**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA**

FERNANDA FAGANELLO NEME OYAN

**Avaliação da absorção e translocação do ^{14}C -carbendazim em
morangueiro e feijoeiro**

PIRACICABA

2019

FERNANDA FAGANELLO NEME OYAN

**Avaliação da absorção e translocação do ^{14}C -carbendazim em
morangueiro e feijoeiro**

Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

**Dissertação apresentada ao Centro de
Energia Nuclear na Agricultura da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Mestre em Ciências**

**Área de Concentração: Química na
Agricultura e no Ambiente**

**Orientador: Prof. Dr. Valdemar Luiz
Tornisielo**

Piracicaba

2019

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Oyan, Fernanda Faganello Neme

Avaliação da absorção e translocação do ^{14}C -carbendazim em morangueiro e feijoeiro / Fernanda Faganello Neme Oyan; orientador Valdemar Luiz Tornisielo. - - Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2019. 41 p. : il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, 2019.

1. Contaminação de alimentos 2. Ecotoxicologia 3. Feijão 4. Fungicidas 5. Morango 6. Radioisótopos 7. Toxicologia ambiental I. Título.

CDU 632.95.028 : 661.163.2

Elaborada por:

Marília Ribeiro Garcia Henyei

CRB-8/3631

Resolução CFB Nº 184 de 29 de setembro de 2017

Dedico

Aos meus pais, Vicente Alexander Neme e Valquiria Faganello Neme por me mostrarem a importância da família, o amor incondicional e a persistência, ao meu irmão Ricardo Faganello Neme que me apoiou e acreditou no meu sonho. Dedico também, ao meu esposo Tiago Oyan Aguiar, que de uma forma especial me deu força e coragem para continuar.

AGRADECIMENTOS

- Agradeço primeiramente a Deus, pela sabedoria e perseverança a mim concedidas e por sempre me guiar e proteger pelos caminhos da vida.

- Ao professor Dr. Valdemar Luiz Tornisielo, pelo aceite em me orientar, por todo conhecimento transmitido, pela paciência, amizade e compreensão.

- Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo (USP), pela infraestrutura, por todo suporte e todos os funcionários.

- Aos meus pais Vicente Alexander Neme e Valquiria Faganello Neme, por todo apoio, incentivo, paciência, amor e carinho ao longo da minha vida.

- A toda minha família, em especial ao meu irmão Ricardo Faganello Neme e minha avó Eunice da S. B. Faganello, por todo carinho, companheirismo, incentivo e momentos em família. Da mesma forma, agradeço minha tia Renata Neme Vaz dos Santos e ao meu primo Igor Vaz dos Santos.

- Ao meu esposo, Tiago Oyan Aguiar, pelo amor, companheirismo e paciência, por enfrentarmos juntos cada dificuldade.

- A Prof^a Dr^a Rosana M. de O. Freguglia, pelo incentivo, assistência e amizade.

- Meu primo Guilherme Faganello Dressano, pela colaboração com as mudas de morango e por toda colaboração e apoio no desenvolvimento deste estudo.

- À toda equipe do Laboratório de Ecotoxicologia, em especial ao técnico Rodrigo Floriano Pimpinato, por repassar seu conhecimento, pela paciência em ensinar, pela colaboração nas atividades durante a pós-graduação e pela amizade.

- Aos alunos da pós e estagiários do Laboratório, em especial ao Dr. Kássio Ferreira Mendes, Dr^a Ana Paula Justiniano Régo e a colega Vanessa Takeshita, pela amizade e auxílio desde a montagem do experimento até a interpretação dos resultados.

- A estagiária Mariana Garcia, por toda colaboração ao longo do desenvolvimento dos experimentos, pelos momentos de descontração e acima de tudo, pela amizade fraternal.

- A todos que não citei de forma direta, mas que me incentivaram e auxiliaram nesta jornada.

Quem quer o brilho do Sol tem de adquirir habilidade para superar as tempestades,
tem de ser resiliente para atravessar o breu da soturna noite. Não há milagres. A
vida é uma grande aventura onde noites e dias se alternam.

Augusto Cury

RESUMO

OYAN, F. F. N. **Avaliação da absorção e translocação do ^{14}C -carbendazim em morangueiro e feijoeiro.** 2019. 41 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

A monocultura na produção de alimentos vem mudando o cenário do sistema de cultivo e, conseqüentemente, alterando o equilíbrio do ecossistema. Esse desequilíbrio acarreta no aparecimento de agentes patógenos que necessitam de produtos fitossanitários para combatê-los. Nas culturas de morango e feijão, por exemplo, as doenças de maior incidência são aquelas causadas por fungos. Entretanto, apesar de ser incontestável a produtividade, a qualidade, a durabilidade e aparência dos alimentos que fazem uso dos agrotóxicos, a contaminação do produto final bem como os danos ao meio ambiente têm sido alvo de constante preocupação. Nas culturas de morango e feijão, o principal resíduo encontrado no Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) é o carbendazim. O tiofanato metílico, que é o fungicida aplicado nos morangueiros, é precursor do carbendazim, seu agente fungitóxico e por isso seus resíduos são expressos em carbendazim. Ambos os fungicidas citados são fungicidas sistêmicos, ou seja, são absorvidos e translocados pela planta. Determinar de maneira precisa como ocorre essa translocação de modo que sejam encontrados resíduos de agrotóxicos em flores e frutos é complexo. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a absorção e a translocação do fungicida carbendazim nas plantas de morango e feijão, a fim de verificar o comportamento deste agrotóxico e a presença, ou não, nos frutos, sementes e flores. Os estudos de absorção e translocação foram realizados através da aplicação de ^{14}C -carbendazim. Nos períodos de 3, 6, 12, 24, 48, 72 horas após a aplicação (HAA) e períodos esperados para floração (feijoeiro) e floração e frutificação (morangueiro), as folhas que receberam o tratamento foram lavadas a fim de quantificar o total absorvido. Após a secagem por 48 horas e autorradiografia, as plantas foram divididas em seis ou oito partes, no caso do morangueiro (folha tratada, pecíolo da folha tratada, demais folhas, pecíolo das folhas, raiz, coroa, flor e fruto quando existentes) e em oito ou nove partes, para o feijoeiro (folha tratada, pecíolo da folha tratada, folhas pares, folhas acima da folha tratada, folhas abaixo da folha tratada, pecíolo, caule, raiz e flores, quando existentes). Cada parte foi oxidada e a radioatividade foi quantificada por espectrometria de cintilação líquida. Quanto à absorção, não houve diferença significativa da taxa entre as culturas, contudo o morangueiro apresentou linearidade até 72HAA enquanto que o feijoeiro, apenas até 24HAA. Já a translocação total não apresentou valores significativos, sendo a taxa mais alta de 6,39% em morangueiro após 12 horas de aplicação. Conclui-se que o produto é absorvido pelas plantas, mas permanece praticamente somente nas folhas onde foi aplicado.

Palavras-chave: Radioisótopos. Fungicida. Radiomarcado. Agrotóxico.

ABSTRACT

OYAN, F. F. N. **Evaluation of the absorption and translocation of ^{14}C -carbendazim in strawberry and common bean.** 2019. 41 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

The monoculture in food production has changed the scenery of the cultivation system and, consequently, modifying the balance of the ecosystem. This imbalance entails the emergence of pathogens that require phytosanitary products to combat them. In the cultures of strawberry and beans crops, for example, the most prevalent diseases are those caused by fungi. However, despite the undeniable productivity, quality, durability and appearance of foods that make use of pesticides, the contamination of the final product as well as the damage to the environment have been the subject of constant concern. In the cultures of strawberry and beans crops, the main residue found in the Food Pesticide Residue Analysis Program (PARA) is the carbendazim. The methyl thiophanate, which is the fungicide applied in strawberry, is a precursor of carbendazim, its fungitoxic agent and therefore its residues are expressed in carbendazim. Both fungicides cited are systemic, that is, they are absorbed and translocated by the plant. Accurately determine how this translocation occurs so that pesticide residues are found in flowers and fruits is complex. Thus, the present study aimed to evaluate the absorption and translocation of the fungicide Carbendazim in strawberry and bean plants, in order to verify the behavior of this pesticide and the presence, or not, in the fruits, seeds and flowers. The absorption and translocation studies were carried out through the application of ^{14}C -carbendazim. In periods of 3, 6, 12, 24, 48, 72 hours after application (HAA) and expected periods for flowering (common bean) and flowering and fruiting (strawberry), the leaves that received the treatment were washed in order to quantify the total absorbed. After drying for 48 hours and autoradiographed, the plants were divided into six or eight pieces, in the case of strawberry (treated leaf, petiole of the treated leaf, other leaves, petiole of leaves, root, crown, flower and, fruit when existing) and in eight or nine parts, for the common bean (treated leaf, petiole of the treated leaf, even leaves, leaves above the treated leaf, leaves below the treated leaf, petiole, stem, root and flowers, when existing). Each part was oxidized and the radioactivity was quantified by liquid scintillation spectrometry. Regarding the absorption, there was no significant difference in the rate between cultures, however the strawberry showed linearity up to 72HAA while the common bean, only up to 24HAA. The total translocation did not present significant values, with the highest rate of 6.39% in a strawberry after 12 hours of application. It is concluded that the product is absorbed by plants, but remains practically only in the leaves where it was applied.

Keywords: Radioisotopes. Fungicide. Radiolabelled. Pesticide.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	MATERIAIS E MÉTODOS	19
2.1	Condução do experimento	19
2.2	Delineamento experimental	19
2.2.1	Delineamento experimental - Morangueiro	19
2.2.2	Delineamento experimental - Feijoeiro	19
2.3	Produtos químicos	20
2.3.1	Tratamento - morangueiro	22
2.3.2	Tratamento - feijoeiro	22
2.4	Autorradiografia	23
2.5	Estudos de absorção e translocação	23
2.6	Análise estatística	24
3	RESULTADOS	26
3.1	Morangueiro	26
3.1.1	Balanço de massa	26
3.1.2	Absorção	26
3.1.3	Translocação	27
3.1.4	Autorradiografia	28
3.2	Feijoeiro	30
3.2.1	Balanço de massa	30
3.2.2	Absorção	30
3.2.3	Translocação	31
3.2.4	Autorradiografia	33

4	DISCUSSÃO	35
5	CONCLUSÃO	37
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
	REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

O sistema de cultivo para produção de alimentos tem assumido um perfil de produção em grandes áreas de monocultura ao invés da agricultura tradicional. Essa transformação acompanhada da evolução da produção agrícola altera o equilíbrio do ecossistema, favorecendo o aparecimento de pragas e doenças. Para controlar as diversas formas de vida indesejada nas culturas os produtores fazem uso de insumos químicos. Contudo, segundo Zagatto (2019), o uso destes produtos, conhecidos como pesticidas, agrotóxicos, fitossanitários ou ainda defensivos agrícolas, deve ser monitorado devido aos potenciais problemas que pode causar em função do uso indiscriminado.

Os agrotóxicos podem ser classificados nas seguintes principais categorias: inseticida, herbicida, acaricida, fungicida, algicida, nematicida, moluscocida e rodenticida (PERES et al., 2003).

O Brasil lidera o ranking mundial no consumo destes produtos e um dos ingredientes ativos líder em vendas no país é o carbendazim (VASCONCELOS, 2018). Este fungicida foi encontrado em mais de 50% das amostras analisadas de morango e feijão pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), entre os anos de 2013 e 2015 (ANVISA, 2016).

A cultura do morangueiro é considerada a de maior importância dentre os pequenos frutos devido a sua grande aceitação no mercado, tanto para consumo *in natura* ou na forma de produtos industrializados (SPECHT; BLUME, 2011).

Entretanto, a cultura de morango sofre com vários problemas causados por pragas, principalmente fungos, responsáveis pelos maiores números de doenças da cultura (BERNARDI; BOTTON; ZAWADNEAK, 2015). Embora haja organismos benéficos que atuam como agentes de controle biológico, na cultura do morangueiro a aplicação de agrotóxicos tem sido o método mais empregado pelos agricultores (UENO; COSTA, 2016).

O morango é uma cultura altamente suscetível à ação de fitopatógenos e demasiadamente sensível à presença de fungos em todas as partes da planta, flores e fruto. Para tanto, o uso de fungicidas no controle de doenças na cultura do

morangueiro constitui prática importante para garantir a sustentabilidade da produção do morango, pois reduz as perdas provocadas pelas doenças e melhora a qualidade do produto final colhido (DOMINGUES et al., 2001).

Assim como o morango tem a sua importância na alimentação, o feijão constitui a base da alimentação da maior parte da população brasileira. Contudo, é necessário um conjunto de condições para que a espécie vegetal tenha seu desenvolvimento favorecido. Quando um ou mais fatores se tornam desfavoráveis, o crescimento da planta se altera (SATORATO; RAVA, 1994). De acordo com os mesmos autores, a cultura do feijão é uma atividade agrícola de grande importância econômica e social que está sujeita a grandes riscos, entre os quais podem ser citados as doenças que, muitas vezes, têm sido responsáveis pelas perdas significativas da lavoura. No cultivo do feijoeiro, os fungos são os principais causadores de doenças que afetam a produtividade.

Segundo informações disponibilizadas no site do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/SDA-AGROFIT (BRASIL, 2018), um dos ingredientes ativos registrados no país para combater fungos em feijoeiro e morangueiro é o carbendazim e o tiofanato metílico, respectivamente. Contudo, para aplicação do agrotóxico na planta, as propriedades físico-químicas, a quantidade e a frequência de uso, procedimentos de aplicação, características bióticas e abióticas do ambiente e as condições meteorológicas determinam o destino e comportamento da molécula no alvo a ser aplicado.

Segundo Silva et al. (2014), algumas das características a serem consideradas são:

- Coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) indica a afinidade que a molécula do agrotóxico tem com a fase polar (água) e apolar (octanol). Quanto mais polar, maior é a hidrofiliabilidade do agrotóxico. Os valores são representados de forma logarítmica ($\log K_{ow}$). O fator polaridade é de extrema importância para penetração das moléculas do produto pela cutícula das folhas.
- Capacidade de dissociação eletrolítica (pK_a) é a propensão de dissociação do agrotóxico. É o valor do pH no qual o agrotóxico apresenta aproximadamente 50% das suas moléculas dissociadas e 50% não dissociadas.
- Pressão de vapor (PV), moléculas com este fator elevado, tendem a volatilizar diretamente no ar do solo ou para a atmosfera.

Além disso, outra característica importante dos agrotóxicos é maneira que se comportam no alvo, ou seja, se são considerados tópicos ou sistêmicos. Os compostos químicos desenvolvidos com o objetivo de serem absorvidos e translocados pela planta a fim de erradicar os patógenos e protegê-las contra novas infecções, são denominados como agrotóxicos sistêmicos, enquanto que aqueles que permanecem na superfície sem serem absorvidos nem translocados são denominados como tópicos (KIMATI, 2011).

Determinar de maneira precisa como ocorre a translocação de um agrotóxico na planta de modo que seus resíduos sejam encontrados até mesmo nos frutos, é complexo, uma vez que é preciso conhecimento sobre os caminhos que a substância pode realizar no interior da planta (ODORISSI, 2014). Assim, o uso de compostos radiomarcados contribui e facilita no esclarecimento do movimento destes produtos no interior das plantas.

Radiomarcado é um composto químico em que um ou mais átomos foi substituído por um isótopo radioativo. Chamado também de radioisótopo, o isótopo radioativo é um átomo instável que para atingir a estabilidade libera energia na forma de radiação ionizante (ZAGATTO, 2019).

O uso de radioisótopos em estudos de absorção e translocação de agrotóxicos, utilizam, em sua maioria, produtos radiomarcados com ^{14}C (BEFFA et al., 2012), um isótopo radioativo do carbono, que libera energia ionizante tipo beta (β). Através desta ferramenta, é possível ter maior sensibilidade em relação às medidas químicas e permitir a detecção e localização através de filme de raios-X (ZAGATTO, 2019).

Com o intuito de contribuir com dados sobre o comportamento do carbendazim, este estudo teve por objetivo avaliar a absorção e a translocação do ^{14}C -carbendazim ao longo do tempo em cultura de morango e feijão, na busca de justificar a presença deste fungicida nos frutos e sementes, verificando se a presença deste fungicida está relacionado na forma de aplicação ou ao seu comportamento após a absorção pelas folhas.

Embora o uso de agrotóxicos seja um assunto polêmico, é incontestável a produtividade, a qualidade, a durabilidade e a aparência dos alimentos deste sistema de manejo. Assim, estudar o comportamento do agrotóxico na planta, determinando de maneira precisa como ocorre a absorção e a translocação do produto de modo que

seus resíduos sejam encontrados até mesmos nas flores, frutos e sementes são complexos, uma vez que é preciso conhecer os caminhos que as substâncias podem realizar no interior da planta (ODORISSI, 2014). Portanto, pelo exposto, justifica-se a necessidade da realização de pesquisas que corroborem com a verificação do comportamento e presença dos agrotóxicos em alimentos como feijão e morango.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os estudos foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo (CENA/USP), localizado na cidade de Piracicaba, SP, Brasil.

A metodologia utilizada para as análises de absorção e translocação foi adaptada de Mendes et.al (2017).

2.1 Condução do experimento

As mudas do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) da cultivar Camino Real, foram adquiridas do sítio Hamaguti, localizado na cidade de Piedade, SP.

As sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) da cultivar IAC Milênio foram cordialmente cedidas pelo departamento de Tecnologia de Sementes da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP).

2.2 Delineamento experimental

2.2.1 Delineamento experimental - Morangueiro

O estudo foi desenvolvido em delineamento experimental inteiramente casualizado com avaliações em oito períodos de tempo (3, 6, 12, 24, 48, 72 horas após a aplicação - HAA, além dos períodos esperados para floração e frutificação). Foram realizadas três repetições, totalizando 24 unidades experimentais.

A unidade experimental consistiu em 1 vaso com 1 planta de morangueiro.

2.2.2 Delineamento experimental - Feijoeiro

O estudo foi desenvolvido em delineamento experimental inteiramente casualizado com avaliações em sete períodos de tempo (3, 6, 12, 24, 48, 72 horas após a aplicação - HAA, além do tempo de espera para floração). Foram realizadas três repetições, totalizando 21 unidades experimentais.

A unidade experimental consistiu em 1 vaso com 1 planta de feijoeiro, sendo que cada vaso recebeu 3 sementes para assegurar que ao menos uma germinasse por vaso, ocorrendo o desbaste das plantas em excesso.

Foram adicionados em cada vaso juntamente com as sementes, 1g do fertilizante superfosfato.

2.3 Produtos químicos

O produto escolhido para realização dos experimentos foi o carbendazim. O fungicida, de fórmula bruta $C_9H_9N_3O_2$, apresenta as seguintes características físico-químicas relacionadas ao seu comportamento: adsorção $K_{oc} = 200-250$, $\log.K_{OW} = 1,5$; $pK_a = 4,2$ ($20^\circ C$); solubilidade em água = $29mg\ L^{-1}$ ($pH=4$), $8mg\ L^{-1}$ ($pH=7$), $7mg\ L^{-1}$ ($pH=8$) ($24^\circ C$) (MACBEAN, 2012).

O tempo de meia vida do fungicida é relativamente alto, variando de dois a vinte e cinco meses, dependendo das condições ambientais (ESCALADA et al., 2006). Na agricultura, a molécula é utilizada nas culturas de algodão, citros, feijão, soja e trigo (BRASIL, 2003).

Um dos precursores do carbendazim é o tiofanato metílico, encontrado em diversos produtos utilizados nas culturas de soja, algodão, banana, manga, morango, abacaxi, tomate, cravo, berinjela entre muitas outras (BRASIL, 2003). Baseados em tiuréia, este fungicida contém um núcleo aromático e depende da conversão deste núcleo para um anel benzimidazol para exercer sua atividade fúngica (MOTTA, 2009). Entretanto, o tiofanato metílico pode ser considerado um fungicida benzimidazol atípico, ou seja, por não possuir o anel heterocíclico em sua estrutura. Contudo, da mesma forma dos outros fungicidas pertencentes ao grupo, o tiofanato metílico torna-se ativo nos tecidos vegetais ao se transformar por ciclização degradativa, em seu principal metabólito, o carbendazim. (YASUDA et al., 1973).

As soluções do fungicida não radiomarcado carbendazim foram preparadas, separadamente, utilizando-se os fungicidas comerciais Cercobin 700WP (Ihara), para aplicação nos morangueiros ($700g.kg^{-1}$ do i.a.) e Derosal 500SC (Bayer), para aplicação nos feijoeiros ($500g.L^{-1}$ do i.a.). As soluções utilizadas foram preparadas seguindo as recomendações da bula dos produtos comerciais em questão.

A molécula do fungicida utilizado (^{14}C -Carbendazim) possui atividade específica de $6,5 \cdot 10^8 \text{ Bq} \cdot \text{mg}^{-1}$ e apresenta pureza radioquímica de 95,1%. A Figura 1 ilustra a estrutura química da molécula utilizada e os locais onde se encontram o ^{14}C .

A solução de trabalho (solução do fungicida ^{14}C -carbendazim) foi preparada por meio da diluição da molécula na solução do fungicida não radiomarcado, de forma que a concentração final do radiomarcado atingisse a dose recomendada para tratamento.

A solução cintiladora utilizada foi preparada misturando-se 0,2 g de POPOP ((1,4-di-2,5-pheniloxazol) benzeno) e 300mL de tolueno. Adicionando-se 4 g de PPO (2,5-diphenyloxazole) e misturando novamente. Adicionando-se 333mL de RENEX 95% (nonylphenol ethoxylate) e completando com tolueno até 1 L.

A solução cintiladora utilizada no oxidizer foi preparada, utilizando-se 700mL da solução cintiladora descrita anteriormente, adicionando-se 300mL de etanolamina e 250mL de metanol. Essa alteração foi necessária para que solução cintiladora tenha a propriedade de fixar o $^{14}\text{CO}_2$ proveniente da oxidação.

Figura 1: Molécula do fungicida ^{14}C -carbendazim

* Representa o local onde se encontram os ^{14}C na molécula.

Fonte: PubChem (National Center for Biotechnology Information)

2.3.1 Tratamento - Morangueiro

A aplicação do fungicida ocorreu cerca de dois meses após o plantio das mudas do morangueiro. O fungicida não radiomarcado utilizado no tratamento foi o Cercobin 700 WP. O produto, na dose de 70g.p.c./100L de água, foi pulverizado com velocidade constante calibrada para um volume de calda de 1000 L ha⁻¹ e pressão de 35 psi. A ponta de pulverização utilizada foi tipo leque.

Para aplicação do produto radiomarcado, foi escolhida a folha mais expandida da planta. Esta folha foi coberta com papel alumínio em forma de envelope antes da pulverização do fungicida comercial. Após a aplicação do Cercobin, os envelopes forem retirados e utilizou-se uma microaplicador (Hamilton PB6000 Dispenser, Hamilton Co. EUA) para aplicar gotas do produto radiomarcado na superfície da folha. Foram aplicadas 30µL na superfície da folha. Cada gota, de 1µL, proporcionava 95,6 Bq. Sendo assim, foram aplicados cerca de 2,87 kBq por planta.

2.3.2 Tratamento - Feijoeiro

A aplicação do fungicida ocorreu trinta e cinco dias após a semeadura. O fungicida não radiomarcado utilizado no tratamento foi o Derosal 500 SC. O produto, na dose de 500mL.p.c./ha, foi pulverizado com velocidade constante calibrada para um volume de calda de 500L ha⁻¹ e pressão de 35 psi. A ponta de pulverização utilizada foi tipo leque.

Para aplicação do produto radiomarcado, foi escolhida a folha mais expandida da planta. Esta folha foi coberta com papel alumínio em forma de envelope antes da pulverização do fungicida comercial. Após a aplicação do Derosal, os envelopes forem retirados e utilizou-se uma microaplicador (Hamilton PB6000 Dispenser, Hamilton Co. EUA) para aplicar gotas do produto radiomarcado na superfície da folha. Foram aplicadas 30µL na superfície da folha. Cada gota, de 1µL, proporcionava 115 Bq. Sendo assim, foram aplicados cerca de 3,45 kBq por planta.

2.4 Autorradiografia

A autorradiografia das plantas foi feita para melhor visualização da posição final do fungicida radiomarcado e análise qualitativa da translocação.

Para realização das imagens, após a lavagem das folhas tratadas (para obtenção de dados para leitura do total absorvido), as plantas foram prensadas e colocadas em câmara de circulação de ar a 70°C por 48 horas para secagem e posteriormente foram expostas às placas fosforescentes (Storage Phosphor Screen, Perkin Elmer) durante 72 horas. Depois desse período, as placas fosforescentes foram lidas em radio scanner (Packard-Cyclone, Perkin Elmer) para obtenção das imagens. A translocação foi evidenciada através da intensidade da cor na placa, definida pela atividade do ^{14}C do fungicida.

2.5 Estudos de absorção e translocação

Nos tempos de avaliação, as plantas foram retiradas dos vasos e divididas em partes. No estudo do morangueiro, a planta foi dividida em seis partes (folha tratada, pecíolo da folha tratada, demais folhas, pecíolo das folhas, raiz e coroa), ou ainda em oito partes (além das já citadas, divididas também em flor e fruto, quando existentes). Enquanto que o feijoeiro, foi dividido em oito partes (folha tratada, pecíolo da folha tratada, folhas pares, folhas acima e folhas abaixo da folha tratada, pecíolo, caule e raiz), ou em nove partes, acrescentando as flores, quando existentes.

Para extração do fungicida aplicado e não absorvido da superfície das folhas tratadas, foi realizada a lavagem destas folhas com solução 70:30 de metanol:água. A lavagem foi feita em triplicata em cada folíolo da folha, utilizando-se 3mL da solução em cada etapa. Uma alíquota de 500µL proveniente dessa lavagem foi retirada em triplicata e transferida para os frascos de cintilação, contendo 10mL da solução cintiladora. A radioatividade contida nos frascos foi medida por espectrometria de cintilação líquida.

As plantas, após a retirada e lavagem da folha tratada e depois de seca em estufa para posterior obtenção da autorradiografia, foram submetidas à combustão a 900°C em um oxidador (OX 500 - R.J. Harvey Instrument Corporation), onde as partes da planta foram oxidadas individualmente na presença de oxigênio. O gás carbônico radiomarcado ($^{14}\text{CO}_2$) resultante foi capturado pela solução cintiladora contida nos frascos de cintilação. A radioatividade contida nesses frascos também foi medida por espectrometria de cintilação líquida.

A absorção do fungicida pelas folhas foi determinada como sendo a porcentagem da radioatividade presente no interior da planta, obtida através da soma de todas as partes (folha tratada, pecíolo da folha tratada, demais folhas, pecíolo das folhas, raiz, coroa, flor e fruto, quando existentes) em relação ao total aplicada na planta.

A translocação total do fungicida também foi determinada como sendo a porcentagem da radioatividade presente no interior da planta em relação ao total aplicado, porém foi obtida por meio da soma da radioatividade em todas as partes da planta exceto a folha tratada.

O balanço de massa foi calculado por meio da soma da radioatividade obtida no líquido proveniente da lavagem das folhas tratadas e das partes das plantas oxidadas, em relação ao total aplicado.

2.6 Análise estatística

Os dados referentes à absorção e translocação foram ajustados através de regressões não lineares para diferentes partes das plantas, seguindo as equações (1) – (3):

$$y = a + bx, \quad (1)$$

$$y = a^*(1 - e^{(-bx)}), \quad (2)$$

$$y = a^{(-bx)} \quad (3)$$

Onde y é a porcentagem absorvida ou translocada, a e b são parâmetros ajustados da equação; e x corresponde aos períodos de coleta (HAA).

As regressões não lineares foram plotadas usando Sigma Plot (Version 10.0 for Windows, Systat Software Inc., Point Richmond, CA).

3 RESULTADOS

3.1 Morangueiro

3.1.1 Balanço de massa

É a soma da radioatividade medida em todas as partes da planta e calculado proporcionalmente em relação à radioatividade aplicada no início do experimento.

Foi o primeiro ponto avaliado do experimento. O balanço de massa variou entre 88,08% e 102,11% nos tempos entre 3 e 72 horas após a aplicação (HAA). Para os períodos de floração e frutificação, o balanço de massa foi de 67,07% e 61,01%, respectivamente.

3.1.2 Absorção

É a quantidade do produto aplicado que foi absorvido pela folha. É dado como a soma da radioatividade medida em todas as partes e é expressa em porcentagem.

Os resultados de porcentagem de absorção foram melhores apresentados com uma equação não linear.

A maior taxa de absorção, 79,63%, ocorreu a 72 horas após a aplicação (HAA) do carbendazim. Ocorreu um decréscimo na absorção nos tempos de espera de floração e frutificação, 63,06% e 56,56%, respectivamente (Figura 2).

Contudo grande parte do total absorvido do fungicida permaneceu na folha tratada, variando de 41,13% no tempo de 3 horas até 75,92% após 72 horas da aplicação.

Figura 2: Absorção e translocação total em % do total aplicado em plantas de morangueiro (A) e absorção total na folha tratada em % do total aplicado (B). As barras verticais representam o desvio padrão da média

Fonte: Autor.

3.1.3 Translocação

É definida como a soma da radioatividade recuperada em todas as partes da planta, exceto a folha tratada, e assim como a absorção, também é expresso em porcentagem.

Os dados de porcentagem de translocação também foram melhores descritos por uma equação não linear e podem ser visualizados na figura 3. A maior taxa de translocação do fungicida carbendazim nas plantas de morango se deu no tempo de 12 horas após a aplicação do produto, representando 6,39% do total aplicado, distribuídos em pequenas parcelas das partes da planta (4,75% nos pecíolos das folhas tratadas; 1,21% nas demais folhas; 0,05% nos pecíolos das folhas não tratadas; 0,12% na raiz e 0,25% na coroa da planta). Em contrapartida, a menor taxa de translocação ocorreu no tempo de 48 horas após a aplicação do radiomarcado, correspondendo a 2,80% do total aplicado (1,66% nos pecíolos das folhas tratadas; 0,65% nas demais folhas; 0,01% nos pecíolos das folhas não tratadas; 0,29% na raiz e 0,19% na coroa da planta).

Nos períodos que correspondiam à floração e frutificação, a translocação representou aproximadamente 3% do total aplicado (3,13 e 3,73%, respectivamente). Deste valor, o máximo encontrado nas flores foi de 0,18% e nos frutos, 0,13%.

Figura 3: Translocação total em todas as partes da planta exceto folha tratada

Fonte: Autor.

3.1.4 Autorradiografia

Enquanto a combustão proporciona uma análise quantitativa do produto translocado em cada parte da planta, a autorradiografia oferece um diagnóstico qualitativo da translocação do fungicida na planta por meio de imagens. Esta visão qualitativa é possível devido a diferença na intensidade de cor nas partes da planta.

Na Figura 4 é possível observar as plantas de morango tratadas com ^{14}C -carbendazim e ilustram os resultados alcançados nesta pesquisa.

Figura 4: Autorradiografia de plantas de morango após receber ^{14}C -carbendazim. A fotografia da planta prensada está à esquerda e a autorradiografia da translocação na planta à direita

3 HAA

6 HAA

12 HAA

24 HAA

48 HAA

72 HAA

Floração

Frutificação

Fonte: Autor.

3.2 Feijoeiro

3.2.1 Balanço de massa

Assim como o estudo realizado com o morangueiro, o balanço de massa foi o primeiro item avaliado do experimento.

O balanço de massa variou entre 80,29% e 90,60% nos tempos entre 3 e 72 horas após a aplicação (HAA). Para os períodos de floração, o balanço de massa foi de 69,49%.

3.2.2 Absorção

A absorção do produto foi crescente no decorrer do tempo, até 24 HAA. Iniciou-se com 24,55% após 3 horas e passado 24 horas da aplicação, a taxa de absorção foi de 57,68% (Figura 5).

Após 48 horas da aplicação, houve um decréscimo na absorção, que foi de 41,29%, assim como no tempo de espera da floração, que foi de 57,22%.

Contudo, uma grande parcela do produto, não foi absorvido pela planta, variando de 12,27% no tempo esperado para floração, até 62,43% após 3 horas de aplicação.

Figura 5: Absorção e translocação total em % do total aplicado em plantas de feijoeiro (A) e absorção total na folha tratada em % do total aplicado (B). As barras verticais representam o desvio padrão da média

Fonte: Autor.

3.2.3 Translocação

Os dados de translocação total para as plantas de feijão não se ajustaram a nenhum modelo de regressão não linear. Os dados referentes a translocação nas partes da planta estão representados na Figura 6.

A translocação do produto no feijoeiro variou de 1,43% a 4,85%. A maior taxa se deu no período esperado para floração da planta (4,85%), sendo que desta porcentagem, 1,76% do produto se encontrava no caule, 0,25% no pecíolo da folha tratada, 0,51% nas folhas pares, 0,57% nas folhas acima e também nas folhas abaixo, 0,35% nos pecíolos das demais folhas, 0,84% na raiz e 0,00% nas flores.

A menor taxa de translocação do produto ocorreu após 48 horas de aplicação, representando 1,43% do total. Desta parcela, 0,29% foi encontrado nas folhas pares e também na raiz da planta, 0,25% no pecíolo da folha tratada, 0,01% nas folhas acima, 0,26% nas folhas abaixo, 0,10% no pecíolo das demais folhas da planta e 0,23% no caule.

Figura 6: Translocação em todas as partes da planta de feijoeiro, exceto a folha tratada

Fonte: Autor.

3.2.4 Autorradiografia

Assim como com as plantas de morango, a autorradiografia também foi feita das plantas de feijão.

Na Figura 7 é possível observar se houve translocação do fungicida nas plantas no decorrer do tempo, após a aplicação do radiomarcado.

Figura 7: Autorradiografia de plantas de feijão após receber ^{14}C -carbendazim. A fotografia da planta prensada está à esquerda e a autorradiografia da translocação na planta à direita

48 HAA

72 HAA

Floração

Fonte: Autor.

4 DISCUSSÃO

Para ambos os estudos, com morangueiro e feijoeiro, o primeiro ponto avaliado foi o balanço de massa.

Segundo Nandula e Vencill (2015), para confiabilidade dos resultados, o balanço de massa deve ser de 80% ou mais. Esta exigência foi atingida para os dois estudos, nos tempos até 72 HAA. Já os tempos de avaliação de floração e frutificação (morango) e floração (feijão) apresentaram balanço de massa inferior ao padrão estabelecido. É provável que esta queda seja resultante da degradação acelerada que o fungicida carbendazim apresenta na presença de luz e temperaturas mais altas (SILVA; BARROS; PAVÃO, 2014). Além deste fator, é possível que esta queda seja devido ao longo tempo de espera para avaliação nos tempos de floração e frutificação, que para o morangueiro levou aproximadamente 3 meses e para o feijoeiro, 10 dias após a aplicação do produto radiomarcado.

A absorção do produto nos estudos foi gradativa até determinado momento. Para o morangueiro, o ápice foi em 72HAA, quando atingiu a taxa de 79,63%. Após este período, a absorção apresentou uma queda nos tempos de espera de floração e frutificação. Já com o feijoeiro, a absorção foi gradativa apenas até 24HAA, apresentando uma taxa de 57,28%.

A entrada do fungicida na planta por pulverização depende da relação da solubilidade da molécula com os componentes da cutícula foliar, como os lipídeos. No caso de plantas herbáceas, como feijoeiro e morangueiro, as folhas possuem cutículas que apresentam dificuldades de absorção (GARCIA, 1999). Na tentativa de quebrar essa cutícula que tem a função de bloquear a penetração de líquidos, na formulação dos agrotóxicos são adicionados aditivos ou adjuvantes que aprimoram o desempenho no momento da aplicação e, por serem substâncias inertes, não possuem propriedades fitossanitárias (QUEIROZ et. al., 2008; WITT, 2012).

Uma vez em contato com a superfície foliar, o agrotóxico pode sofrer volatilização ou lixiviação pela água e cristalização, acarretando em perdas do produto (MONQUERO; HIRATA, 2014; SILVA; MELO, 1997). Contudo, no presente estudo a perda pode ter ocorrido por volatilização por $^{14}\text{CO}_2$ ou ainda devido a metabolização (KELLER; WEBER, 1995). A perda não ocorreu por lixiviação pela água, uma vez que

as plantas estudadas e analisadas ficaram ao abrigo da chuva. A perda nos períodos de floração e frutificação pode ser sido ocasionada ainda por degradação do produto, uma vez que na presença de luz e em diferentes condições ambientais, como mudança de temperatura, sua degradação é acelerada (JIA et al., 2003).

Mesmo depois que o agrotóxico é absorvido pela planta, ele pode não ser translocado (MONQUERO; HIRATA, 2014). Nos experimentos realizados, a taxa de translocação do produto foi extremamente baixa em todos os tempos analisados. A maior taxa foi em 12HAA nas plantas de morango, apresentando uma taxa de 6,39%.

Este acontecimento pode ser explicado porque depois de absorvido, o fungicida sistêmico pode ser translocado no interior da planta através do sistema vascular, via xilema ou floema (AZEVEDO, 2007). Ainda segundo o autor, a translocação via xilema, ocorre de forma passiva e acompanha a transpiração da planta. A maioria dos fungicidas transloca de forma ascendente, ou seja, através do xilema, embora o movimento descendente seja uma característica almejada, uma vez que controlaria doenças que iniciam na parte inferior da planta mesmo com aplicação foliar do produto.

O carbendazim, fungicida de um dos grupos mais conhecidos pelas propriedades sistêmicas e talvez os mais utilizados devido à importância econômica e eficácia (benzimidazóis) teve suas propriedades sistêmicas estudadas em diversas outras plantas e notou-se que após a absorção pela raiz, hastes ou folhas de plantas herbáceas, o carbendazim é translocado em direção a regiões onde a transpiração é mais predominante, ou seja, após a absorção, as concentrações maiores estão nas folhas e não nas hastes ou frutos (PETERSON; EDGINGTON, 1971; LEROUX; GREDET, 1975). Assim, justifica-se que a maior parte do produto absorvido pela planta permaneceu na folha tratada e não movimentou, ou movimentou em taxas extremamente baixas.

As autorradiografias das plantas analisadas corroboram com os resultados da oxidação, demonstrando qualitativamente que não houve translocação.

5 CONCLUSÃO

Conforme objetivo, avaliando e analisando o comportamento do fungicida carbendazim nas plantas (feijoeiro e morangueiro) para justificar a presença deste fungicida nas flores, frutos ou sementes, o trabalho mostrou que foi possível realizar o referente estudo.

Quanto à absorção, mesmo tendo sido satisfatória em ambas as culturas, o produto permaneceu praticamente somente nas folhas onde foi aplicado, ou seja, a translocação total, nos morangueiros e feijoeiros não obteve uma taxa considerável de movimentação interna do produto, diferente do esperado por se tratar de um fungicida sistêmico.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Salientamos que são necessários novos estudos relacionados as formas de aplicação e comportamento do fungicida carbendazim no ambiente, pois o presente estudo evidenciou que a molécula é absorvida pela planta, contudo, mesmo se tratando de um fungicida sistêmico, o mesmo provavelmente transloca no interior das plantas via xilema, acompanhando a corrente respiratória da planta, não atingindo flores e frutos.

De posse dessas informações, é provável que os teores de carbendazim encontrados nas pesquisas realizadas pela ANVISA nas matrizes feijão e morango se devem, provavelmente, a aplicação do fungicida durante o período de floração e/ou frutificação, mesmo que essa aplicação seja coesa com a bula dos produtos comerciais utilizados.

Além da preocupação com os resíduos de agrotóxicos em alimentos, o impacto destes sobre a população de insetos polinizadores também vem ganhando destaque. Pesquisas mostram que estão sendo encontrados resíduos destes produtos no pólen das flores de algumas culturas. No caso do uso do carbendazim, não realizar a aplicação durante o período de florescimento da cultura, auxiliaria na diminuição do impacto destes produtos nos insetos polinizadores.

A compreensão do comportamento deste produto nas plantas e no ambiente é fundamental para adoção de melhores estratégias de aplicação.

Novas pesquisas relacionadas ao monitoramento ambiental, seu impacto no solo e na água, bem como seus metabólitos devem ser realizadas, pois existem poucas informações disponíveis na literatura.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. **Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos – PARA**. Relatório das análises de amostras monitoradas no período de 2013 a 2015. Brasília, DF: Gerência Geral de Toxicologia, 2016. 246 p. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/0/Relat%C3%B3rio+PARA+2013-2015+VERS%C3%83O-FINAL.pdf/494cd7c5-5408-4e6a-b0e5-5098cbf759f8>. Acesso em: 24 set. 2018.
- AZEVEDO, L. A. S. de. **Fungicidas sistêmicos**: teoria e prática. 1. ed. Campinas: EMOPI, 2007. 284 p.
- BEFFA, R.; FIGGE, A.; LORENTZ, L.; HESS, M.; LABER, B.; RUIZ-SANTAELLA, J. P.; STREK, H. Weed resistance diagnostic technologies to detect herbicide resistance in cereal growing areas. A review. In: GERMAN CONFERENCE ON WEED BIOLOGY AND WEED CONTROL, 25., Braunschweig, Germany, 2012. Quedlinburg, Germany: Julius-Kühn-Archiv, 2012. p. 75-80.
- BERNARDI, D.; BOTTON, M.; NAVA, D. E.; ZAWADNEAK, M. A. C. **Guia para identificação e monitoramento de pragas e seus inimigos naturais em morangueiro**. 1. ed. Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, 2015. 49 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins / DFIA / SDA. **Agrofit on line**. Brasília, DF, 2003. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.> Acesso em: 24 set. 2018.
- DOMINGUES, R. J.; TÖFOLI, S. H. F.; OLIVEIRA, S. H. F.; GARCIA JÚNIOR, O. Controle químico da flor preta (*Colletotrichum acutatum simmonds*) do morangueiro em condições de campo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, n. 2, p. 37-42, 2001.
- GARCIA, A. **Fungicidas**. I. Utilização no controle químico de doenças e sua ação contra fitopatógenos. Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 1999. 26 p.
- JIA, L.; WONG, H.; WANG, Y.; GARZA, M.; WEITMAN, S.D. Carbendazim: Disposition, cellular permeability, metabolite identification, and pharmacokinetic comparison with its nanoparticle. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Easton, v. 92, n. 1, p. 161-172, 2003.
- KELLER, K. E.; WEBER, J. B. Mobility and dissipation of ¹⁴C-Labeled atrazine, metolachlor, and primisulfuron in undisturbed field lysimeters of a coastal plain soil **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 43, n. 4, p. 1076-1086, 1995.
- KIMATI, H. Controle químico. In: AMORIN, L., REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). **Manual de fitopatologia**: princípios e conceitos. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. v. 1, p. 343-365.

LEROUX, P.; GREDT, M. Absorption of Methyl Benzimidazol-2-yl Carbamate (Carbendazim) by corn roots. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, New York, v. 5, p. 507-514, 1975.

MacBEAN, C. (Ed.). **The pesticide manual**. 16. ed. Alton, UK: British Crop Production Council, 2012. 1439 p.

MENDES, K. F.; MARTINS, B. A. B.; REIS, F. C.; DIAS, A. C. R.; TORNISIELO, V. L. Methodologies to study the behavior of herbicides on plants and the soil using radioisotopes. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 35, p. 1-21, 2017. DOI: 10.1590/s0100-83582017350100049.

MONQUERO, P. A.; HIRATA, A. C. S. Comportamento de herbicidas nas plantas. In: MONQUERO, P. A. **Aspectos da biologia e manejo das plantas daninhas**. 1. ed. São Carlos: RiMa, 2014. cap.7, p. 145-166.

MOTTA, R. R. **Determinação do período residual de fungicidas protetor e sistêmico para o controle de *Guignardia citricarpa* em frutos cítricos**. 2009. 80 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2009.

NANDULA, V. K.; VENCILL, W. K. Herbicide absorption and translocation in plants using radioisotopes. **Weed Science**, Champaign, v. 63, n. 1, p. 140-151, 2015.

ODORISSI, A. C. **Dissipação de carbendazim e de mancozebe nas culturas do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) e da laranjeira (*Citrus sinensis*)**. 2014. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, São Paulo, 2014.

PERES, F.; MOREIRA, J. C.; DUBOIS, G. S. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. In: PERES, F.; MOREIRA, J. C. (Org.). **É veneno ou é remédio?: agrotóxicos, saúde e ambiente**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2003. p. 21-41.

PETERSON, C. A.; EDGINGTON, L. V. Transport of benomyl in various plant organs. **Phytopathology**, St. Paul, v. 61, p. 91-92, 1971.

QUEIROZ, A. A.; MARTINS, J. A. S.; CUNHA, J. P. A. R. Adjuvantes e qualidade da água na aplicação de agrotóxicos. **Bioscience Journal**. Uberlândia, v. 24, n. 4, p. 8-19, 2008.

SATORATO, A.; RAVA, C. A. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1994. 300 p.

SILVA, A. A.; D'ANTONINO, L.; VIVIAN, R.; OLIVEIRA JUNIOR, R. S. Comportamento de herbicidas no solo. In: MONQUERO, P. A. **Aspectos da biologia e manejo das plantas daninhas**. 1. ed. São Carlos: RiMa, 2014. cap. 8, p. 167-216.

SILVA, C. M. M. de S.; MELO, I. S. de. Biodegradação de fungicidas benzimidazóis. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de. **Microbiologia ambiental**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1997. cap. 6, p. 141-165.

SILVA, R. C.; BARROS, K. A.; PAVÃO, A. C. Carcinogenicidade do carbendazim e seus metabólitos. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, n. 8, p.1329-1334, 2014.

SPECHT, S.; BLUME, R. A competitividade da cadeia do morango do Rio Grande do Sul. **Revista de Administração e Negócios da Amazônia**, Porto Velho, v. 3, n. 1, p. 35-59, jan./abr. 2011.

UENO, B.; COSTA, H. Doenças causadas por fungos e bactérias. In: ANTUNES, L. E. C.; REISSER JUNIOR, C.; SCHWENGBER, J. E. **Morangueiro**. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2016. cap. 17, p. 413-480.

VASCONCELOS, Y. Agrotóxicos na berlinda. **Pesquisa Fapesp**, São Paulo, n. 271, p. 18-27, 2018.

WITT, J. M. **Agricultural spray adjuvants**: Pesticide Safety Education Program (PSEP). Ithaca: Cornell University, 2012. Disponível em: <<http://psep.cce.cornell.edu/facts-slides-self/facts/gen-peapp-adjuvants.aspx>>. Acesso em: 26 jan. 2019.

YASUDA, Y.; HASHIMOTO, S.; SOEDA, Y.; NOGUCHI, T. Metabolism of thiophanate-methyl by pathogenic fungi and antifungal activity of its metabolites. **Annals of Phytopathological Society of Japan**, Tokyo, v. 39, p. 49-52, 1973.

ZAGATTO, E. A. G. **C-14 em estudos biológicos**. Piracicaba: CENA/USP, s.d. Disponível em: <<http://apostilas.cena.usp.br/moodle/course/view.php?id=36>>. Acesso em: 28 jan. 2019.