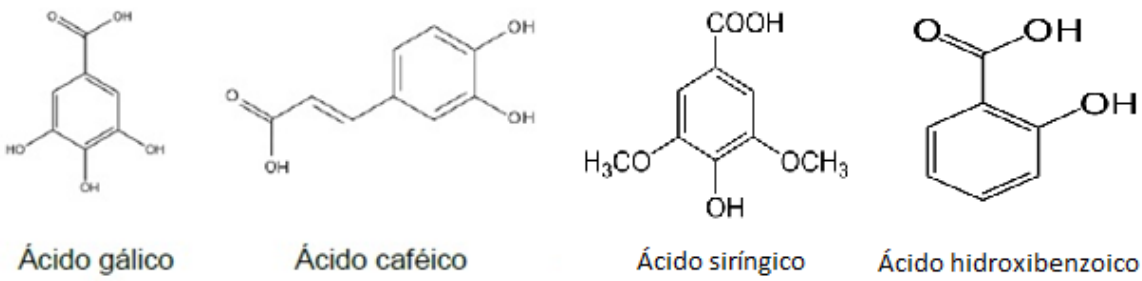
Fonte: Google imagens, 2015.

Os compostos fenólicos podem ser classificados como polímeros, pouco distribuídos na natureza e largamente distribuídos na natureza. Os polímeros são alguns fenólicos que não se apresentam na forma livre nos tecidos vegetais, englobando os taninos e as ligninas. Os fenólicos pouco distribuídos na natureza encontram-se em número reduzido, onde fazem parte os fenóis simples e o pirocatecol, entre outros. Os compostos fenólicos largamente distribuídos na natureza podem se dividir em flavonoides, cumarinas e ácidos fenólicos (KING, YOUNG, 1999; OLIVEIRA, BADIALE-FURLONG, 2008).

Alguns compostos fenólicos podem estar envolvidos no metabolismo primário, durante o desenvolvimento da planta ou quando esta é submetida a condições de estresse (NACZK, SHAHIDI, 2004). Eles exercem papel regulatório no crescimento vegetal e contribuem para a resistência mecânica da parede celular. A atividade antimicrobiana dos compostos fenólicos é indicada pelo seu papel na resistência das plantas a doenças, pois interferem na integridade da membrana celular microbiana (NACZK, SHAHIDI, 2004; MARTINEZ-VALVERDE; PERIOGO, ROS; 2000).

Os compostos fenólicos existentes nas cianobactérias como a *Spirulina* são ácidos orgânicos, como os ácidos caféico, gálico, clorogênico, salicílico, siríngico e hidroxibenzoico (Figura 10). Eles podem apresentar várias atividades biológicas, dentre elas, antioxidante, anti-inflamatória, anticarcinogênica, antibacteriana e antifúngica (SOUZA *et al*., 2011). Além disso, Pagnussatt *et al*. (2014) comprovaram que os ácidos fenólicos de *Spirulina* sp. LEB-18 têm efeito inibitório no crescimento de fungos e produção de micotoxinas, com destaque para o ácido gálico e ácido caféico.

Figura 10 – Estrutura química de alguns ácidos fenólicos encontrados em tecidos vegetais e microbianos.



Fonte: Google imagens, 2015

Em estudo realizado por Ferrochio *et al.* (2013), foi verificado que o ácido ferúlico inibiu o crescimento de espécies de *Fusarium* e a produção de fumonisinas. Extratos obtidos a partir de carotenoides de frutos inibiram o crescimento micelial de *Alternaria alternata* em 39%, sendo uma alternativa promissora para a agricultura como biofungicida (RODRIGUEZ-MATURINO *et al*., 2015).

Em função desses estudos, acredita-se que a aplicação desses compostos bioativos serão capazes também de reduzir o crescimento dos fungos *Bipolaris oryzae* e *Pyricularia grisea* e com isso, reduzir a incidência das doenças que atacam o arroz, sendo um primeiro passo na busca por alternativas ao intenso uso de agrotóxicos, contribuindo também com a segurança alimentar.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

A *Spirulina* sp. LEB-18 foi cultivada pela equipe do Laboratório de Engenharia Bioquímica da FURG, campus Carreiros, em planta piloto com água da Lagoa Mangueira suplementada com 20% (v/v) de meio Zarrouk, referido como meio MLW-S, em tanques revestidos com fibras, agitado por pás, localizados no interior de uma estufa de filme de polietileno transparente. Ao atingirem a concentração de 1 g. L^{-1}, as cianobactérias foram separadas por filtração e a biomassa seca foi moída no laboratório da FURG em Santo Antônio da Patrulha, até a granulometria de 32 mesh para a extração dos compostos fenólicos livres (MORAIS e COSTA, 2007).

Os bulbos de alho (*Allium sativum* L.) foram comprados em comércio local, e secos na temperatura de 60 ºC até a umidade de 13% para a extração dos compostos fenólicos livres (SOUZA *et al*., 2010).

4.2 Extração, quantificação e perfil dos compostos fenólicos

A extração dos compostos fenólicos foi realizada a frio com metanol sob agitação em mesa horizontal a temperatura ambiente (20 ºC), seguida de partição com hexano, clarificação com hidróxido de bário 0,1M e sulfato de zinco 5% e filtração. Os extratos foram secos em rotaevaporador, ressuspensos em água destilada e armazenados à temperatura de refrigeração (7ºC ± 1ºC) até a

quantificação e posterior uso. O conteúdo de fenóis totais de *Spirulina sp.* LEB-18 e alho foi determinado através do método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteau, tendo como padrão ácido gálico, utilizando curva analítica na faixa de concentração entre 55 a 550 $\mu g.mL^{-1}$ (SOUZA *et al*., 2010).

Para a identificação do perfil de compostos fenólicos nos extratos de *Spirulina* e alho foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado ao detector ultravioleta/visível (HPLC-UV/Vis) do Laboratório de Ciência de Alimentos da FURG, campus Carreiros, segundo método previamente elaborado por Scaglioni *et al* (2014). Os padrões cromatográficos utilizados foram: ácido gálico, ácido protocatecóico, ácido clorogênico, ácido hidroxicinâmico, ácido caféico, ácido siríngico, vanilina, ácido cumárico, ácido ferúlico e quercetina, todos da Sigma Chemicals Co. com 98-99% de pureza. O equipamento era composto por coluna de fase reversa C18 (Phenomenex), nas dimensões de 5 µm x 4,6 mm x 250 mm. A eluição foi realizada com fase móvel em gradiente de eluição, contendo metanol e solução aquosa de ácido acético (99:1, v/v), com vazão de 0,7 mL min^{-1}. Para a eluição dos compostos de interesse foram necessários 30 min, nos comprimentos de onda de 280 nm até 15 min e 320 nm até 30 min.

4.3 Micro-organismos utilizados e obtenção dos discos de micélio

Os micro-organismos utilizados neste estudo foram os fungos *Bipolaris oryzae* G22 534 - *IRGA e Pyricularia grisea* 021B - IRGA adquiridos do Instituto Riograndense do Arroz (IRGA). As culturas foram mantidas em ágar batata dextrose (BDA) a 24°C por 9 dias e armazenadas em tubo de ensaio inclinado a 4 ºC.

Para o crescimento dos fungos e obtenção dos discos de micélio, estes com auxilio de eppendorf, os fungos armazenados no tubo de ensaio foram lavados com solução estéril de Tween 80 a 0,2% (v/v), transferidos para placas de petri contendo meio BDA e armazenados a 24 ºC durante 7 dias e 10 dias para *B. Oryzae* e *P.grisea*, respectivamente.

4.3 Atividade antifúngica *in vitro*

O meio de cultura (BDA) foi preparado com os cuidados assépticos usuais em cultivo microbiano. O extrato fenólico de *Spirulina* ou alho, ressuspenso em água destilada, foi filtrado em membrana estéril (Unifil, tamanho de poro 25 µm). As concentrações de ambos os extratos de antifúngicos foram de 40%, 30%, 20%, 10%, 5% e 2,5% (v/v) em relação ao meio de cultura, para os dois fungos. A mistura de extrato e de meio de cultura foi vertida em placas de Petri, na temperatura entre 35-40 ºC, totalizando um volume de 20 mL por placa de 10 cm de diâmetro.

Nas placas controle, os extratos foram substituídos pela mesma quantidade de água estéril, que foi adicionada ao meio de cultura. Após a solidificação, foram adicionados ao centro das placas um disco de micélio (aproximadamente 1 cm de diâmetro), seguindo-se a incubação em câmara para crescimento, a 24 ºC por 9 e 12 dias para *B.oryzae* e *P.grisea*, respectivamente (PAGNUSSATT *et al*., 2014). Durante o desenvolvimento dos fungos, foram efetuadas a cada 48 horas, medições ortogonais dos diâmetros das colônias com auxílio de um paquímetro. A inibição foi avaliada pela observação visual do crescimento do micélio, comparada com placas controle, em quintuplicata (SOUZA; ARAUJO e NASCIMENTO, 2007). A porcentagem de inibição foi calculada de acordo com Nguefack *et al*. (2004), conforme a Equação 1:

$$\text{Inibição} = 100 \times (\text{halo controle} - (\text{halo tratamento}/\text{halo controle})) \quad (1)$$

Após a avaliação do efeito inibitório causado pela aplicação dos fungicidas naturais, foi realizada a comparação com o fungicida Bim® 750BR (ANEXO I). Para a preparação das soluções (m/v) do fungicida sintético, foi levado em consideração a quantidade de compostos fenólicos totais de *Spirulina* e alho. Com as soluções nas concentrações de 325,71 $\mu g.ml^{-1}$ e 113,14 $\mu g.ml^{-1}$ contendo o fungicida sintético, o experimento foi conduzido conforme a descrição no item 4.3, para as concentrações de 40%, 30%, 20%, 10%, 5% e 2,5% (v/v). O indicativo de inibição avaliado também foi o crescimento micelial.

A taxa de crescimento micelial foi obtida através da relação entre o crescimento do fungo (cm) e o tempo (dias). Já a concentração inibitória (IC_{80}) foi

considerada como a concentração de extrato fenólico necessária para inibir 80% o crescimento fúngico, comparado com as placas controle.

4.4 Análise de custos de matérias-primas

A análise de custos da matéria-prima foi realizada obtendo-se os valores gastos para produzir 1 litro de extrato fenólico de *Spirulina* sp. e alho.

4.5 Análise Estatística

Para a avaliação dos resultados, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) dos dados, e foi aplicado o teste de Tukey com 95% de confiança para comparação das médias.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

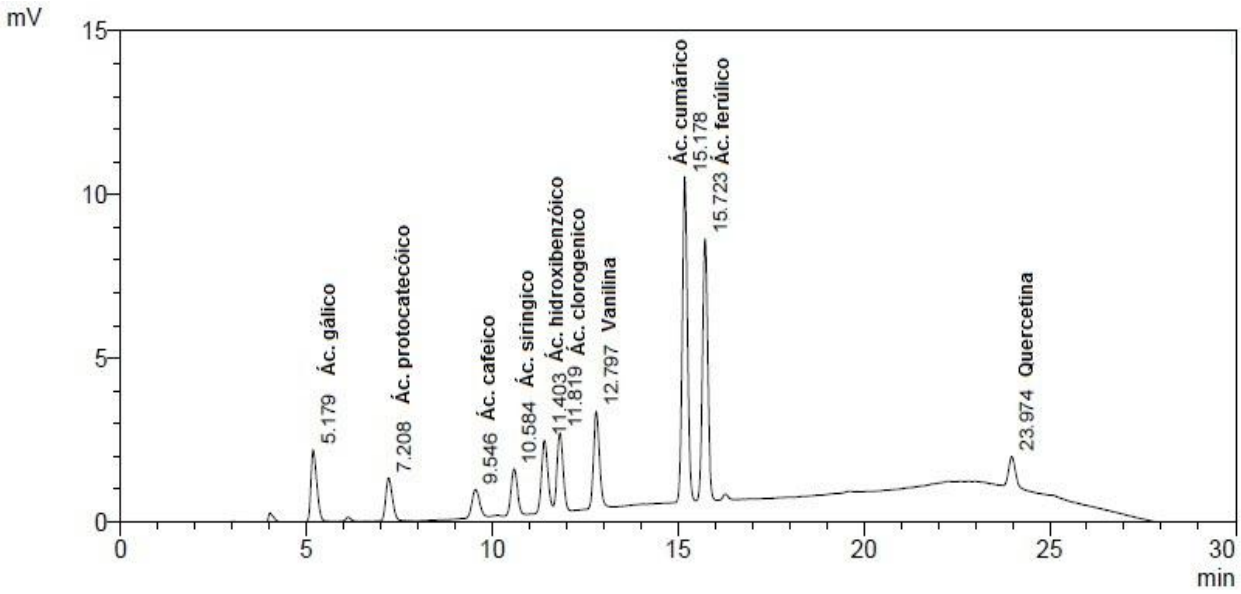
5.1 Caracterização dos compostos fenólicos extraídos de *Spirulina sp*. LEB-18 e alho

Diversos pesquisadores vêm trabalhando na separação, identificação, quantificação e aplicação dos compostos fenólicos em alimentos, enfrentando muitos problemas metodológicos, pois, além de englobarem uma gama enorme de substâncias, são, na maioria das vezes, de grande polaridade, muito reativos e susceptíveis à ação de enzimas (AGUIAR *et al*., 2007). Outro aspecto importante no desenvolvimento de métodos de quantificação de compostos fenólicos é a dificuldade de se encontrar um padrão específico e conveniente, devido à complexidade das substâncias fenólicas presentes nos alimentos e as diferenças de reatividade entre estas substâncias e os reagentes (ANGELO e JORGE, 2007).

Em função da disponibilidade do padrão de ácido gálico e de trabalhos que reportam o uso desse composto na análise espectrofotométrica (DA SILVA, MORETTI; MATTOS, 2010; SOUZA *et al*., 2011), este foi escolhido para a obtenção da curva padrão necessária para a quantificação do teor de fenóis totais nas amostras. O teor de compostos fenólicos totais encontrado nas amostras de alho e *Spirulina sp*. foi de 0,47 $mg.g^{-1}$ (113,14 $\mu g.ml^{-1}$) e 1,36 $mg.g^{-1}$ (325,71 $\mu g.ml^{-1}$) respectivamente. Esses valores foram utilizados como referência para a determinação das concentrações aplicadas nos ensaios de inibição do crescimento dos fungos estudados.

Os mesmos extratos que foram quantificados em espectrofotômetro foram analisados quanto ao perfil de ácidos fenólicos, em HPLC-UV e comparados com o cromatograma dos padrões (Figura 11). Os ácidos fenólicos são divididos em três grupos. O primeiro é composto pelos ácidos benzóicos, que possuem sete átomos de carbono e são os ácidos mais simples e abundantes encontrados na natureza, como o ácido siríngico, ácido gálico e ácido hidroxibenzóico. O segundo grupo é formado pelos ácidos cinâmicos, onde inclue-se o ácido caféico e ácido ferúlico. As cumarinas compreendem o terceiro grupo e são derivadas do ácido cinâmico (SOARES, 2002).

Figura 11 - Cromatograma dos padrões de compostos fenólicos quantificados por HPLC com coluna de fase reversa e detector UV.



Os componentes do extrato fenólico de alho e *Spirulina* separados e quantificados cromatograficamente neste trabalho estão apresentados na Tabela 1. O somatório dos ácidos fenólicos identificados no extrato de alho foi de 46,20 $\mu g.g^{-1}$, sendo o componente majoritário identificado como ácido siríngico, seguidos dos ácidos caféico e gálico, representando 41%, 34% e 10% da soma total de ácidos fenólicos encontrados na amostra, respectivamente.

Tabela 1 - Compostos fenólicos presentes nas amostras de alho e *Spirulina sp.* LEB-18

Composto fenólico	Extrato de alho ($\mu g.g^{-1}$)	Extrato de *Spirulina* ($\mu g.g^{-1}$)
Ácido gálico	4,60	2,27
Ácido protocatecóico	3,88	3,25
Ácido clorogênico	ND	ND
Ácido hidróxibenzóico	3,00	6,10
Ácido caféico	15,65	68,30
Ácido siríngico	18,78	56,16
Vanilina	ND	<LQ
Ácido cumárico	0,29	0,22
Ácido ferúlico	ND	ND
Quercetina	ND	ND

ND: não detecado. <LQ: abaixo do limite de quantificação do método.

A *Spirulina sp*. LEB-18 apresentou um teor de ácidos fenólicos de 136,30 $\mu g.g^{-1}$, com predominância dos ácidos caféico (50%) e siríngico (41%). Esses resultados diferem dos valores encontrados em estudo anterior, onde foram identificadas as presenças de ácido gálico e ácido caféico em quantidades que perfazem o valor de 770 $\mu g.g^{-1}$ (PAGNUSSATT *et al*., 2014). Esse fato pode ser atribuído às condições de cultivo da cianobactéria, já que estudos comprovaram a variação da produção desses compostos secundários, de acordo com as alterações climáticas. Cabe ressaltar que o cultivo é realizado nas quatro estações do ano, em condições não controladas de temperatura e luminosidade (MORAIS e COSTA, 2007).

Os resultados para os extratos de alho e *Spirulina* quantificados em espectrofotômetro foram 10 vezes maiores do que os obtidos em HPLC-UV. Isso pode ter ocorrido porque no espectrofotômetro foram quantificados os fenóis totais e no HPLC-UV foram quantificados os ácidos fenólicos, que são um dos grupos dos compostos fenólicos totais (MIRA *et al*., 2008). Além disso, a ocorrência de compostos que podem absorver no mesmo comprimento de onda de quantificação dos ácidos fenólicos pode ter contribuído para os maiores valores encontrados na quantificação espectrofotométrica. A presença de outros compostos redutores do reagente de Folin Ciocalteau, além dos fenóis, é também uma possível explicação, pois a reação de Folin é inespecífica. Outro ponto importante é que no método cromatográfico utilizado, os padrões de ácido salicílico e ácido trans-cinâmico, que podem estar presentes nas amostras, não foram utilizados.

5.2 Inibição do crescimento de *Bipolaris Oryzae*

A partir dos dados do halo de crescimento micelial nas placas com ausência (controle) e presença dos antifúngicos naturais em 6 concentrações, foi possível observar o comportamento do fungo (Tabela 2).

Tabela 2 – Crescimento micelial (cm) e inibição (%) do fungo *B.oryzae* após 9 dias de incubação em ausência (controle) e presença de extrato fenólico de *Spirulina* e alho.

Experimento	**Crescimento (cm)**					
	40%	**30%**	**20%**	**10%**	**5%**	**2,5%**
Controle	$6,0^{a,A}$ ± 0,4	$6,3^{a,A}$ ± 0,4	$6,6^{a,A}$ ± 0,4	$7,9^{a,B}$ ± 0,1	$7,9^{a,B}$ ± 0,1	$7,9^{a,B}$ ± 0,1
Spirulina	$0,2^{b,D}$ ± 0,1	$0,5^{b,C,D}$ ± 0,1	$0,8^{b,C}$ ± 0,2	$2,6^{c,A}$ ± 0,1	$2,0^{b,B}$ ± 0,3	$3,0^{b,A}$ ± 0,4
Alho	$0,1^{b,D}$ ±0 ,04	$0,3^{b,C}$ ± 0,1	$0,6^{b,C}$ ± 0,2	$7,5^{b,B}$ ± 0,3	$7,8^{a,A}$ ± 0,1	$7,9^{a,A}$ ± 0,1
Experimento	**Inibição (%)**					
	40%	**30%**	**20%**	**10%**	**5%**	**2,5%**
Spirulina	96 ± 1,1	92 ± 2,4	88 ± 2,6	68 ± 2,6	75 ± 3,7	62 ± 5,5
Alho	97 ± 0,6	95 ± 1,5	91 ± 3,3	6 ± 3,3	2 ± 2,7	0 ± 2,1

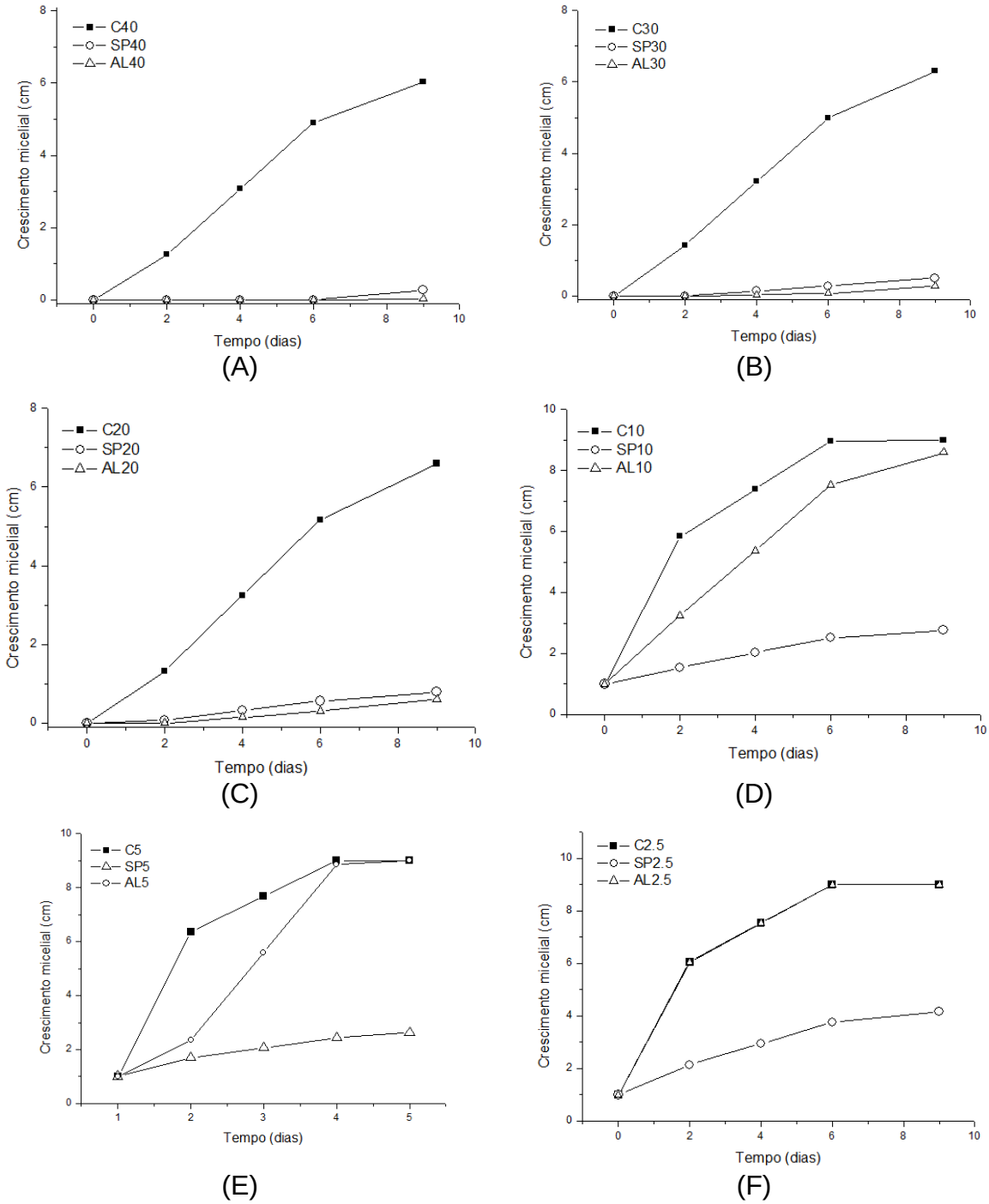
Resultados representam a média de cinco medições± desvio padrão. Letras minúsculas na mesma coluna indicam que houve diferença significativa entre as médias a 95% de confiança. Letras maiúsculas na mesma linha indicam que houve diferença significativa entre as médias a 95% de confiança.

O fungo *B. oryzae*, causador da mancha parda em grãos de arroz, apresentou uma taxa de crescimento micelial média de 1,02 $cm.dia^{-1}$ nos experimentos controle. Nas mesmas condições, as taxas de crescimento micelial em presença de diferentes concentrações de extrato fenólico de *Spirulina* sp. LEB-18 e de alho foram em média de 0,21 $cm.dia^{-1}$ e 0,63 $cm.dia^{-1}$, respectivamente (Figura 12).

O percentual de inibição fúngica em presença dos compostos fenólicos em diferentes concentrações está apresentado na Tabela 2. Pode-se observar que para placas com extrato fenólico de *Spirulina* houve inibição superior a 60% em todas as concentrações, com destaque para a maior concentração de antifúngico utilizada, com inibição de 96%. Para o extrato de alho, as duas maiores concentrações (40% e 30%), obtiveram inibição superior a 95%. Esses resultados estão de acordo com Zanandrea *et al*. (2004), que verificaram inibição máxima de 81% contra o crescimento de *B. oryzae* ao utilizar a maior concentração de óleo essencial de orégano. A maior inibição causada pelo extrato de alho, nas maiores concentrações testadas, pode ser explicada em função da presença de alicina e de compostos voláteis que podem ter sido liberados durante os ensaios de atividade antifúngica (FRENCH, 1992). Segundo Kubota *et al*. (1999), as substâncias que representam os compostos voláteis no alho contem enxofre e um grupo alil, particularmente dialil sulfeto, que é sulfito mais abundante. Além disso, a presença de ácido siríngico pode ter auxiliado no efeito antifúngico. Segundo Soares (2002), a presença de dois

grupos metoxila nesse ácido é a provável causa da sua ação antioxidante. Oliveira e Badiale-Furlong (2008) e Bemvenuti (2014) relataram que compostos antioxidantes presentes em farelo de arroz e semente de nim podem atuar como antifúngicos naturais. Dessa forma, acredita-se que a presença desses compostos auxiliou na atividade antifúngica dos extratos de alho contra *B.oryzae*.

Figura 12 - Crescimento micelial (cm) de *B.oryzae* das placas controle (C), com extrato de *Spirulina* (SP) e alho (AL) nas concentrações de 40% (A), 30% (B), 20% (C), 10% (D), 5% (E) e 2,5% (F).



Todos os fungos presentes nas placas com extrato fenólico de *Spirulina sp*. tiveram seu crescimento significativamente reduzido em relação às placas controle. Para as placas com extrato de alho, apenas as concentrações de 5% e 2,5% não apresentaram redução significativa do crescimento, quando comparado com as placas controle (Tabela 2 e Figura 13).

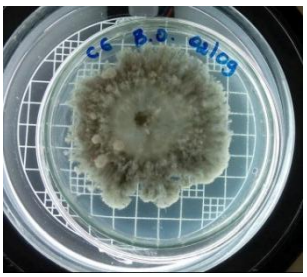
Apesar do extrato de alho apresentar um teor de compostos fenólicos totais inferior ao extrato fenólico de *Spirulina*, sua ação antifúngica foi semelhante quando utilizado em maior concentração. Para menores concentrações, o teor de compostos fenólicos totais da *Spirulina* foi mais eficiente. Sabe-se que o extrato de *Spirulina* possui ácidos fenólicos como constituintes majoritários e que o efeito sinergístico desses compostos é a indicativa provável da sua atividade antifúngica (PAGNUSSATT *et al*., 2014).

Em um estudo realizado com a borra do café na inibição do crescimento de *B. oryzae*, os resultados não foram satisfatórios. Isso pode ser explicado pelo fato de que os autores utilizaram apenas 20 µL do extrato que foi diluída no meio de cultura (SILVA *et al*., 2015) Além disso, os autores afirmam que a metodologia utilizada para a obtenção do extrato pode ter sido insuficiente para que os compostos de interesse pudessem ser extraídos de forma eficiente. Sendo assim, outras métodos de extração de compostos bioativos de fontes alternativas, como alho e *Spirulina*, podem auxiliar nos estudos fitoquímicos voltados para a obtenção de compostos inibidores do crescimento de fungos.

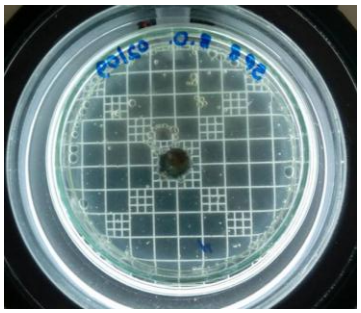
Com base nos resultados, foi possível determinar os valores de IC_{80} referente aos dois extratos. Dessa forma, a concentração de 20% de extrato fenólico de alho ou *Spirulina*, seria suficiente para inibir 80% o crescimento micelial de *B. oryzae.*

O método mais viável para o controle de fungos seria o desenvolvimento de cultivares resistentes à doenças, por ser mais econômico e efetivo. No entanto, o controle com fungicidas é uma das alternativas mais empregadas na cultura do arroz irrigado (BALARDIN; BORN, 2001). Os fungicidas sintéticos são responsáveis pela redução da incidência e severidade de doenças como a mancha parda. Em um estudo realizado por Stefanello *et al*. (2012), foi verificado que o uso combinado dos princípios ativos da classe triciclazol, tebuconazole e trifloxistrobina aplicados de forma combinada foram mais eficientes e proporcionaram um aumento da produtividade de arroz, em relação ao experimento testemunha.

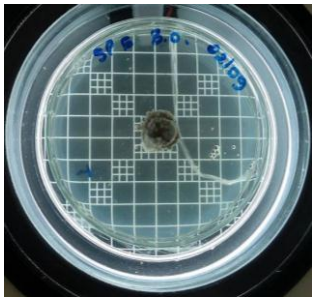
Figura 13 - Halos no 9º dia de crescimento de *B.oryzae* nos meios controle, contendo diferentes concentrações de extrato fenólico de *Spirulina* e concentrações decrescentes de extrato fenólico de alho.



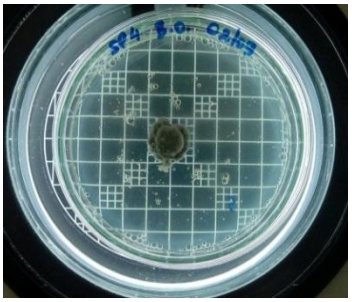
Controle



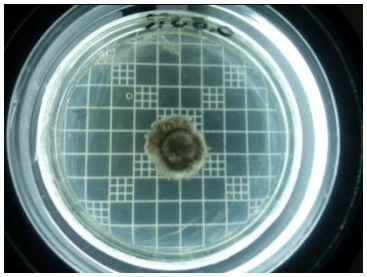
Spirulina 40%



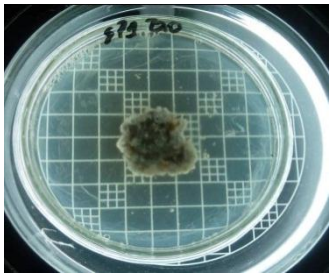
Spirulina 30%



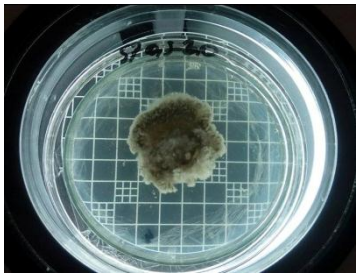
Spirulina 20%



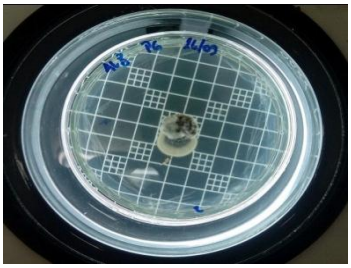
Spirulina 10%



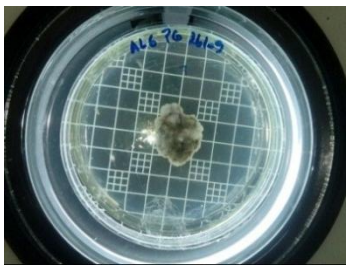
Spirulina 5%



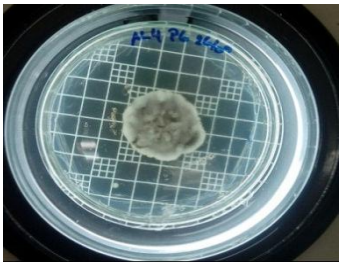
Spirulina 2,5%



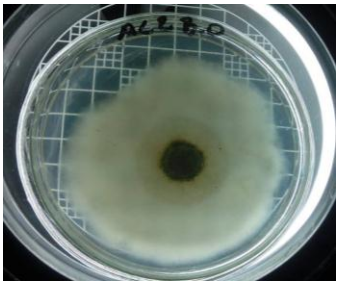
Alho 40%



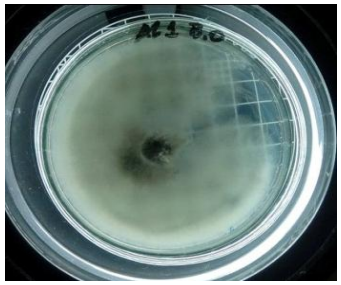
Alho 30%



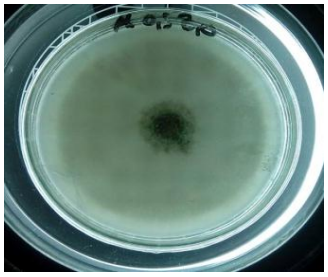
Alho 20%



Alho 10%



Alho 5%

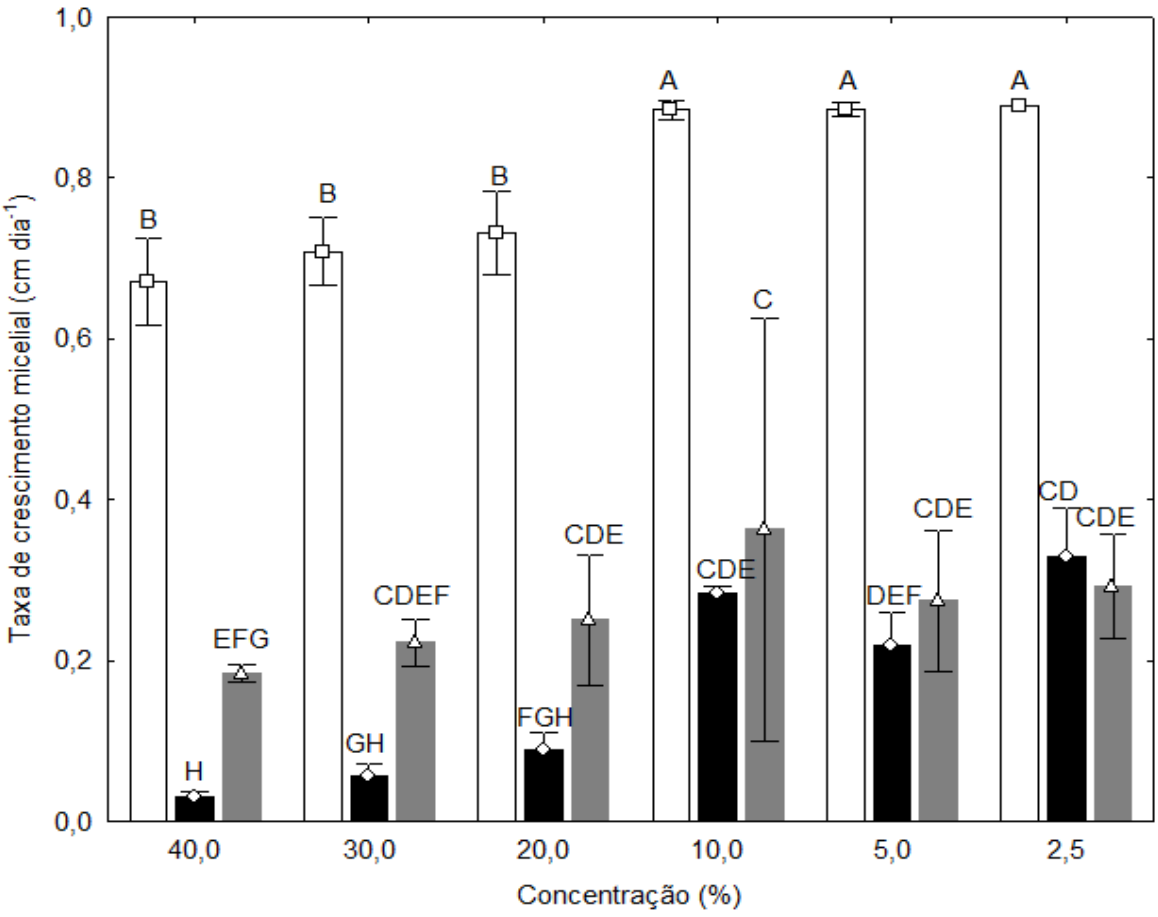


Alho 2,5%

Com os resultados obtidos na comparação do crescimento micelial de *B. oryzae* na presença do produto Bim® 750BR e extrato de *Spirulina* (Figura 14), pode-se afirmar que ambos tem capacidade inibitória em todas as concentrações. Além disso, o extrato de *Spirulina* tem efeito antifúngico significativamente melhor que o produto sintético para concentrações maiores que 20%, sendo em média 20% mais eficiente. Isso pode estar relacionado ao perfil de ácidos fenólicos presentes nesse extrato, cujo princípio ativo foi mais eficiente.

Entretanto, avaliando os resultados da comparação micelial do fungo na presença de Bim® 750BR e extrato de alho (Figura 15), foi possível visualizar que o produto sintético tem poder inibitório para todas as concentrações, enquanto que o extrato de alho reduziu o crescimento micelial para concentrações de 30% e 20%, sendo ainda mais eficientes do que o fungicida sintético.

Figura 14 - Taxa de crescimento micelial (cm dia^{-1}) para *B.oryzae* nos experimentos controle ( ) e com adição de diferentes concentrações de extrato de *Spirulina* ( ) ou BIM ( ).

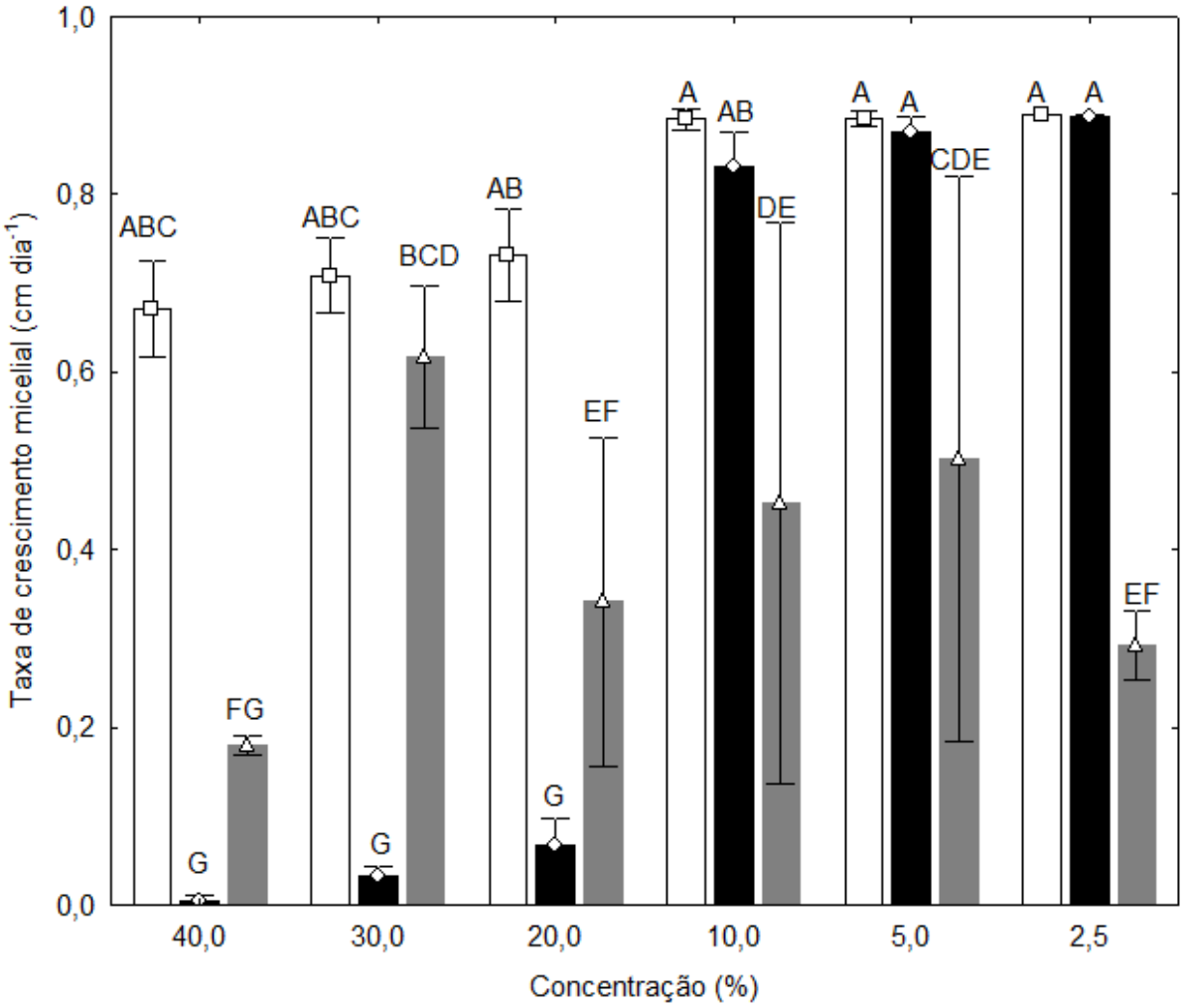


Contudo, muitos fatores ainda devem ser estudados, tais como o principio ativo mais eficaz e que ocasiona menor dano ao meio ambiente e à população, em

função do seu residual tóxico. Nesse contexto, Santos (2014), justifica o estudo dessas alternativas, citando que os trabalhadores rurais são expostos diariamente aos princípios ativos dos produtos sintéticos, levando a riscos de contaminação. Além disso, o uso indiscriminado destes compostos leva a problemas de contaminação do solo e água.

Em função da contaminação residual dos fungicidas citados anteriormente e da falta de estudos sobre alternativas naturais para o controle deste patógeno, este trabalho buscou preencher uma lacuna e gerar alternativas para o problema do uso excessivo de agrotóxicos.

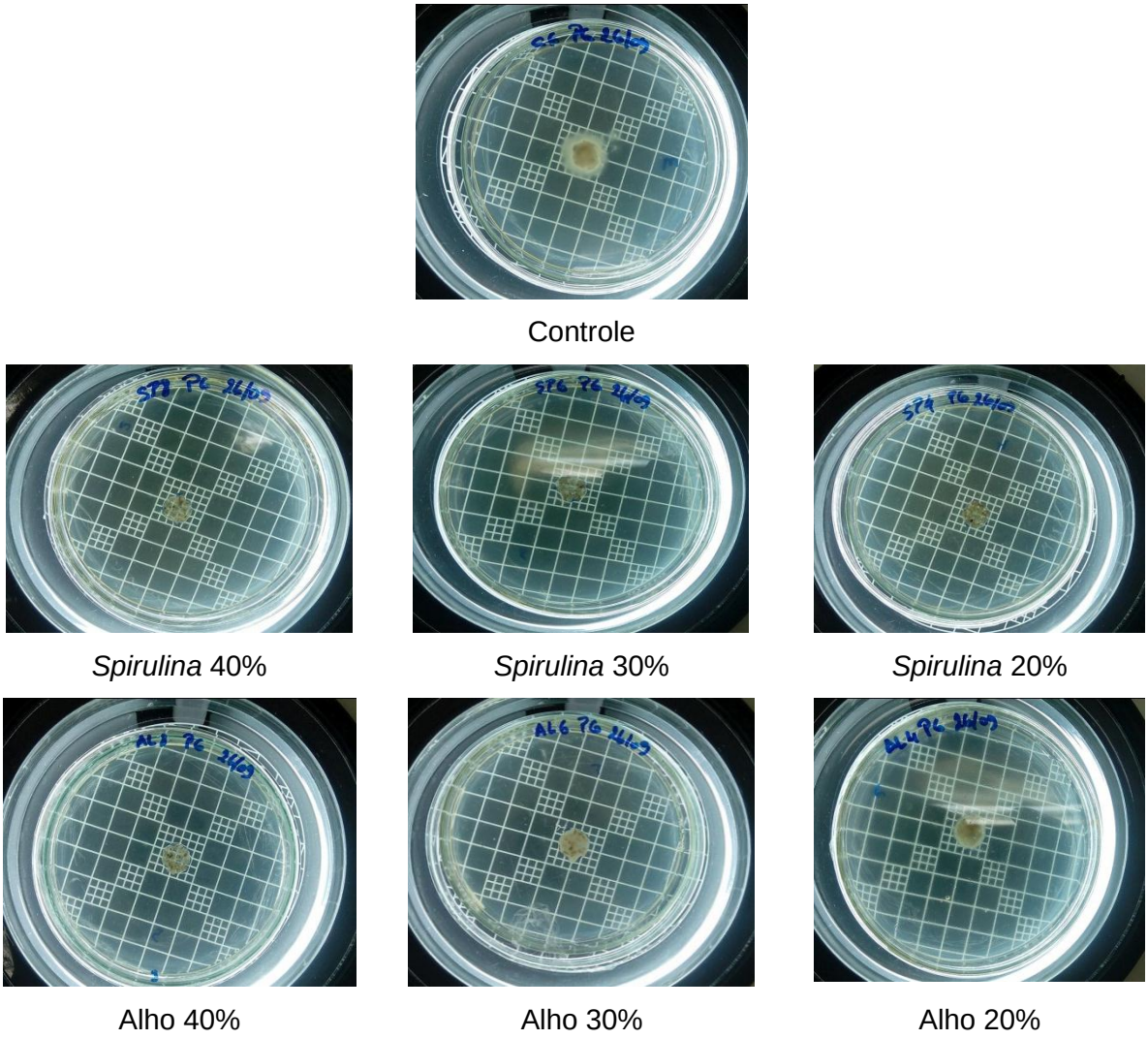
Figura 15 - Taxa de crescimento micelial (cm dia^{-1}) para *B.oryzae* nos experimentos controle (□) e com adição de diferentes concentrações de extrato de alho (◆) ou BIM (△).



5.3 Inibição do crescimento de *Pyricularia grisea*

A partir do 2º dia de cultivo, o halo proveniente da cultura de *P.grisea* já indicava que, ao aumentar a concentração dos antifúngicos naturais de origem fenólica, ocorria uma diminuição do micélio (Figura 16).

Figura 16 - Halos no 2º dia de crescimento de *P. grisea* nos meios controle, contendo diferentes concentrações de extrato fenólico de *Spirulina* e de extrato fenólico de alho.



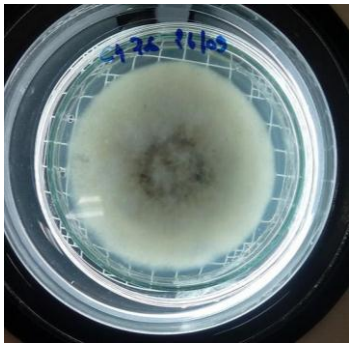
Controle

Spirulina 40% | *Spirulina* 30% | *Spirulina* 20%

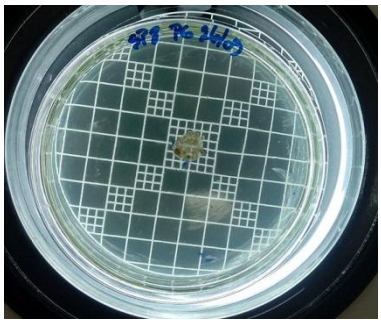
Alho 40% | Alho 30% | Alho 20%

No 11º dia (Figura 17), os antifúngicos obtidos da *Spirulina* ainda impediam que o fungo iniciasse a fase exponencial de crescimento, independente da concentração utilizada. Nos extratos de alho, observou-se, visualmente, uma relação diretamente proporcional entre a concentração de extrato e a capacidade inibitória.

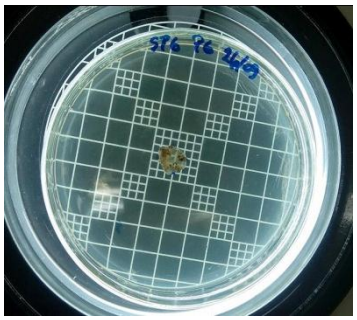
Figura 17 - Halos no 11º dia de crescimento de *P. grisea* nos meios controle, contendo diferentes concentrações de extrato fenólico de *Spirulina sp.* e de extrato fenólico de alho.



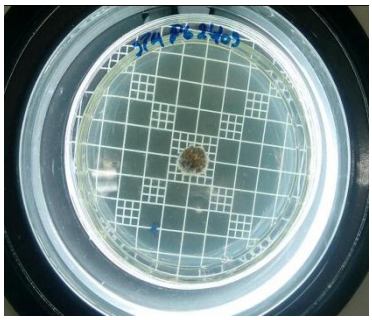
Controle



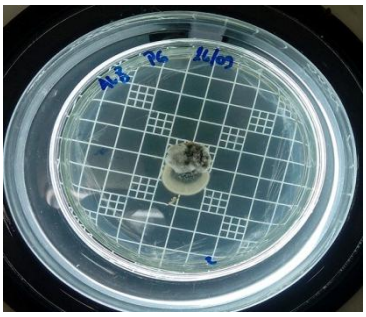
Spirulina 40%



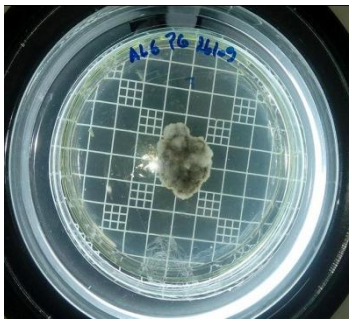
Spirulina 30%



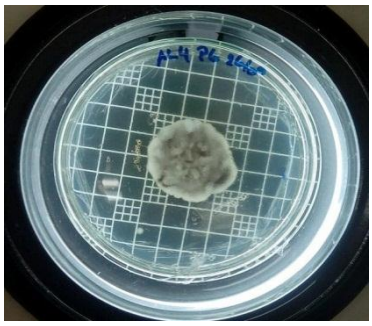
Spirulina 20%



Alho 40%



Alho 30%



Alho 20%

O crescimento micelial do fungo *P.grisea* nas placas controle foi, em média, de 6,8 cm. Ao utilizar os extratos de alho e *Spirulina,* foi observado um crescimento micelial lento, atingindo valor máximo de 2,5 cm e 0,1 cm, respectivamente, após 11 dias de experimento, na menor concentração testada. O extrato fenólico de *Spirulina* apresentou efeito fungicida nas concentrações de 40% e 30% (Tabela 3 e Figura 18). Já os extratos fenólicos de alho apresentaram efeito fungistático para todas as concentrações testadas, com base no crescimento micelial do fungo.

Muitos trabalhos utilizam o halo como uma forma quantitativa de medir o desenvolvimento fúngico (SHUKLA *et al*., 2012). Porém, medir também os compostos estruturais do fungo, como glicosamina e ergosterol propiciam melhores

subsídios para o entendimento do mecanismo de ação do antifúngico natural e, consequentemente, para sua melhor aplicação na prevenção da contaminação fúngica em diferentes pontos da cadeia produtiva de alimentos. Sendo assim, identificar o mecanismo de inibição é uma etapa importante para auxiliar no entendimento do modo de ação desses compostos naturais e será realizada em estudos posteriores.

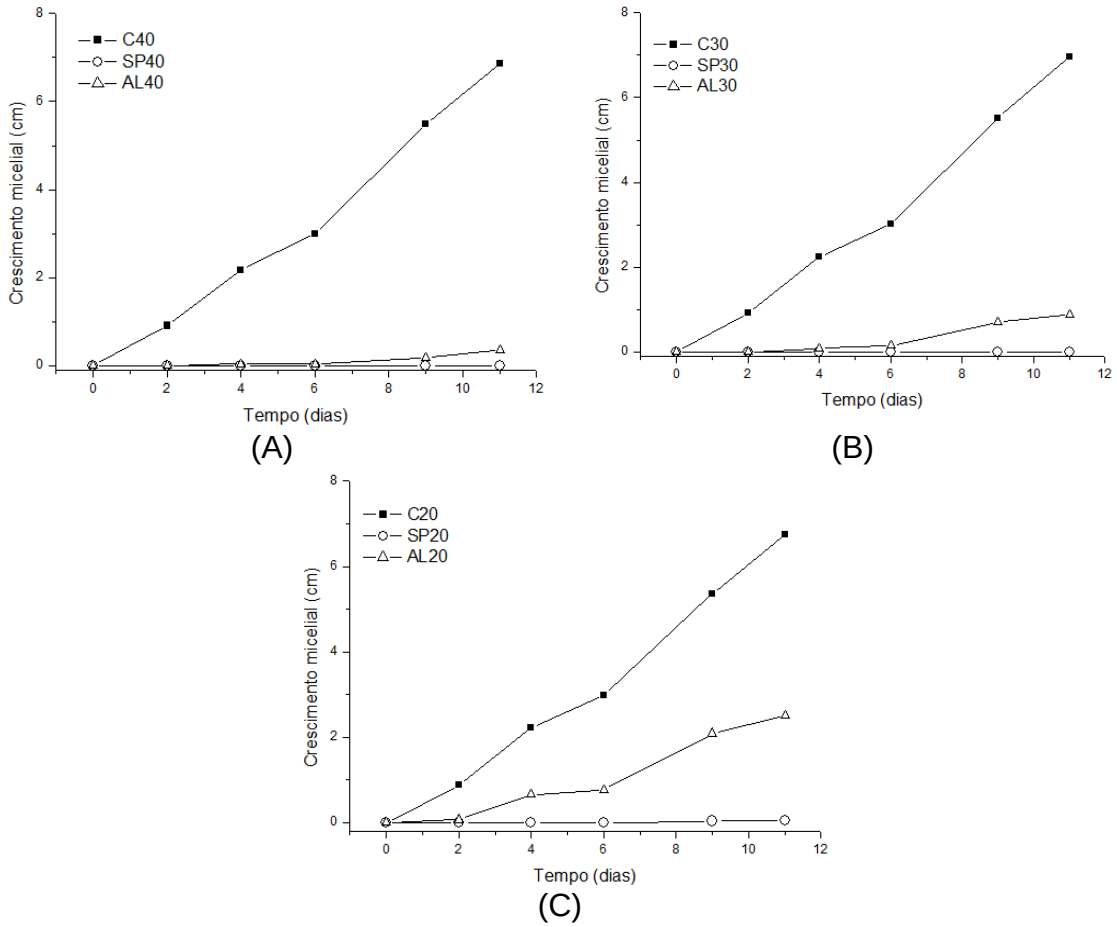
Tabela 3 – Crescimento micelial (cm) e inibição de *P. grisea* em ausência (controle) e presença de extrato fenólico de *Spirulina* e alho, após 11 dias de cultivo.

Experimento	**Crescimento (cm)**		
	40%	**30%**	**20%**
Controle	$6,9^{a,A} \pm 0,2$	$6,9^{a,A} \pm 0,3$	$6,7^{a,A} \pm 0,3$
Spirulina	$0^{c,D}$	$0^{c,D}$	$0,1^{c,D} \pm 0,1$
Alho	$0,3^{b,C} \pm 0,1$	$0,9^{b,C} \pm 0,4$	$2,5^{b,B} \pm 0,5$
Experimento	**Inibição (%)**		
	40%	**30%**	**20%**
Spirulina	100 ± 0,0	100 ± 0,0	99 ± 0,7
Alho	95 ± 0,2	87 ± 5,7	63 ± 6,2

Resultados representam a média de cinco medições± desvio padrão. Letras minúsculas na mesma coluna indicam que houve diferença significativa entre as médias a 95% de confiança. Letras maiúsculas entre linhas indicam que houve diferença significativa entre as médias a 95% de confiança.

Os valores da concentração inibitória necessária para inibir no mínimo 80% do crescimento micelial (IC_{80}) foram estimados com base nos resultados experimentais obtidos. Dessa forma, recomenda-se aplicar uma concentração de 30% de extrato fenólico de alho (v/v) ou 20% de extrato fenólico de *Spirulina* (v/v) para obter o efeito fungistático desejado contra o crescimento micelial de *P.grisea*. Embora os resultados obtidos *in vitro* sejam favoráveis ao emprego de compostos fenólicos no controle de fungos como *P.grisea*, estudos futuros, desenvolvidos a campo e utilizando diferentes concentrações do fungicida natural são necessários para a avaliação da fungitoxicidade do composto *in vivo*.

Figura 18 - Crescimento micelial (cm) de *P.grisea* das placas controle (C), com extrato de *Spirulina* (SP) e alho (AL) nas concentrações de 40% (A), 30% (B) e 20% (C).



Inibição total do crescimento de *P.grisea* foi obtida com sucesso ao utilizar um detergente derivado de óleo de mamona, na maior concentração utilizada nos ensaios, com valor de 200 mL L^{-1} (TAKANO *et al*. 2007). A literatura científica também relata a ação danosa de *P.grisea* contra a cultura de outros grãos, que foi capaz de ocasionar uma redução de 10,5% do rendimento dos grãos de trigo em um ensaio realizado na Embrapa Agropecuária Oeste (GOULART, SOUSA e URASHIMA, 2007).

De acordo com Rodriguez-Maturino *et al.* (2015), o uso de extratos fenólicos de frutos foi capaz de inibir 38,5% o crescimento de *Alternaria alternata* após 5 dias de experimento, sugerindo que os compostos fenólicos possam interagir com a parede celular do fungo, inibindo algumas enzimas que afetariam a germinação e o crescimento do micélio.

Segundo Castro *et.al* (2004), se atribui aos compostos fenólicos a capacidade de inibir a síntese de aminoácidos, atuando na rota do ácido chiquímico, resultando

na impossibilidade do fosfoenolpiruvato e da eritrose-4-fosfato produzirem ácido chiquímico, seguido da formação de triptofano, ou ainda, podem impedir a produção de fenilalanina ou tirosina, através da via do ácido prefênico. Dessa forma, acredita-se que o extrato fenólico atua como inibidor direto do catabolismo ou ainda, pode impossibilitar a produção de enzimas necessárias durante a síntese de proteínas. Nesse caso, um estudo voltado para o entendimento dos pontos das rotas metabólicas que são inibidas, como parede celular, membrana celular ou síntese enzimática é o próximo passo para um melhor entendimento da ação inibitória destes compostos.

Os experimentos com as menores concentrações dos extratos fenólicos e a comparação com o fungicida sintético não foi desenvolvida em função da dificuldade encontrada em realizar o cultivo desse fungo sem a contaminação com outros micro-organismos. No entanto, pretende-se continuar as tentativas e obter os resultados que serão anexados posteriormente.

5.4 Estimativa de custos de matérias primas

A análise de custos com as matérias-primas necessárias para a produção dos fungicidas naturais foi estimada, com o intuito de comparar os valores entre si. O custo total das matérias primas para produção de 1 L de extrato fenólico de *Spirulina* e alho foi de aproximadamente R$ 36,00 e R$ 15,80, respectivamente. Em função dos valores expostos acima e da crescente demanda para o cultivo de produtos orgânicos e que causem menor impacto ambiental, o extrato fenólico obtido de alho pode ser uma fonte viável do ponto de vista tecnológico e econômico para uso como fungicida natural durante o cultivo de arroz.

6 CONCLUSÃO

Os dois extratos fenólicos, nas concentrações de 40%, 30% e 20% (v/v), apresentaram elevada atividade inibitória contra os fungos estudados.

O extrato fenólico de *Spirulina* apresentou efeito fungicida ao ser aplicado na maior concentração contra *P.grisea*; enquanto que o extrato fenólico de alho inibiu, em média, 96% o crescimento micelial dos dois micro-organismos na mesma condição testada, indicando um efeito fungistático.

A comparação entre o fungicida natural de *Spirulina* e o fungicida sintético permitiu verificar que o maior efeito inibidor para *B. oryzae* foi obtido ao usar extrato fenólico, com valor médio de 80%, contra 67% do BIM.

O extrato fenólico de alho foi mais eficiente do que o BIM, nas concentrações de 30% e 20%. Nas concentrações menores que 10% de extrato fenólico de alho (v/v), não houve atividade inibitória, enquanto que o BIM inibiu em média 63% o crescimento fúngico.

Sendo assim, os extratos fenólicos utilizados mostraram-se boas alternativas para o controle das doenças mancha parda e brusone. Dessa forma, recomenda-se a aplicação de uma concentração de, no mínimo, 20% (v/v) de antifúngico natural em ensaios futuros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; TSAI, S. M.; PARK, Y. K. Transformações enzimáticas de flavonóides. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos,** v. 25, n. 1, p. 61-76, 2007.

AMBROSI, M. A. *et al*. Propriedades de saúde de Spirulina spp. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 109-117, 2009.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz.,** v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

BALARDIN, R. S.; BORIN, R. C. **Doenças na cultura do arroz irrigado**. Santa Maria: UFSM. p. 48, 2001.

BEMVENUTI, R. H. **Inibição de linhagens do complexo Fusarium graminearum por compostos naturais.** Tese (Doutourado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2014

CARDOSO, C. O. N.; KIMATI, II. Doenças do arroz - *Oryza sativa* L. Ia: GALLI, E. Coord. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Cercs, 1997.

CASTRO, E. M. *et al*. **Qualidade de Grãos em Arroz.** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999, 30 p.

CASTRO, H. G. *et al.* **Contribuição ao estudo das plantas medicinais. Metabólitos secundários**. 2ª. Edição. Viçosa: Visconde do Rio Branco, 2004.

CAVALLITO, C. J., BAILEY, J. H. Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum.* L.: isolation, physical properties and bacterial action. **Journal of the American Chemical Society***,* v. 66, p. 1950-1951, 1994.

CHANG, T. T.; BARDENAS, E. A. **The morphology and varietal characteristics of the rice plant**. Los Baños, IRRI, 1965. 40 p.

CHUNG, L. Y. As propriedades antioxidantes dos compostos do alho: alil cisteina, aliina, alicina e dissulfeto de alil. **Journal of Medicinal Food**, v. 9, n.2, p. 205-213, 2006.

COLLA, L. M.; BADIALE-FURLONG, E.; COSTA, J.A.V. Antioxidant Properties of *Spirulina (Arthospira) platensis* Cultivated Under Different Temperatures and Nitrogen Regimes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, n. 1, p. 161-167, 2007.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento . **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**: Safra 2013/14, n. 5 – Quinto Levantamento**.** Brasília: Conab, 2015.

CORRÊA, C. L. **Sobrevivência de *Bipolaris oryzae* em sementes de arroz armazenadas sob duas condições ambientais**. 2006. 36F. Dissertação (Mestrado) – Ciência e Tecnologia de Sementes. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2006.

CURTIS, H. *et al*. Broad-spectrum activity of the volatile phytoanticipin allicin in extracts of garlic (*Allium sativum* L.) against plant pathogenic bacteria, fungi and Oomycetes. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 65, n. 2, p. 79-89, 2004.

DA SILVA, E. Y. Y; MORETTI, C. L; MATTOS, L. M. Compostos funcionais presentes em bulbilhos de alhos armazenados sob refrigeração, provenientes de cultivos no Brasil e na China. **Ciência Rural**, v. 40, n. 12, p. 2580-2587, 2010.

DE MELO, T. A. **Mecanismos de patogenicidade do fungo Magnaporthe oryzae, agente causal da brusone em trigo: crescimento e esporulação, pressão de turgor apressorial, enzimas celulolíticas e produção de metabólitos tóxicos**. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2013.

DORS, G. C.PRIMEL, E. G.; FAGUNDES C. A.; MARIOT, C. H. P.; BADIALE-FURLONG E. Distribution of pesticides in rice grain and rice bran. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, p. 1921-1930, 2011.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Características morfológicas da planta de arroz**. Agência Embrapa de Informação Tecnológica (AGEITEC). Brasilia, 2010.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Coleção Plantar Alho**: A cultura do Alho. Centro Nacional de Pesquisas de Hortaliças. Brasilia - DF, 1993.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivo do Arroz Irrigado no Brasil:** Sistemas de cultivo – Plantio Direto e Cultivo Mínimo em Arroz Irrigado. Embrapa clima temperado. Nov, 2005.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivo do Arroz de Terras Altas no Estado de Mato Grosso**. Embrapa Arroz e Feijão Set, 2006.

FAO – Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. **Produção mundial de grãos e arroz**. Disponível em http://<http://fao.org>.Acesso em 13 mai 2015.

FARIAS, C. R J de *et al*. Ocorrência de *Alternaria padwickii* (Ganguly) em sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) (Poaceae) produzidas em quatro regiões orizícolas do Rio Grande de Sul e seu efeito sobre plântulas. **Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo**, v. 74, n. 3, p. 245-249, 2007.

FONSECA, R. J. *et al*. **Descritores Botânicos, Agronômicos e Fenológicos do Arroz (*Oryza sativa L.*)**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2008, 983 p.

FRANCO, D. F. *et al*. Fungos associados a sementes de arroz irrigado no Rio Grande do Sul. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 7, n. 3, 2012.

FRENCH, R. C. Volatile chemical germination stimulators of rust and other fungal spores. Mycologia, v.84, n.3, p.277-288, 1992.

FERROCHIO, L. *et al*. Evaluation of ability of ferulic acid to control growth and fumonisin production of *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* on maize based media. **International Journal of Food Microbiology**, v. 167, n. 2, p. 215-220, 2013.

FOLETTO, E. L. *et al*. Aplicabilidade das cinzas da casca de arroz..**Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1055, 2005.

GOULART, A. C. P; SOUSA, P. G; URASHIMA, A. S. Danos em trigo causados pela infecção de Pyricularia grisea.**Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 4, p. 358-363, 2007.

HEIDTMANN-BEMVENUTI, R.; HACKBART, H. C. S.; SOUZA, M. M.; DORS, G. C.; FAGUNDES, C. A.; BADIALE-FURLONG, E. Determinação de deoxionivalenol e zearalenona em arroz natural e parboilizado e suas frações utilizando QuEChERS e HPLC/UV-FL. **Química Nova,** v. 35 , p.1-6, 2012.

HOSENEY, R. C. **Principios de ciencia y tecnologia de los cereales**. Zaragoza: Acribia, 1991. 321p.

KENT, N. L. **Tecnologia de los cereales**: Introducción para Estudiantes de ciência de los alimentos y agricultura. 1.ed. Zaragoa: Acribia, 1987.

KHUSH, G. S. Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. **Plant Molecular Biology**, Bethesda, v. 35, n. 2, p. 25-34, jan./fev. 1997.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Jounal of the American Dietetic Association,** v. 2, n. 50, p. 213-218, 1999.

KUBOTA, N. *et al*. Breaking bud dormancy in grapevine cuttings with garlic volatiles. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**. v.68, n.6, p.927-931. 1999.

LEITE, C. D.; BOTELHO, R. V.; FARIA, C. M. D. R.; MAIA, A. J. Efeitos do extrato de alho sobre agentes causais da antracnose (*Elsinoe ampelina*) e da escoriose (*Phomopsis viticola*) da videira. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2,p.1409-1412, 2009.

LEMOS, M. R. J.; SOARES, L. A. S. Farelo de arroz: um subproduto em estudo. **Revista Óleos e Grãos**, p. 40-47, nov-dez. 1999.

LEMOS, M. R. J.; SOUZA-SOARES, L. A. Arroz e seus produtos e subprodutos na região sul do Brasil. **Vetor**, v. 10, p. 21-36, 2000.

MACIEL, J.L.N. *Magnaporthe oryzae*, the blast pathogen: current status and options for its control. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, Washington, n. 50, p. 1-7, 2011.

MACHADO, P. A., GUTIERRES, D. M., CROSS, J. D. Garlicina - Um novo antibiótico. **Anais Paulistas de Medicina e Cirurgia**, v. 55, n.2, p.9-31, 1948.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. da. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 659-664, 2005.

MARTÍNEZ-VALVERDE, I.; PERIOGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrucion,** v. 50, n. 1, 2000.

MARTINS, J. N. *et al*. Avaliação da capacidade antifúngica do extrato oleoso de Alho Roxo (*Allium sativum* L.). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 5, n. 4, 2010.

MCGRATH, M. T. Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew: experiences and challenges. **Plant disease**, v. 85, n. 3, p. 236-245, 2001.

MIRA, N. V. M. *et al.* Extração, análise e distribuição dos ácidos fenólicos em genótipos pigmentados e não pigmentados de arroz (*Oryza sativa* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. V. 28, n. 4, p. 994-1002, 2008.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide. **Energy Conversion and Management**, v. 48, p. 2169-2173, 2007.

MORO, J.; ROSA, C. S.; HOELZEL, S. C. S. Composição centesimal e ação antioxidante do farelo de arroz e seus benefícios à saúde. **Ciência Saúde**, v. 4, p. 33-11, 2004.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food (Review). **Journal of Chromatography A,** v. 1054, p. 95-111, 2004.

NETO, M. D. de CASTRO. **Resistência genética de uma coleção nuclear e adubação com silício associado ao nitrogênio no manejo de doenças do arroz no sul do estado Tocantins.** Tese de Mestrado em Produção Vegetal - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi – TO, 2009

NGUEFACK, J.; LETH, P.; AMVAMZOLLO, H.; MATHUR, S.B. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 329-334, 2004.

OLIVEIRA, M. S.; BADIALE-FURLONG, E. Screening of antifungal and antimycotoxigenic activity of plant phenolic extracts. **World Mycotoxin Journal**, v. 1, n. 2, p. 1-10, 2008.

PAGNUSSATT, F. A. *et al*. Extraction of fungal amylase inhibitors from cereal using response surface methodology. **International Research Journal Agricultural Science and Soil Science,** v. 1, p. 428-434, 2011.

PAGNUSSATT, F.A. **Inibição do crescimento de espécies do complexo Fusarium graminearum e da síntese de tricotecenos por compostos fenólicos livres e encapsulados**. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2013.

PAGNUSSATT, F. A. *et al*. Inhibition of *Fusarium graminearum* growth and mycotoxin production by phenolic extract from *Spirulina* sp. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 108, p. 21-26, 2014.

PRABHU, A.S. Situação atual do arroz de sequeiro e estratégias de controle. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p.277, 1995.

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C. **Arroz (*Oryza sativa* L.) Controle de doenças**. In: VALE, F.X.R.; ZAMBOLIN, L. Controle de doenças de plantas: grandes culturas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1997. v.1, p.51-79.

PRABHU, A. S; GUIMARÃES, C. M; BERNI,R. F. **Influência da época de plantio no controle da brusone em folhas de arroz de terras altas**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2001. 2 p.

RIBEIRO, W. R. **Doenças da cultura do arroz (*Oryza sativa*)**. Estudo de doenças de plantas. IF Goiano câmpus Urutaí – GO, 2010.

RODRIGUEZ-MATURINO, A. *et al*. Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. glabriusculum) en *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 47, n. 1, p. 72-77, 2015.

SANTOS, A. B.; STONE, L.; VIEIRA, N. R. A. **A cultura do Arroz no Brasil**. 2ª ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006, 983 p.

SANTOS, C. A. A toxidade dos agrotóxicos usados na lavoura de soja na cidade de catalão, go, e seus impactos no ambiente–um estudo de caso. **Revista Acadêmica do Instituto de Ciências Jurídicas (ICJ)**, v. 1, n. 1, p. 105-118, 2014.

SCAGLIONI, P. T. *et al*. Availability of free and bound phenolic compounds in rice after hydrothermal treatment. **Journal of Cereal Science**, v. 60, n. 3, p. 526-532, 2014.

SCHEUERMANN, K. K.; EBERHARDT, D. S. Avaliação de fungicidas para o controle da brusone de panícula na cultura do arroz irrigado. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 10, n. 1, p. 23-38, 2011.

SCHWANCK, A. A. **mancha parda em arroz: importância epidemiológica da incidência de *Bipolaris oryzae* na semente, padrão espacial de lesões nas folhas e escala diagramática de severidade**. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia Ênfase Fitopatologia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2012.

SHUKLA, R., *et al*. Antifungal, aflatoxin inhibition and and antioxidante activity of Callistemon lanceolatus (Sm.) Sweet essential oil and its major componente 1,8-cineole against fungal isolates from chickpea seeds. **Food Control**, v. 25, p. 27-33, 2012.

SILVA, M. A.; SANCHES, C.; AMANTE, E. R. Farelo de arroz – Composição e propriedades. **Revista Óleos & Grãos**, p. 34-42, jul-ago, 2001.

SILVA, C. M. de S.; FAY, E. F. **Agrotóxicos e Ambiente**. Embrapa Informação Tecnológica. Brasilia - DF 2004, 400p.

SILVA, L. F. S. *et al*. **Avaliação da atividade antimicrobiana e alelopática de borra de café. 5º Simpósio de Segurança Alimentar: Alimentação e Saúde.** Bento Gonçalves – RS, 2015.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 15, n.1, p. 71-81, 2002.

SOSBAI – Sociedade Sul- Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil / 28**. Reunião Técnica da Cultura do Arroz irrigado, Pelotas - RS, 2007.

SOSBAI – Sociedade Sul- Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Reunião Técnica da Cultura do Arroz irrigado, Bento Gonçalves, RS, 2010.

SOUZA, A. F. F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L. C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 6, p.465, 2007.

SOUZA, M. M. *et al*. Assessment of the antifungal activity of *Spirulina platensis* phenolic extract against *Aspergillus flavus*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1050-1058, 2011.

SOUZA, M. M.; OLIVEIRA, M. S.; ROCHA, M.; BADIALE-FURLONG, E**.** Avaliação da atividade antifúngica de extratos fenólicos de cebola, farelo de arroz e microalga *Chlorella phyrenoidosa*. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos,** v. 30, n. 3, 2010.

SOUZA, M. M.; **Potencial antifúngico e antioxidante dos extratos fenólicos de *Chlorella sp.* e *Spirulina platensis* e a capacidade desta de inibir a síntese de aflotoxinas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2012.

STEFANELLO, M. T. *et al.* **Programas de manejo fungicidas para o controle de bipolaris oryzae e pyricularia grisea em arroz irrigado**. Trabalho de iniciação científica, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, 2012.

TAKANO, E. H. *et. al.* Inibição do desenvolvimento de fungos fitopatogênicos por detergente derivado de óleo da mamona (Ricinus communis). **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, 2007.

VONSHAK, A. **Spirulina platensis arthrospira: physiology, cell-biology and biotechnology**. CRC Press, 1997.

WU, J. J.; YANG, J. S.; LIU, M. S. Effects of irradiation on the volatile compounds of garlic (*Allium sativum* L). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 70, n. 4, p. 506-508, 1996.

ZANANDREA, L. *et al*. Atividade do óleo essencial de orégano contra fungos patogênicos do arroz: crescimentos micelial em placas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. supl 01, p. 14-16, 2004.

ZARROUK, C. **Contribuition à l´étude d´une cyanophycée**. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima.* Tese (P.h.D) – Universidade de Paris, Paris, 1996.

ZDRADEK, C.P. **Otimização de crescimento dos fungos *comestíveis P.ostreatus e P. sajor* caju utilizando resíduos agroindustriais**. Rio Grande: FURG, 2001. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos), Universidade Federal do Rio Grande, 2001.

ANEXO 1

Bim® 750 BR

1501

VERIFICAR RESTRIÇÕES DE USO CONSTANTES NA LISTA DE AGROTÓXICOS DO PARANÁ

ANTES DE USAR O PRODUTO LEIA O RÓTULO, A BULA E A RECEITA E CONSERVE-OS EM SEU PODER.

É OBRIGATÓRIO O USO DE EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL. PROTEJA-SE.

É OBRIGATÓRIA A DEVOLUÇÃO DA EMBALAGEM VAZIA.

Indústria Brasileira

CLASSIFICAÇÃO TOXICOLÓGICA III - MEDIANAMENTE TÓXICO

CLASSIFICAÇÃO DO POTENCIAL DE PERICULOSIDADE AMBIENTAL II- PRODUTO MUITO PERIGOSO AO MEIO AMBIENTE

Registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA sob n° 688604

COMPOSIÇÃO:
5-methyl-1,2,4-triazolo[3,4-b][1,3]benzothiazole
(TRICICLAZOL) ..... 750 g/kg (75% m/m)
Outros Ingredientes ..... 250 g/kg (25% m/m)

PESO LÍQUIDO: VIDE RÓTULO
CLASSE: Fungicida sistêmico do grupo químico benzotiazol
TIPO DE FORMULAÇÃO: Pó Molhável (WP)

TITULAR DO REGISTRO (*):
DOW AGROSCIENCES INDUSTRIAL LTDA.
Av. das Nações Unidas, 14171 - 2º andar
Edifício Diamond Tower - Santo Amaro - 04794-000 - São Paulo/SP
CNPJ: 47.180.625/0001-46 - Fone: (11) 5188-9000
Fax: (11) 5188-9955 - Cadastro Estadual CDA/SP nº 650
(*) IMPORTADOR DO PRODUTO FORMULADO

FABRICANTES DO PRODUTO TÉCNICO:
IHARA CHEMICAL INDUSTRY CO. LTD.
1800 Nakanogo, Fuji-Shi, Shizuoka, Japão
NAGARJUNA AGRICHEM LIMITED
Plot n° 177, Allinagaram, Etcheria Mandal, Srikakulam, Índia
DECCAN FINE CHEMICALS (INDIA) LIMITED
Survey Nº 80-83, Kesavaram Village, Venkatanagaram Post
Payakaraopeta Mandal,
Vishakapatnam District 531127 - Andra Pradesh - Índia

FORMULADORES:
DOW AGROSCIENCES INDUSTRIAL LTDA.
Rod. Pres. Tancredo de Almeida Neves, km 38 - 07809-105
Franco da Rocha/SP - CNPJ: 47.180.625/0021-90
Cadastro Estadual CDA/SP nº 678
FERSOL INDÚSTRIA E COMÉRCIO S.A.
Rodovia Presidente Castelo Branco, km 68,5
CEP: 18120-970 - Mairinque/SP - Brasil - CNPJ: 47.226.493/0001-46
Número de registro do estabelecimento/Estado - CDA/CFICS/SP nº 031
SIPCAM NICHINO BRASIL S.A.
Rua Igarapava, 599 - Distrito Industrial III
CEP: 38044-755 - Uberaba/MG - Brasil
CNPJ: 23.361.306/0001-79
Número de registro do estabelecimento/Estado junto ao IMA/MG nº 2.972
BAYER CROPSCIENCE LTDA.
Estrada da Boa Esperança, 650
CEP: 26101-100 - Belford Roxo/RJ
CNPJ: 18.459.628/0033-00
Licença de Operação expedida pela FEEMA/RJ: FE004052
DOW AGROSCIENCES DE COLÔMBIA S.A.
Kra 50#13-209, Soledad - Departamento de Atlántico, Colômbia
AGROZ - AGROQUIMICOS ARROCEROS DE COLOMBIA S.A.
km 1 via Espinal, Ibagué - Tolima, Colômbia
SYGLA COLOMBIA LTDA.
Transversal 6 n°13-90, Zona Industrial Cazuca,
Soacha, Cundinamarca, Colômbia

INSTRUÇÕES DE USO:

BIM' 750 BR é um fungicida sistêmico para o controle da brusone do arroz, causada pelo fungo *Pyricularia grisea*, tanto nas folhas como no pescoço, nó e panícula, podendo ser aplicado via tratamento de sementes e/ou pulverizações na parte aérea da planta.

CULTURA E DOSE:

Cultura (Tipo de cultivo)	Doença Controlada		Doses (*)	
	Nome Comum	Nome Científico	Produto Comercial	Ingrediente Ativo
Arroz	Brusone	*Pyricularia grisea*	200 a 300 g/ha	150 a 225 g i.a/ha
Arroz Irrigado	Brusone	*Pyricularia grisea*	200 a 300 g/ha	150 a 225 g i.a./ha
Tratamento de Sementes *	Brusone	*Pyricularia grisea*	250 a 300 g/100 kg de sementes	187 a 225 g i.a./100 kg de sementes

Obs.: 1 kg do produto comercial BIM* 750 BR contém 750 g de ingrediente ativo TRICICLAZOL
* Restrição de uso temporária no Estado do Paraná

DOENÇAS:
Vide tabela acima.

DOSE:
Vide tabela acima.

NÚMERO, ÉPOCA E INTERVALO DE APLICAÇÃO:
BIM 750 BR é um fungicida preventivo, deve ser aplicado antes de ocorrer a infecção causada pelo fungo da brusone. BIM' 750 BR pode ser aplicado na forma de tratamento de sementes, promovendo uma proteção da cultura do arroz de aproximadamente 30 dias após a emergência. Na parte aérea da planta, o produto deve ser aplicado antes que as espigas, panículas e colmos fiquem expostos à infecção, para promover o controle da brusone. A aplicação tardia pode comprometer a eficácia do produto.

Tratamento de sementes:
- O produto deve ser misturado às sementes por via úmida.

Brusone nas folhas do arroz:
- 1ª Aplicação: na fase de completo perfilhamento.
- 2ª Aplicação: nas regiões onde a incidência do fungo é intensa, 20 dias após a primeira aplicação.

Brusone no pescoço, nó e panícula do arroz:
- 1ª Aplicação: no final do emborrachamento, ou quando 5% das panículas tiverem emergido.
- 2ª Aplicação: aproximadamente 15 dias após a primeira aplicação, ou quando 75% das panículas já tiverem emergido.

OBS.: No caso de se desejar fazer apenas 1 (uma) aplicação de BIM* 750 BR, a melhor época é no emborrachamento tardio para controle de brusone nas folhas ou quando 5% das panículas tiverem emergido para o controle de brusone no pescoço.

MODO DE APLICAÇÃO:
BIM* 750 BR pode ser aplicado na forma de tratamento de sementes por via aérea ou por pulverizações terrestres, tratorizadas ou costais.

1. Tratamento de sementes:
BIM* 750 BR deve ser aplicado via úmida, através de equipamentos específicos para tratamento de sementes, tais como: tambores rotativos, betoneiras, ou equipamentos similares que possibilitem uma mistura uniforme do produto com as sementes. O tratamento das sementes pode ser feito de duas formas: através do molhamento das sementes, ou através da adição de água no produto.

Molhamento das sementes: Coloque as sementes no equipamento de tratamento, e aos poucos adicione água (1 litro de água para cada 100 kg de sementes). Agite até obter um molhamento uniforme das sementes (1- 2 minutos) e em seguida adicione BIM* 750 BR na dose recomendada e agite por mais 3 a 5 minutos.

Molhamento do produto: Dilua a quantidade recomendada de BIM* 750 BR (250 a 300 g/100 kg de sementes) em 1 litro de água, formando uma calda uniforme. Coloque as sementes no equipamento de tratamento e em seguida adicione, aos poucos, a calda do produto.

Acione o equipamento por 3 a 5 minutos. Nas sementes umedecidas em excesso, recomenda-se secagem, à sombra, antes de semeá-las ou armazená-las.

2. Aplicação aérea:
Devem ser utilizadas aeronaves agrícolas (aviões ou helicópteros) adaptados com barras com bicos de Jato cone vazio, tipo teejet, com pontas D6 a D12 e disco (core) nunca maior que 45. O volume da calda deverá ser de 30 a 50 litros por hectare, trabalhando com pressão de 30 a 50 libras por polegada quadrada, e largura de faixa de 15 a 18 metros.
A altura de voo deve ser de 2 a 3 metros acima da cultura. A densidade de gotas deve ser no mínimo de 80 gotas por centímetro quadrado, quando medida sobre superfície plana, no topo das plantas, devendo proporcionar adequada cobertura da área foliar tratada. O diâmetro médio de gotas deve estar situado entre 100 a 150 micra.
Deverão ser observadas criteriosamente as condições climáticas limitantes na aplicação: temperatura inferior a 27°C; umidade relativa do ar superior a 60% e velocidade do vento inferior a 10 km/h.

3. Aplicação tratorizada:
Utilizar tratores adaptados de barras com bicos cônicos da série D ou similares, trabalhando com um volume de calda de 200 a 300 litros por hectare. A distância entre bicos deve ser de 25 cm e a pressão de 60 a 120 libras por polegada quadrada. A altura da barra deve ser ajustada de forma a permitir uma boa cobertura de toda a parte área da planta.
Observar as condições climáticas durante a aplicação: velocidade do vento inferior a 10 km/h e evitar a aplicação nas horas mais quentes do dia.

4. Preparo da calda para aplicações na parte aérea da planta:
BIM* 750 BR poderá ser despejado diretamente no tanque de preparo da solução, iniciando a agitação quando o volume de água estiver acima da metade da capacidade do tanque.
Para o uso de sacos hidrossolúveis, siga o texto abaixo:
a. Abra a embalagem externa. Cada embalagem contém 4 saquinhos hidrossolúveis de 250 gramas de BIM* 750 BR.
b. Coloque o saquinho hidrossolúvel direto no tanque do pulverizador. Não há necessidade de abri-lo.
c. Ao ser colocado na água, o saquinho hidrossolúvel se dissolverá em questão de minutos.
d. Coloque tantos saquinhos hidrossolúveis quanto necessário para conseguir a dosagem desejada. Siga as instruções do rótulo do produto.
e. Aguarde a completa dissolução do saquinho hidrossolúvel na água. A agitação contínua é necessária para a boa mistura do BIM* 750 BR na calda.
f. Calda resultante: saquinho hidrossolúvel completamente dissolvido e BIM* 750 BR homogeneamente disperso na calda. Agora é só aplicar.

INTERVALO DE SEGURANÇA
Arroz (aplicação foliar) ..... 30 dias
Arroz (sementes)..... (*)
(*) Intervalo de segurança não determinado devido à modalidade de emprego.

INTERVALO DE REENTRADA DE PESSOAS NAS CULTURAS E ÁREAS TRATADAS:
Não entre na área em que o produto foi aplicado antes da completa secagem da calda (no mínimo 24 horas após a aplicação). Caso necessite entrar antes desse período, utilize os EPIs recomendados para o uso durante a aplicação.

LIMITAÇÕES DE USO:

Fitotoxicidade:

- O produto não é fitotóxico para a cultura indicada, em aplicações na parte aérea, quando utilizado de acordo com as recomendações do fabricante.
- O tratamento de sementes com BIM* 750 BR, em condições específicas de umidade e temperatura do solo, poderá causar uma pequena redução no número de plantas emergidas.

Outras restrições:

- Evitar sobreposição de aplicação, o que poderá aumentar as doses acima daquelas recomendadas. A aplicação irregular pode resultar em mau controle da doença e/ou danos à cultura.
- As sementes tratadas destinam-se única e exclusivamente para o plantio, não podendo ser utilizadas para o consumo humano ou animal.

INFORMAÇÕES SOBRE OS EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL A SEREM UTILIZADOS:

Vide Dados Relativos à Proteção da Saúde Humana.

INFORMAÇÕES SOBRE OS EQUIPAMENTOS DE APLICAÇÃO A SEREM USADOS:

Vide Modo de Aplicação.

DESCRIÇÃO DOS PROCESSOS DE TRÍPLICE LAVAGEM DA EMBALAGEM OU TECNOLOGIA EQUIVALENTE:

Vide Dados Relativos à Proteção do Meio Ambiente.

INFORMAÇÕES SOBRE OS PROCEDIMENTOS PARA A DEVOLUÇÃO, DESTINAÇÃO, TRANSPORTE, RECICLAGEM, REUTILIZAÇÃO E INUTILIZAÇÃO DAS EMBALAGENS VAZIAS:

Vide Dados Relativos à Proteção do Meio Ambiente.

INFORMAÇÕES SOBRE OS PROCEDIMENTOS PARA A DEVOLUÇÃO E DESTINAÇÃO DE PRODUTOS IMPRÓPRIOS PARA UTILIZAÇÃO OU EM DESUSO.

Vide Dados Relativos à Proteção do Meio Ambiente.

INFORMAÇÕES SOBRE MANEJO DE RESISTÊNCIA:

Qualquer agente de controle de doenças pode ficar menos efetivo ao longo do tempo devido ao desenvolvimento de resistência.

O Comitê Brasileiro de Ação a Resistência a Fungicidas (FRAC-BR) recomenda as seguintes estratégias de manejo de resistência visando prolongar a vida útil dos fungicidas:

- Qualquer produto para controlar doenças da mesma classe ou de mesmo modo de ação não deve ser utilizado em aplicações consecutivas do mesmo patógeno, no ciclo da cultura.
- Utilizar somente as doses recomendadas no rótulo/bula.
- Sempre consultar um Engenheiro Agrônomo para orientação sobre as recomendações locais para o manejo de resistência.
- Incluir outros métodos de controle de doenças (ex. controle cultural, biológico, etc.) dentro do programa de Manejo Integrado de Doenças (MID) quando disponíveis e apropriados.

INFORMAÇÕES SOBRE MANEJO INTEGRADO DE DOENÇAS:

Incluir outros métodos de controle de doenças (ex. controle cultural, biológico, etc.) dentro do programa de Manejo Integrado de Doenças (MID) quando disponíveis e apropriados.

DADOS RELATIVOS À PROTEÇÃO DA SAÚDE HUMANA:

ANTES DE USAR LEIA COM ATENÇÃO AS INSTRUÇÕES.

PRODUTO PERIGOSO.

USE OS EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL COMO INDICADO.

PRECAUÇÕES GERAIS:

- Produto para **uso exclusivamente agrícola**.
- Não coma, não beba e não fume durante o manuseio e aplicação do produto.
- Não manuseie ou aplique o produto sem os equipamentos de proteção individual (EPI) recomendados.
- Os equipamentos de proteção individual (EPI) recomendados devem ser vestidos na seguinte ordem: macacão, botas, avental, máscara, óculos, touca árabe e luvas de nitrila.
- Não utilize equipamentos de proteção individual (EPI) danificados.
- Não utilize equipamentos com vazamentos ou defeitos.
- Não desentupa bicos, orifícios e válvulas com a boca.
- Não transporte o produto juntamente com alimentos, medicamentos, rações, animais e pessoas.

PRECAUÇÕES NA PREPARAÇÃO DA CALDA:

- Caso ocorra contato acidental da pessoa com o produto, siga as orientações descritas em primeiros socorros e procure rapidamente um serviço médico de emergência.
- Ao abrir a embalagem, faça-o de modo a evitar poeira.
- Utilize equipamento de proteção individual - EPI: macacão com tratamento hidrorrepelente com mangas compridas passando por cima do punho das luvas e as pernas das calças por cima das botas; botas de borracha; avental impermeável; máscara com filtro combinado (filtro químico contra vapores orgânicos e filtro mecânico classe P2 / ou P3 quando necessário); óculos de segurança com proteção lateral; touca árabe e luvas de nitrila.
- Manuseie o produto em local aberto e ventilado.

PRECAUÇÕES DURANTE A APLICAÇÃO:

- Evite o máximo possível o contato com a área tratada.
- Não aplique o produto na presença de ventos fortes e nas horas mais quentes do dia.
- Conforme modo de aplicação, de modo a evitar que o aplicador entre na névoa de produto.
- Aplique o produto somente nas doses recomendadas e observe o intervalo de segurança (intervalo de tempo entre a última aplicação e a colheita).
- Utilize equipamento de proteção individual - EPI: macacão com tratamento hidrorrepelente com mangas compridas passando por cima do punho das luvas e as pernas das calças por cima das botas; botas de borracha; máscara com filtro combinado (filtro químico contra vapores orgânicos e filtro mecânico classe P2 / ou P3 quando necessário); óculos de segurança com proteção lateral; touca árabe e luvas de nitrila.

PRECAUÇÕES APÓS A APLICAÇÃO:

- Sinalizar a área tratada com os dizeres: “PROIBIDA A ENTRADA. ÁREA TRATADA” e manter os avisos até o final do período de reentrada.
- Caso necessite entrar na área tratada com o produto antes do término do intervalo de reentrada, utilize os equipamentos de proteção individual (EPIs) recomendados para o uso durante a aplicação.
- Mantenha o restante do produto adequadamente fechado em sua embalagem original em local trancado, longe do alcance de crianças e animais.
- Antes de retirar os equipamentos de proteção individual (EPI), lave as luvas ainda vestidas para evitar contaminação.
- Os equipamentos de proteção individual (EPIs) recomendados devem ser retirados na seguinte ordem: touca árabe, óculos, avental, botas, macacão, luvas e máscara.
- Tome banho imediatamente após a aplicação do produto.
- Troque e lave as suas roupas de proteção separado das demais roupas da família. Ao lavar as roupas utilizar luvas e avental impermeável.
- Faça a manutenção e lavagem dos equipamentos de proteção após cada aplicação do produto.
- Fique atento ao tempo de uso dos filtros, seguindo corretamente as especificações do fabricante.
- Não reutilizar a embalagem vazia.
- No descarte de embalagens utilize equipamento de proteção individual - EPI: macacão com tratamento hidrorrepelente com mangas compridas, luvas de nitrila e botas de borracha.

PRIMEIROS SOCORROS: procure logo um serviço médico de emergência levando a embalagem, rótulo, bula e/ou receituário agronômico do produto.

Ingestão: Se engolir o produto, não provoque vômito. Caso o vômito ocorra naturalmente, deite a pessoa de lado. Não dê nada para beber ou comer.

Olhos: Em caso de contato, lave com muita água corrente durante pelo menos 15 minutos. Evite que a água de lavagem entre no outro olho.

Pele: Em caso de contato, tire a roupa contaminada e lave a pele com muita água corrente e sabão neutro.

Inalação: Se o produto for inalado ("respirado"), leve a pessoa para um local aberto e ventilado.

A pessoa que ajudar deveria proteger-se da contaminação usando luvas e avental impermeáveis, por exemplo.

INTOXICAÇÕES POR TRICICLAZOL
(Tricyclazole)INFORMAÇÕES MÉDICAS

Grupo Químico	*Benzotiazol*
Vias de exposição	Oral, dérmica, ocular e inalatória.
Toxicocinética	Administração de Triciclazol por via oral em ratos demonstrou que o produto é metabolizado em diversos compostos e eliminado principalmente pela urina. O maior metabólito detectado foi thioglucoronide, representando 31,4% da excreção. Também foram identificados um metabólito fenólico e um alcoólico. Apenas 4,6% foi eliminado pela urina como o produto primário Triciclazol.
Mecanismos de toxicidade	***Não se conhece o mecanismo de toxicidade específico para humanos. Nos fungos, inibe a biossíntese de melanina.***
Sintomas e sinais clínicos	**Intoxicação aguda** Há poucos relatos de intoxicação em humanos. Se ingerido espera-se causar cefaleia, náuseas, vômitos, vertigem e convulsões. **Efeitos crônicos** Não há dados disponíveis em humanos. Em estudos em animais e *in vitro* o Triciclazol não mostrou efeitos mutagênicos, carcinogênicos, endócrinos, na reprodução ou teratogênicos.
Diagnóstico	O diagnóstico é estabelecido pela confirmação da exposição e de quadro clínico compatível. Obs.: Em se apresentando sinais e sintomas indicativos de intoxicação aguda, **trate o paciente imediatamente.**
Tratamento	**Antídoto:** não há antídoto específico. **Tratamento:** as medidas gerais devem estar orientadas à remoção da fonte de exposição ao produto, descontaminação do paciente, proteção das vias respiratórias, para evitar aspiração de conteúdo gástrico, tratamento sintomático e de suporte. Deve ser evitado o contato do produto com os olhos, pele e roupas contaminadas. Exposição Oral: Em casos de ingestão de grandes quantidades do produto: • **Carvão ativado:** se liga à maioria dos agentes tóxicos e pode diminuir a absorção sistêmica deles, se administrado logo após a ingestão. Em geral não atua com metais ou ácidos. 1. Dose: Administre uma suspensão de carvão ativado em água (240 ml de água / 30 g de carvão). Dose usual: 25 a 100 g em adultos / adolescentes, 25 a 50 g em crianças (1 a 12 anos) e 1 g / kg em crianças com menos de 1 ano. É mais efetivo quando administrado dentro de uma hora após a ingestão do agrotóxico; 2. O carvão ativado não deve ser administrado a pacientes que ingeriram ácidos ou bases fortes. O benefício do carvão ativado também não é comprovado em pacientes que ingeriram substâncias irritantes, onde ele pode obscurecer os achados endoscópicos, nos casos em que o procedimento é necessário. • **Lavagem gástrica:** na maioria dos casos não é necessário, dependendo da quantidade ingerida, tempo de ingestão e circunstância específica. 1. Considere após ingestão de uma quantidade de veneno potencialmente perigosa à vida, caso possa ser realizada logo após a ingestão (geralmente dentro de 1 hora). Atentar para nível de consciência e proteger vias aéreas do risco de aspiração em posição de *Trendelenburg* e decúbito lateral esquerdo ou por intubação endotraqueal. Controlar as convulsões antes. 2. Contraindicações: perda de reflexos protetores das vias respiratórias ou nível diminuído de consciência em pacientes não-intubados; após ingestão de compostos corrosivos; hidrocarbonetos (elevado potencial de aspiração); pacientes com risco de hemorragia ou perfuração gastrintestinal e ingestão de quantidade não significativa. • **Não** provocar **vômito**, entretanto é possível que o mesmo ocorra espontaneamente não devendo ser evitado, deitar o paciente de lado para evitar que aspire resíduos. ATENÇÃO: nunca dê algo por via oral para uma pessoa inconsciente. • Fluidos intravenosos e monitorização de eletrólitos. • **Irritação:** Observe os pacientes que ingeriram a substância quanto à possibilidade de desenvolvimento de irritação ou queimadura gastrintestinal ou esofágica. Se estiverem presentes sinais ou sintomas de irritação ou queimadura esofágica, considere a endoscopia para determinar a extensão do dano. Exposição Inalatória Descontaminação: Remova o paciente para um local arejado. Cheque quanto a alterações respiratórias. Se ocorrer tosse ou dificuldade respiratória, avalie quanto a irritações no trato respiratório, bronquite ou pneumonia. Administre oxigênio e auxilie na ventilação, se necessário. Trate broncoespasmos com beta-2-agonistas via inalatória e corticosteroides via oral ou parenteral. Exposição Ocular Descontaminação: Lave os olhos expostos com quantidades copiosas de água ou salina a 0,9% à temperatura ambiente por pelo menos 15 minutos. Se a irritação, dor, inchaço, lacrimejamento ou fotofobia persistirem, o paciente deve ser encaminhado para tratamento específico. Exposição Dérmica Descontaminação: Remova as roupas contaminadas e lave a área exposta com água e sabão. O paciente deve ser encaminhado para tratamento específico se a irritação ou dor persistir. **CUIDADOS para os prestadores de primeiros socorros:** • EVITAR: aplicar respiração boca a boca caso o paciente tenha ingerido o produto; utilizar um equipamento intermediário de reanimação manual (Ambú) para realizar o procedimento. • *Usar PROTEÇÃO: para evitar contato cutâneo, ocular e inalatório com o produto durante o processo.*
Contra indicações	A indução do vômito é contraindicada em razão do risco de aspiração e de pneumonite química.
Efeitos sinérgicos	Não relatados em humanos.
ATENÇÃO	Ligue para o **Disque Intoxicação: 0800-722-6001** para notificar o caso e obter informações especializadas sobre o diagnóstico e tratamento. Rede Nacional de Centros de Informação e Assistência Toxicológica RENACIAT – ANVISA/MS
	Notifique ao sistema de informação de agravos de notificação (SINAN / MS)
	Telefone de Emergência da empresa 0800-771-0032

EFEITOS AGUDOS E CRÔNICOS:

Efeitos por exposição aguda (Produto formulado): Em animais de laboratório, o produto formulado mostrou-se não irritante aos olhos, com hiperemia reversível no período de 72 horas e não irritante à pele, com pequeno eritema reversível no período de 1 hora.

Administração oral para ratos: a DL50 oral da formulação para ratos foi superior a 510 mg/kg. Dois animais que receberam a dose mais alta (1.025 mg/kg) apresentaram taquipneia, sangramento e secreção ocular uma hora após a inoculação.

Administração dérmica a coelhos: a DL50 dérmica da formulação para coelhos foi superior a 2.000 mg/kg.

Efeitos por exposição crônica (Triciclazol): Estudos de toxicidade crônica, teratogênica e reprodutiva feitos em animais de laboratório, com níveis de dosagem e tempo de exposição que excedem em muito os níveis a que seres humanos são expostos, demonstraram que Triciclazol não causou nenhum efeito teratogênico ou na performance reprodutiva, nem efeito mutagênico sobre células bacterianas ou de mamíferos, não sendo considerado carcinogênico em estudos crônicos de 2 anos. Não foram encontrados efeitos estatisticamente distintos dos grupos controle que pudessem indicar reação adversa resultante do produto teste.

DADOS RELATIVOS À PROTEÇÃO DO MEIO AMBIENTE:

PRECAUÇÕES DE USO E ADVERTÊNCIAS QUANTO AOS CUIDADOS DE PROTEÇÃO AO MEIO AMBIENTE:

- Este produto é:
  - ☐ Altamente Perigoso ao Meio Ambiente (CLASSE I)
  - ☒ **MUITO PERIGOSO AO MEIO AMBIENTE (CLASSE II)**
  - ☐ Perigoso ao Meio Ambiente (CLASSE III)
  - ☐ Pouco Perigoso ao Meio Ambiente (CLASSE IV)
- Este produto é **ALTAMENTE PERSISTENTE** no meio ambiente.
- Evite a contaminação ambiental - **Preserve a Natureza**.
- Não utilize equipamento com vazamento.
- Não aplique o produto na presença de ventos fortes ou nas horas mais quentes.
- Aplique somente as doses recomendadas.
- Não lave as embalagens ou equipamento aplicador em lagos, fontes, rios e demais corpos d'água. Evite a contaminação da água.
- A destinação inadequada de embalagens ou restos de produtos ocasiona contaminação do solo, da água e do ar, prejudicando a fauna, a flora e a saúde das pessoas.
- No execute aplicação aérea de agrotóxicos em áreas situadas a uma distância inferior a 500 (quinhentos) metros de povoação e de mananciais de captação de água para abastecimento público e de 250 (duzentos e cinquenta) metros de mananciais de água, moradias isoladas, agrupamentos de animais e vegetação suscetível a danos.
- Observe as disposições constantes na legislação estadual e municipal concernentes às atividades aeroagrícolas.

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO DO PRODUTO, VISANDO SUA CONSERVAÇÃO E PREVENÇÃO CONTRA ACIDENTES:

- Mantenha o produto em sua embalagem original, sempre fechada.
- O local deve ser exclusivo para produtos tóxicos, devendo ser isolado de alimentos, bebidas, rações ou outros materiais.
- A construção deve ser de alvenaria ou de material não combustível.
- O local deve ser ventilado, coberto e ter piso impermeável.
- Coloque placa de advertência com os dizeres: **CUIDADO VENENO.**
- Tranque o local, evitando o acesso de pessoas não autorizadas, principalmente crianças.
- Deve haver sempre embalagens adequadas disponíveis, para envolver embalagens rompidas ou para o recolhimento de produtos vazados.
- Em caso de armazéns, deverão ser seguidas as instruções constantes da NBR 9843 da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT.
- Observe as disposições constantes da legislação estadual e municipal.

INSTRUÇÕES EM CASO DE ACIDENTES:

- Isole e sinalize a área contaminada.
- Contate as autoridades locais competentes e a Empresa **DOW AGROSCIENCES INDUSTRIAL LTDA.**, telefone de Emergência: **0800 7710032**. **Disque-Intoxicação: 0800-722-6001**
- Utilize equipamento de proteção individual - EPI (macacão impermeável, luvas e botas de borracha, óculos protetores e máscara com filtro).
- Em caso de derrame, siga as instruções abaixo:

  - **Piso pavimentado:** recolha o material com auxílio de uma pá e coloque em recipiente lacrado e identificado devidamente. O produto derramado não deverá mais ser utilizado. Neste caso, contate a empresa registrante, pelo telefone indicado acima, para que seja feito o recolhimento pela mesma.

  - **Solo:** retire as camadas de terra contaminada até atingir o solo não contaminado, recolha esse material e coloque em um recipiente lacrado e devidamente identificado. Contate a empresa registrante conforme identificado acima.

  - **Corpos d'água:** interrompa imediatamente a captação para o consumo humano ou animal, contate o órgão ambiental mais próximo e o centro de emergência da empresa, visto que as medidas a serem adotadas dependem das proporções do acidente, das características do corpo hídrico em questão e da quantidade do produto envolvido.
- Em caso de incêndio, use extintores de PÓ QUÍMICO SECO ou de CO_2, ou ÁGUA EM FORMA DE NEBLINA, ficando a favor do vento para evitar intoxicação.

PROCEDIMENTOS DE LAVAGEM, ARMAZENAMENTO, DEVOLUÇÃO, TRANSPORTE E DESTINAÇÃO DE EMBALAGENS VAZIAS E RESTOS DE PRODUTOS IMPRÓPRIOS PARA UTILIZAÇÃO OU EM DESUSO:

EMBALAGEM FLEXÍVEL

ESTA EMBALAGEM NÃO PODE SER LAVADA

ARMAZENAMENTO DA EMBALAGEM VAZIA

O armazenamento da embalagem vazia, até sua devolução pelo usuário, deve ser efetuado em local coberto, ventilado, ao abrigo de chuva e com piso impermeável, no próprio local onde são guardadas as embalagens cheias.
Use luvas no manuseio dessa embalagem.
Essa embalagem vazia deve ser armazenada separadamente das lavadas, em saco plástico transparente (Embalagens Padronizadas - modelo ABNT), devidamente identificado e com lacre, o qual deverá ser adquirido nos Canais de Distribuição.

DEVOLUÇÃO DA EMBALAGEM VAZIA

No prazo de até um ano da data da compra, é obrigatória a devolução da embalagem vazia, pelo usuário, ao estabelecimento onde foi adquirido o produto ou no local indicado na nota fiscal, emitida no ato da compra.
Caso o produto não tenha sido totalmente utilizado nesse prazo, e ainda esteja dentro de seu prazo de validade, será facultada a devolução da embalagem em até 6 meses após o término do prazo de validade.
O usuário deve guardar o comprovante de devolução para efeito de fiscalização, pelo prazo mínimo de um ano após a devolução da embalagem vazia.

TRANSPORTE

As embalagens vazias não podem ser transportadas junto com alimentos, bebidas, medicamentos, rações, animais e pessoas. Devem ser transportadas em saco plástico transparente (Embalagens Padronizadas - modelo ABNT), devidamente identificado e com lacre, o qual deverá ser adquirido nos Canais de Distribuição.

EMBALAGEM RÍGIDA NÃO LAVÁVEL

ESTA EMBALAGEM NÃO PODE SER LAVADA

ARMAZENAMENTO DA EMBALAGEM VAZIA

O armazenamento da embalagem vazia, até sua devolução pelo usuário, deve ser efetuado em local coberto, ventilado, ao abrigo de chuva e com piso impermeável, no próprio local onde guardadas as embalagens cheias.
Use luvas no manuseio dessa embalagem.
Essa embalagem deve ser armazenada com sua tampa, em caixa coletiva, quando existente, separadamente das embalagens lavadas.

DEVOLUÇÃO DA EMBALAGEM VAZIA

No prazo de até um ano da data da compra, é obrigatória a devolução da embalagem vazia, com tampa, pelo usuário, ao estabelecimento onde foi adquirido o produto ou no local indicado na nota fiscal, emitida no ato da compra.
Caso o produto não tenha sido totalmente utilizado nesse prazo, e ainda esteja dentro de seu prazo de validade, será facultada a devolução da embalagem em até 6 meses após o término do prazo de validade.
O usuário deve guardar o comprovante de devolução para efeito de fiscalização, pelo prazo mínimo de um ano após a devolução da embalagem vazia.

TRANSPORTE

As embalagens vazias não podem ser transportadas junto com alimentos, bebidas, medicamentos, rações, animais e pessoas.

EMBALAGEM SECUNDÁRIA (NÃO CONTAMINADA)

ESTA EMBALAGEM NÃO PODE SER LAVADA

ARMAZENAMENTO DA EMBALAGEM VAZIA
O armazenamento da embalagem vazia, até sua devolução pelo usuário, deve ser efetuado em local coberto, ventilado, ao abrigo de chuva e com piso impermeável, no próprio local onde são guardadas as embalagens cheias.

DEVOLUÇÃO DA EMBALAGEM VAZIA
É obrigatória a devolução da embalagem vazia, pelo usuário, onde foi adquirido o produto ou no local indicado na nota fiscal, emitida pelo estabelecimento comercial.

TRANSPORTE
As embalagens vazias não podem ser transportadas junto com alimentos, bebidas, medicamentos, rações, animais e pessoas.

PARA TODOS OS TIPOS DE EMBALAGEM

DESTINAÇÃO FINAL DAS EMBALAGENS VAZIAS
A destinação final das embalagens vazias, após a devolução pelos usuários, somente poderá ser realizada pela Empresa Registrante ou por empresas legalmente autorizadas pelos órgãos competentes.

É PROIBIDO AO USUÁRIO A REUTILIZAÇÃO E A RECICLAGEM DESTA EMBALAGEM VAZIA OU O FRACIONAMENTO E REEMBALAGEM DESTE PRODUTO.

EFEITOS SOBRE O MEIO AMBIENTE DECORRENTES DA DESTINAÇÃO INADEQUADA DA EMBALAGEM VAZIA E RESTOS DE PRODUTOS
A destinação inadequada das embalagens vazias e restos de produtos no meio ambiente causa contaminação do solo, da água e do ar, prejudicando a fauna, a flora e a saúde das pessoas.

PRODUTOS IMPRÓPRIOS PARA UTILIZAÇÃO OU EM DESUSO
Caso este produto venha a se tornar impróprio para utilização ou em desuso, consulte o registrante através do telefone indicado no rótulo para sua devolução e destinação final.
A desativação do produto é feita através de incineração em fornos destinados para este tipo de operação, equipados com forno secundário para tratamento dos gases e aprovados por órgãos ambientais competentes.

TRANSPORTE DE AGROTÓXICOS, COMPONENTES E AFINS
O transporte está sujeito às regras e aos procedimentos estabelecidos na legislação específica, que inclui o acompanhamento da ficha de emergência do produto, bem como determina que os agrotóxicos não podem ser transportados junto de pessoas, animais, rações, medicamentos ou outros materiais.

RESTRIÇÕES ESTABELECIDAS POR ÓRGÃO COMPETENTE DO ESTADO, DO DISTRITO FEDERAL OU DO MUNICÍPIO:
Restrição temporária de uso no Estado do Paraná para Tratamento de Sementes.