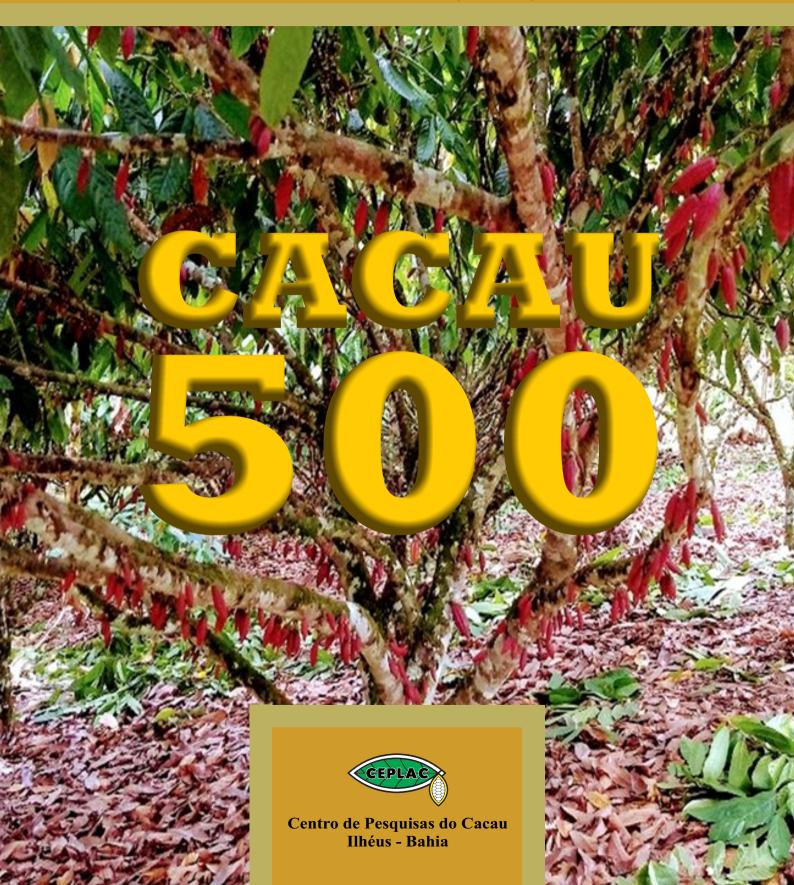
# Agrotrópica

Volume 32, número 1, Janeiro a Abril de 2020



© 2020 Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Todos os direitos reservados. Permitida a reprodução parcial ou total desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial.

A responsabilidade pelos direitos autorais de textos e imagens desta obra é do autor.

Ano 2020.

Tiragem: 1.000 exemplares

#### Elaboração, distribuição, informações:

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira Superintendência Regional no Estado da Bahia Centro de Pesquisas do Cacau

Editor: Ronaldo Costa Argôlo.

Coeditores: Quintino Reis de Araujo e George Andrade Sodré

Normalização de referências bibliográficas: Maria Christina de C. Faria Editoração eletrônica: Jacqueline C. C. do Amaral e Selenê Cristina Badaró.

Capa: Ronaldo Costa Argôlo Filho

Agrotrópica, v. 1, n°1 (1989) Ilhéus, BA, Brasil, CEPLAC/CEPEC,1989

v.

Quadrimestral

Substitui "Revista Theobroma"

1. Agropecuária - Periódico.

CDD 630.5

**INFORMAÇÕES SOBRE A CAPA:** O Projeto 500 foi desenvolvido em 2005 com ênfase na identificação e eliminação das causas do baixo rendimento nas plantações e na adoção de técnicas voltadas ao atendimento das necessidades nutricionais, fisiológicas e reprodutivas de cacaueiros geneticamente superiores, conduzidos em adequadas condições de manejo.

**INFORMATION ON THE COVER:** The 500 Project was developed in 2005 with an emphasis on identifying and eliminating the causes of low yields in plantations and adopting techniques aimed at meeting the nutritional, physiological and reproductive needs of genetically superior cacao trees, conducted in adequate conditions. management.

#### AGROTRÓPICA é indexada em:

AGRINDEX; THE BRITISH LIBRARY; CAB (i.e. Horticultural Abstracts, Review of Plant Pathology, Forestry Abstracts); AGROBASE; Agricultural and Environment for Developing regions (TROPAG); ULRICH'S INTERNATIONAL PERIODICALS DIRECTORY (Abstract on Tropical Agriculture, Agricultural Engineering Abstracts, Agroforestry Abstracts, Bibliography of Agriculture, Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Exerp Medical, Food Science & Technology Abstracts, Indice Agricola de America Latina y el Caribe, Nutrition Abstracts, Protozool. Abstracts, Review of Applied Entomology, Seed Abstracts, Tropical Oil Seeds Abstracts).



#### MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

CEPLAC - Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira

AGROTRÓPICA. Publicação quadrimestral do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC)/CEPLAC.

#### **Comitê Editorial:**

Edna Dora Martins Newman Luz; George Andrade Sodré; Jacques Hubert Charles Delabie; José Luís Bezerra; José Marques Pereira; José Raimundo Bonadie Marques; Karina Peres Gramacho; Manfred Willy Muller; Raúl René Melendez Valle; Uilson Vanderlei Lopes.

**Editor:** Ronaldo Costa Argôlo.

**Coeditor:** Quintino Reis de Araujo e George Andrade Sodré.

Normalização de referências bibliográficas: Maria Christina de C. Faria

**Editoração eletrônica:** Jacqueline C.C. do Amaral e Selenê Cristina Badaró.

Capa: Ronaldo Costa Argôlo Filho

Endereço para correspondência: *AGROTRÓPICA*, Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil.

**Telefone:** (73) 3214 -3211

**E-mail:** agrotrop.agrotrop@gmail.com

**Tiragem:** 1000 exemplares

# **AGROTRÓPICA**

V. 32 Janeiro - abril 2020 N.

#### CONTEÚDO

#### **ARTIGOS**

- 5 Ponto de Nivelamento, lucratividade e relação custo/benefício na cultura do cacau de alta produtividade. A. C. C. Zugaib, G. D. Landim, I. C. e Souza.
- 21 Identificação *in silico* e confirmação via RT-qPCR de genes candidatos ligados a resistência à murcha-de-Ceratocystis em cacau (em inglês). R. M. F. Santos, S. D. V. M. Silva, L. S. L. Lemos, F. Micheli, K. P. Gramacho.
- 31 Novas ocorrências de ascomicetos para a América do Sul e Neotrópico (em inglês). **P. Q. Rocha, N. S. Vitória.**
- 37 Hospedabilidade de espécies de eucalipto a nematoides-das-galhas. V. A. da Silva, S. M. Kulczynski, A. C. Bisognin, V. G. Kirsch, M. Gabriel, D. S. Muraro.
- 43 Caracteres agronômicos de arroz branco sob diferentes doses de nitrogênio e formas de semeadura. F. J. de O. Fortes, E. I. B. Almeida, A. R. C. Siqueira, A. F. F. de Sousa, D. J. Amorim, W. da S. Sousa.
- 51 Acarologia agrícola no estado do Amapá: panorama histórico e desafios futuros. R. S. Santos, J. L. de C. Mineiro, M. do S. M. de Sousa, E. da G. de Deus, R. Adaime.
- 59 Maturação fisiológica de sementes de berinjela. X. M. de S. Vilela, D. C. de Souza, L. F. L. e Silva, É. V. de R. Von Pinho, L. V. Resende.
- 67 Efeitos de biofertilizante sobre o crescimento e a biomassa do milho agroecológico no Piauí. K. R. Saraiva, M. de O. Rebouças Neto, C. N. V. Fernandes, F. Marques Filho, F. de S. Silva, J. R. da S. Sales.

#### NOTA CIENTÍFICA

75 Atividade inibitória de leveduras contra fungos patogênicos da soja (em inglês). N. Menolli Junior, V. V. Marques, L. D. Paccola-Meirelles, G. M. de Andrade-Nóbrega.

Volume 32, páginas 1 - 80, publicado em maio de 2020.



#### MINISTRY OF AGRICULTURE LIVESTOCK AND FOOD SUPPLY

CEPLAC - Executive Commission of the Cacao Agriculture Plan

**AGROTRÓPICA.** Published every four months by the Cocoa Research Center (CEPEC)/CEPLAC.

#### **Editorial Committee:**

Edna Dora Martins Newman Luz; George Andrade Sodré; Jacques Hubert Charles Delabie; José Luís Bezerra; José Marques Pereira; José Raimundo Bonadie Marques; Karina Peres Gramacho; Manfred Willy Muller; Raúl René Melendez Valle; Uilson Vanderlei Lopes.

Editor: Ronaldo Costa Argôlo.

**Coeditor:** Quintino Reis de Araujo and George Andrade Sodré.

**Revision of bibliographical references:** Maria Christina de C. Faria

**Desktop publish:** Jacqueline C.C. do Amaral and Selenê Cristina Badaró.

Cover: Ronaldo Costa Argôlo Filho

Address for correspondence:

AGROTRÓPICA, Cocoa Research Center (CEPEC), 45600-970, Itabuna, Bahia, Brazil.

**Telephone:** 55 (73) 3214 - 3211 **E-mail:** agrotrop.agrotrop@gmail.com

Circulation: 1000 copies.

# **AGROTRÓPICA**

V.32 January - April 2020 N.1

#### CONTENTS

#### **ARTICLES**

- 5 Leveling point, profitability and cost / benefit ratio in high-yield cocoa crop (in Portuguese). A. C. C. Zugaib, G. D. Landim, I. C. e Souza.
- 21 Identification in silico and confirmation via RT-qPCR of candidate resistance genes linked to ceratcystis wilt in cacao. R. M. F. Santos, S. D. V. M. Silva, L. S. L. Lemos, F. Micheli, K. P. Gramacho.
- 31 New occurrences of ascomycetes for South America and the Neotropics. P. Q. Rocha, N. S. Vitória.
- 37 Hospitability of species of eucalyptus to root-knot nematodes (in Portuguese). V. A. da Silva, S. M. Kulczynski, A. C. Bisognin, V. G. Kirsch, M. Gabriel, D. S. Muraro.
- 43 Agronomic characters of white rice under different doses of nitrogen and sowing ways (in Portuguese). F. J. de O. Fortes, E. I. B. Almeida, A. R. C. Siqueira, A. F. F. de Sousa, D. J. Amorim, W. da S. Sousa.
- 51 Agricultural acarology in the state of Amapá, Brazil: historical overview and future challenges (in Portuguese). R. S. Santos, J. L. de C. Mineiro, M. do S. M. de Sousa, E. da G. de Deus, R. Adaime.
- 59 Physiological maturation of eggplant seeds (in Portuguese). X. M. de S. Vilela, D. C. de Souza, L. F. L. e Silva, É. V. de R. Von Pinho, L. V. Resende.
- 67 Effects of biofertilizer on growth and biomass of agroecological maize in Piauí, Brazil (in Portuguese). K. R. Saraiva, M. de O. Rebouças Neto, C. N. V. Fernandes, F. Marques Filho, F. de S. Silva, J. R. da S. Sales.

#### **SCIENTIFIC NOTE**

75 Inhibitory activity of yeasts against soybean pathogenic fungi. N. Menolli Junior, V. V. Marques, L. D. Paccola-Meirelles, G. M. de Andrade-Nóbrega.

Volume 32, pages 1 - 80, published May, 2020

#### **INSTRUÇÕES AOS AUTORES**

- 1. O original para publicação em português, inglês ou espanhol, deve ter no máximo 18 páginas numeradas, em formato A4 (21,0 x 29,7 cm), fonte Times New Roman, corpo 12, espaço 1,5 (exceto Resumo e Abstract, em espaço simples), digitado em Word/Windows. O artigo deverá ser encaminhado à Comissão Editorial da revista por meio eletrônico. No rodapé da primeira página deverão constar o endereço postal completo e o endereço eletrônico do(s) autores(s). As figuras e tabelas devem vir à parte.
- **2.** Os artigos devem conter: título, resumo, abstract, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos e literatura citada.
- 3. Os artigos científicos e notas científicas devem conter introdução que destaque os antecedentes, a importância do tópico e revisão de literatura. Nos materiais e métodos devem-se descrever os materiais e métodos usados, incluindo informações sobre localização, época, clima, solo etc., bem como nomes científicos se possível completo de plantas, animais, patógenos etc., o desenho experimental e recursos de análise estatística empregada. Os resultados e discussão poderão vir juntos ou separados e devem incluir tabelas e figuras com suas respectivas análises estatísticas. As conclusões devem ser frases curtas, com o verbo no presente do indicativo, sem comentários adicionais e derivados dos objetivos do artigo.
- **4. Título -** Deve ser conciso e expressar com exatidão o conteúdo do trabalho, com no máximo 15 palavras.
- **5. Resumo e Abstract -** Devem conter no máximo 200 palavras. Abstract deve ser tradução fiel do resumo em inglês.
- **6. Palavras chave -** Devem ser no máximo de seis, sem estar contidas no título.
- **7. Introdução** Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.
- **8.** Material e Métodos Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.
- **9.** Resultados, Discussão e Conclusões De acordo com o formato escolhido, estas partes devem ser apresentadas de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados, pontos de vistas discutidos e conclusões sugeridas.
- **10. Agradecimentos** As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

- **11.** Unidades de medida Usar exclusivamente o Sistema Internacional (S.I.).
- 12. Figuras (gráficos, desenhos, mapas) devem ser a presentadas com qualidade que permita boa reprodução gráfica; devem ter 8,2 cm ou 17 cm de largura; as fotografias devem ser escaneadas com 300 dpi e gravadas em arquivo TIF, separadas do texto.
- **13. As tabelas -** devem ser apresentadas em Word ou Excel, e os dados digitados em Times New Roman.
- **14. Literatura Citada -** No texto as referências devem ser citadas da seguinte forma: Silva (1990) ou (Silva, 1990).

A normalização das referências deve seguir os exemplos abaixo:

#### **PERIÓDICO**

REIS, E. L. 1996. Métodos de aplicação e fracionamentos de fertilizantes no desenvolvimento da seringueira (*Hevea brasiliensis*) no Sul da Bahia. Agrotrópica (Brasil) 8(2):39-44.

#### **LIVRO**

BALL, D. M.; HOVELAND, C. S.; LACEFIELD, G. D. 1991. Southern forrages. Atlanta, PPI. 256p.

#### PARTE DE LIVRO

ENTWISTLE, P. F. 1987. Insects and cocoa. In: Wood, G.A.R.; Lass, R. A. Cocoa. 4 ed. London, Longman. pp.366-443.

#### **DISSERTAÇÃO**

ROCHA, C. M. F. 1994. Efeito do nitrogênio na longevidade da folha de cacau (*Theobroma cacao* L.). Dissertação Mestrado. Salvador, UFBA. 31p.

#### **TESE**

ROHDE, G. M. 2003. Economia ecológica da emissão antropogênica de CO<sub>2</sub> - Uma abordagem filosófica-científica sobre a efetuação humana alopoiética da terra em escala planetária. Tese Doutorado. Porto Alegre, UFRGS/IB. 235p.

#### **MONOGRAFIA SERIADA**

TREVIZAN, S. D. P.; ELOY, A. L. S. 1995. Nível alimentar da população rural na Região Cacaueira da Bahia. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico nº 180. 19p.

#### **PARTE DE EVENTO**

- PIRES, J. L. et al. 1994. Cacao germplasm characterisation based on fat content. In: International Workshop on Cocoa Breeding Strategies, Kuala Lumpur, 1994. Proceedings. Kuala Lumpur, INGENIC. pp.148-154.
- A literatura citada deverá referir-se, de preferência, a trabalhos completos publicados nos últimos 5 anos.
- **15.** Correspondência de encaminhamento do artigo deverá ser assinada pelo autor e coautores.

Os autores receberão cópias do seu trabalho publicado.

#### **GUIDELINES TO AUTHORS**

- 1 The manuscript for publication in Portuguese, English or Spanish, not exceed 18 numbered pages, format A4, in Times New Roman, 12, 1.5 spaced (except Resumo and Abstract, simple spaced) tiped in Word. The article must be addressed to the Editorial Comission in 4 printed copies and also in CD copy. Complete mailing address and e-mail of the author(s) must appear at the bottom of first page. Three out of the four copies should not state the author's name or acknowledgements, since these copies will go to rewiers. Figures (drawings, maps,pictures and graphs) and tables should be sent separately and ready for publication;
- **2** Articles must contain: title, abstract, introduction, materials and methods, results and discussion, conclusions, acknowledgements and literature cited (references);
- 3 Scientific articles and notes must include an introduction highlighting the background and importance of the subject and literature review. Under materials and methods one must mention informations about locations, time, climate, soil, etc. and furnish latin names of plants, animals, pathogens, etc., as well experimental designs and statistical analysis used. Conclusions must be objective and derived from relevant results of the research.
- **4 Title -** It must be concise (not exceed 15 words) and express the real scope of the work.
  - **5 Abstract -** No more than 200 words.
- **6 Kew words -** Six at most, and should not be present in the title.
- 7 Introduction should be concise containing a strictly necessary review to the introduction of the topic and support for the methodology and discussionvista
- **8 Materials and Methods** may be presented in a continuous descriptive form or with subheadings, in a manner that allows the reader to understand and reproduce the described methodology. Bibliographic citations can be used.
- **9 Results, Discussion and Conclusions** In accordance with the format chosen, these parts should be presented clearly, with the aid of tables, graphs and figures so as to leave no doubt as to the authenticity of the results, viewpoints discussed and conclusions emitted.
- 10 Acknowledgements Persons, institutions and companies that contributed to the accomplishment of the work should be mentioned at the end of the text before the Bibliographic References
- 11 Measurement units Use only the International System.
- **12 Figures** (drawings, maps, pictures and graphs) They must possess good quality for graphic reproduction;

- size 8.2 cm or 17 cm wide; photos should be scanned at 300 dpi and recorded, out of the text, in TIF file.
- **13 Tables -** It should be present in Word or Excel and data tiped in Times New Roman, 12.
- **14 References -** literature cited in the text must be written as follows: Silva (1990) or (Silva, 1990).

Citation should be givens as follows.

#### **PERIODICALS**

REIS, E. L. 1996. Métodos de aplicação e fracionamentos de fertilizantes no desenvolvimento da seringueira (*Hevea brasiliensis*) no Sul da Bahia. Agrotrópica (Brasil) 8(2): 39 - 44.

#### **BOOKS**

BALL, D. M.; HOVELAND, C.S.; LACEFIELD, G. D. 1991. Southern forrages. Atlanta, PPI. 256p.

#### **BOOK CHAPTERS**

ENTWISTLE, P. F. 1987. Insects and cocoa. In: Wood, G.A.R.; Lass, R. A. Cocoa. 4 ed. London, Longman. pp. 366-443.

#### DISSERTATION

ROCHA, C. M. F. 1994. Efeito do nitrogênio na longevidade da folha de cacau (*Theobroma cacao* L.). Dissertação Mestrado. Salvador, UFBA. 31p.

#### **THESIS**

ROHDE, G. M. 2003. Economia ecológica da emissão antropogênica de CO<sub>2</sub> - Uma abordagem filosóficacientífica sobre a efetuação humana alopoiética da terra em escala planetária. Tese Doutorado. Porto Alegre, UFRGS/IB. 235p.

#### **SERIATE MONOGRAPHS**

TREVIZAN, S. D. P.; ELOY, A. L. S. 1995. Nível alimentar da população rural na Região Cacaueira da Bahia. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico n° 180. 19p.

#### **PART OF MEETINGS**

PIRES, J. L. et al. 1994. Cacao germplasm characterisation based on fat content. In: International Workshop on Cocoa Breeding Strategies, Kuala Lumpur, 1994. Proceedings. Kuala Lumpur, INGENIC. pp.148-154.

Literature cited should include published papers rather in the last 5 years.

**15 - Correspondence** of guiding will have to be signed by the author and coauthors.

Authors will receive the reprints of their published paper.

#### PONTO DE NIVELAMENTO, LUCRATIVIDADE E RELAÇÃO CUSTO/BENEFÍCIO NA CULTURA DO CACAU DE ALTA PRODUTIVIDADE

Antônio Cesar Costa Zugaib<sup>1,2</sup>, Geraldo Dantas Landim<sup>1</sup>, Ivan Costa e Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CEPLAC - km 22, Rod. Ilhéus/Itabuna, 45600-970, Itabuna - Bahia. <sup>2</sup>UESC - Rod. Ilhéus/Itabuna, km 16 - Salobrinho, Ilhéus - Bahia; antonio.zugaib@agricultura.gov.br

Este artigo analisa o ponto de nivelamento na produção de cacau considerando 15 sistemas de produção ou níveis de tecnologia (SP a SP9). A partir da SP6 foram realizadas algumas simulações. A metodologia utilizada foi o nível ótimo do uso dos insumos e a relação custo/benefício. Foram determinados ainda os seguintes indicadores econômicos: receita bruta, custo de produção, receita líquida, lucratividade e ponto de nivelamento. Analisando os resultados verificou-se que o sistema de produção que apresentou maior retorno custo/benefício foi o sistema de produção SP9 e o com menor custo/benefício foi o sistema de produção SP. Mesmo com a redução de custos em função da mecanização da polinização artificial verificou-se que o sistema de produção SP9 ainda foi o de melhor retorno econômico. Essa melhoria na relação custo/benefício se deu não por causa do decréscimo do custo de produção, mas pelo aumento da produtividade e do preço do cacau ao produtor. Políticas para melhorar a produtividade e consequentemente baixar o custo unitário de produção, são condições "sine qua non" para que se possa ganhar em competitividade internacional.

Palavras-chave: Sistema de produção, tecnologia, práticas agrícolas, custo unitário de produção.

Leveling point, profitability and cost / benefit ratio in high-yield cocoa crop. This article analyzes the leveling point of cocoa production considering 15 production systems or technology levels (SP to SP9). From SP6, some simulations were carried out. The methodology used was the optimal level of use of inputs and the cost / benefit ratio. The following economic indicators were also determined: gross revenue, cost of production, net revenue, profitability and leveling point. Analyzing the results it was found that the production system that had the highest cost / benefit return was the SP9 production system and the one with the lowest cost / benefit was the SP production system. Even with the reduction in costs due to the mechanization of artificial pollination, it was found that the SP9 production system was still the one with the best economic return. This improvement in the cost / benefit ratio was not due to the decrease in production costs, but because of the increase in productivity and the price of cocoa to the producer. Policies to improve productivity and consequently lower the unit cost of production, are "sine qua non" conditions for gaining international competitiveness.

**Key words:** Production system, technology, agricultural practices, unit cost of production.

Recebido para publicação em 30 de janeiro de 2020. Aceito em 02 de abril de 2020. DOI: 10.21757/0103-3816.2020v32n1p5-20

#### Introdução

A globalização e a alta competitividade fazem com que as empresas estejam numa constante busca por estratégias diferenciadas para alavancar seus negócios, em geral, priorizando o aumento de receita e/ou a redução de custos. Este trabalho desenvolve uma série de sistemas de produção com tecnologias diferenciadas buscando sempre uma maior produtividade visando o aumento de receitas ou redução de custos para aumentar ou manter uma margem satisfatória de lucro.

Nesse sentido, a Ceplac desenvolve o projeto 500. Com a finalidade de auxiliar o produtor de cacau na implantação desse projeto, este trabalho busca determinar o nível ótimo de produção na cacauicultura. O que a princípio parece uma meta difícil de ser alcançada, deve ser uma oportunidade das empresas agrícolas repensarem suas estratégias. Para a maximização de lucro, a empresa deve implantar em seu ambiente operacional um planejamento das tecnologias a serem executadas e gestão de custos adequada às necessidades gerenciais.

O modelo de gestão baseado na análise de custos é uma tendência cada vez mais crescente no mercado, que se apresenta por uma visão crítica das medições de desempenho e do processo de tomada de decisões tomando como base a análise dos custos, dentro das empresas. Mostrar aos gestores métodos e sistemas baseados em tecnologias e custos, e auxiliá-los na sua implementação em busca de melhorias e lucratividade é uma das propostas deste trabalho.

As empresas necessitam gerenciar cada vez mais os efeitos intrincados do acirramento da concorrência global, que traz rápidas evoluções tecnológicas e fortes mudanças sociais. O empresário, aquele que toma decisões, inova e corre o risco na empresa, precisa administrar estrategicamente o futuro da organização. O que e o quanto produzir são importantes, mas previamente definidos o "como produzir" passa a ser questão estratégica na administração empresarial.

O "como produzir" é uma questão que trata da combinação apropriada dos fatores produtivos visando otimizá-los, ou seja, a obtenção de um certo nível de produção ao menor custo disponível. Os preços dos fatores têm um papel fundamental neste processo ao indicarem aqueles mais escassos e, portanto, quais devem ser economizados. O "como produzir" envolve problemas

de seleção de combinação de recursos e de técnicas a serem empregadas no processo produtivo. A escolha das técnicas, por sua vez, depende dos preços relativos dos recursos e do nível de produção. Neste contexto, surge a tecnologia, ela especifica todas as possibilidades técnicas pelas quais os fatores de produção podem ser transformados em bens e serviços. Dentre as diferentes possibilidades técnicas disponíveis a uma empresa, o empresário irá escolher aquela que ele julgar mais eficaz economicamente. Ou seja, aquela que propiciar o mesmo nível de produto que as técnicas alternativas, ao menor custo possível (Zugaib, Santos e Nascimento, 2008).

Nesse sentido, o empresário deve administrar com competência as funções nas quais constam o planejamento, organização, direção e o controle. O controle administrativo envolve medição e avaliação dos resultados do desempenho e a tomada de ação corretiva. É preciso que o produtor esteja familiarizado com esses conceitos, que seja competitivo e conheça a eficiência técnica e econômica de sua empresa. Para tanto, os pesquisadores se propuseram a fazer um exercício sobre a viabilidade dos diversos sistemas de produção ou níveis de tecnologias utilizadas. Portanto, o objetivo deste trabalho é analisar o ponto de nivelamento, lucratividade, o custo unitário e a relação custo/benefício dos diversos sistemas de produção disponíveis para a empresa cacaueira no Sul da Bahia. Em seguida, fará uma comparação com o trabalho apresentado por Irfan ul Haque, 2004, em que analisa o custo de produção do cacau em vários países produtores.

#### Metodologia

#### Fonte de Dados

Os preços da tonelada de cacau no mercado externo foram levantados no site da Bolsa de Mercadorias de Nova York. Os preços médios da arroba de cacau no mercado interno foram levantados no site da Secretaria de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária do governo do Estado da Bahia entre 01 a 27 de dezembro, SEAGRI, 2019. Os preços médios dos insumos foram levantados na praça dos municípios de Ilhéus e Itabuna (Anexo 1). A taxa de câmbio média foi pesquisada no site do Banco Central do Brasil, 2008. Todos os preços médios foram tomados para 01 a 27 de dezembro de 2019.

#### Referencial Teórico

Para esse trabalho utilizaram-se como referenciais teóricos: nível ótimo de uso dos insumos, receita bruta, receita líquida, lucratividade, ponto de nivelamento e relação custo/benefício.

#### Nível ótimo de uso de insumo

De acordo com (Mendes, 1988), há duas maneiras (ou regras) pelas quais o produtor pode decidir o nível ótimo de produção:

A primeira maneira para se decidir o nível ótimo de produção se dá pelo lado do produto: os lucros são maximizados no nível de produção em que a receita marginal (Rmg) se iguala ao custo marginal (CMg). Pq (preço do produto) Algebricamente:

$$Rmg = CMg$$
 ou  $CMg = Pq$  porque  $RMg = Pq$ 

A segunda maneira ou regra, (pelos lados do custo do fator utilizado) enuncia que o nível ótimo de uso de um fator variável pode ser determinado pela igualdade entre o produto físico marginal desse fator (PFMg) e a relação entre o preço do fator (Px) e o preço do produto (Pq). Essa regra será a utilizada neste trabalho. Algebricamente, tem-se:

$$PFMg = (Px/Pq)$$

Se o preço real do Produto (Pq) aumenta, a razão preço do fator/preço do produto diminui. Isto implica um maior uso do fator, a fim de alcançar o ótimo uso do mesmo, pressupondo-se constante Px. Enquanto o PFMg do fator for positivo, a produção aumentará com o maior emprego do fator. O uso ótimo de um fator não mudará, se os preços de ambos (do fator Px) e do produto (Pq) aumentarem ou diminuírem no mesmo percentual.

A pressuposição básica é que o objetivo econômico da firma é a maximização de lucro  $(\pi)$  ou da receita líquida.

Na determinação do nível de insumo variável que maximiza lucro, o uso da análise marginal é o mais apropriado. Essa análise é utilizada para comparar o custo do insumo variável com a receita do produto.

Um insumo variável deve ser adicionado ao processo produtivo até o ponto onde a mudança na renda, devido ao uso da última unidade de insumo, for maior ou igual à mudança no custo resultante da última

unidade empregada desse insumo. Se a última unidade do insumo empregado aumentar mais a receita do que o custo, mais insumo deve ser utilizado. Entretanto, se a última unidade de insumo usado aumentar mais o custo do que a receita, menor quantidade desse insumo deve ser utilizada. Resumindo, um insumo variável deve ser empregado até o ponto em que o valor adicional do produto for maior ou igual ao total adicional do custo do insumo, isto é, no ponto em que o produto físico marginal (PFMa) do insumo vezes o preço do produto for maior ou igual ao preço do insumo, PMax $_1$ \* Py  $\ge$  Px $_1$ . De outra forma, desde que o valor do produto marginal (VPM = Py \* PMax $_1$ ) do insumo variável for maior ou igual ao preço do insumo, VPMax $_1$  $\ge$  Px $_1$ .

A derivação matemática dessa regra de decisão é apresentada a seguir:

Max lucro 
$$(\pi)$$
 = RT – CT

Lucro é dado pela diferença entre a receita total (RT) e o custo total (CT). Na determinação do lucro é necessário, portanto, conhecer a receita e o custo. Os preços dos insumos de produção e a tecnologia constituem-se os determinantes básicos de custo. Uma vez estabelecida a tecnologia, o total de cada insumo necessário para produzir qualquer nível de produto pode ser determinado.

O custo total é dado pela soma dos custos variável e fixo.

$$CT = X_1 * Px_1 + K,$$

Em que  $X_1$  é a quantidade do insumo variável usado na produção;  $Px_1$ , o preço do insumo; e K, o custo dos insumos fixos.

A receita total é obtida pelo produto da quantidade total vendida e o preço de venda.

$$RT = Y * Pv$$

Em que Y é a quantidade vendida do produto; e Py o preço de Venda.

Para maximizar lucro tem-se que diferenciar a função com relação ao insumo variável  $X_1$ . Assumindo que os preços do produto (Py) e insumo  $(Px_1)$  sejam constantes, obtém-se:

$$\Pi = Y Py - X_1 Px_1 - K$$

$$\frac{\partial \, \pi}{\partial \, X_1} = \frac{\partial \, Py}{\partial \, X_1} \, *\, Y \, - \frac{\partial \, Y}{\partial \, X_1} \, *\, Py \, - \, \frac{\partial \, Px_1}{\partial \, X_1} \, *\, X_1 \, - \frac{\partial \, x_1}{\partial x_1} \, Px_1 \, - \frac{\partial \, K}{\partial \, X} = 0$$

Assumindo Px<sub>1</sub>, Py e K constantes, tem-se:

$$\partial \pi$$
  $\partial Y$   $\partial X_1$   
----- \* Py - ----- \* Px<sub>1</sub> = 0  
 $\partial X_1$   $\partial X_1$   $\partial X_1$ 

$$\partial \pi$$
  $\partial y$   
----- \* Py - Px<sub>1</sub> = 0  
 $\partial X_1$   $\partial X_1$ 

$$\partial y$$
---- \* Py - Px<sub>1</sub> = 0
 $\partial x_1$ 

$$PFMax_1 = \frac{Px_1}{Py}$$

$$PFMax_1 * Py = Px_1$$

$$VPMax_1 = PX_1$$

Em que  $VPMax_1$  é o Valor do Produto Marginal de  $X_1$ .

Para calcular as produções marginais admitiu-se que as receitas líquidas (aqui consideradas lucro), seriam o resultado da diferença entre a receita bruta e o custo operacional da realização de cada prática. Aceitou-se também que não serão usados os custos dos insumos fixos. Reconhecendo essas premissas como verdadeiras e tomando-se como ponto de partida a equação de lucro, tem-se:

Em que,

D = Lucro

Y = Quantidade do produto/ha

PY = Preço do produto/@

X<sub>i</sub> = As diferentes práticas usadas no processo de produção.

Px<sub>1</sub> = Custo operacional de todas as práticas agrícolas determinado pelo sistema de produção (SP).

Derivando-se a equação (1) para maximização do lucro, a condição de primeira ordem tem-se:

$$\Pi = Y Py - X_1 Px_1$$

$$\partial \Pi$$
---- =  $\partial Y * Py - Px_1$ 
 $\partial x_1$ 

igualando-se a zero, tem-se:

$$\partial Y * Py - Px_1 = 0$$

Dessa forma,

$$\partial Y = Px_1$$

$$Py$$

Em que,

∂ Y= Produto marginal das práticas agrícolas

Py = Preço do produto/@

 $Px_1$  = Custo operacional de todas as práticas agrícolas determinadas pelo sistema de produção (SP).

As produções marginais foram obtidas dividindose o custo operacional de cada prática agrícola  $(PX_1)$  pelos diferentes níveis de preço do produto (Py).

Portanto, a eficiência econômica da empresa agrícola está sendo calculada à medida que o valor da produção marginal (Py \* PFMx<sub>1</sub>) está sendo maior ou igual ao custo operacional de todas as práticas agrícolas (PX<sub>1</sub>) definidos pelo sistema de produção (SP). (Andrade Filho, 1990) e (Zugaib, Santos e Nascimento, 2008).

Eficiência Econômica =  $VPMax_1 \ge PX_1$ 

#### Relação Benefício/Custo

De acordo com (Noronha, 1987) este método invoca a ideia central de análise de investimento, isto é, verificar se os benefícios são maiores do que os custos. Neste trabalho não se utilizará o valor presente líquido para calcular o índice da relação benefício/custo. O benefício (B) será calculado pela multiplicação do preço do produto e a produtividade encontrada de acordo com o sistema de produção utilizado (tecnologia), enquanto o custo (C) será determinado pela soma dos custos de todas as práticas agrícolas utilizadas para

alcançar a produtividade prevista pelo sistema de produção escolhido.

Índice B/C = 
$$\frac{B}{C}$$

A metodologia de cálculo de custo de produção e análise dos indicadores econômicos foi baseada em Martin et al. (1998) e a determinação do custo de máquinas e equipamentos seguiu a classificação tradicional citada por Hoffmann et al. (1992), apresentadas por Furlaneto, Martins e Esperancini, 2007, com algumas adaptações para este trabalho. Esta estrutura de custos define Custo Operacional Efetivo (COE) como o somatório dos valores de mão-de-obra, operações de máquinas, implementos, insumos e materiais consumidos no processo produtivo, e Custo Operacional Total (COT), como o COE acrescido dos encargos sociais. O COT corresponde neste trabalho aos custos dos sistemas de produção ou dos níveis das tecnologias utilizados.

Foram determinados os seguintes indicadores econômicos: receita bruta (produtividade multiplicada pelo preço de venda), receita líquida (receita bruta menos os custos dos sistemas de produção ou dos níveis das tecnologias (SP a SP9), lucratividade (receita líquida dividida pela receita bruta) e ponto de nivelamento (COT/Custo da Tecnologia dividido pelo preço de venda).

# Principais Tecnologias usadas na cacauicultura

Para este estudo realizou-se o levantamento das principais tecnologias ou práticas agrícolas adotadas na cacauicultura com alta produtividade na região Sulbaiana. Consideraram-se para efeito dos sistemas de produção 1.000 plantas. O conceito de produtividade por 1.000 plantas é um conceito em transição em virtude da baixa densidade de cacaueiros por ha, principalmente na região centro (Ubaitaba a Camacã) e no cultivo tipo "Cabruca". A transição terminará quando os cacaueiros novos utilizados na recomposição do estande atingirem produção comercial, quando deverá apresentar densidade populacional de mil plantas por ha.

Inicialmente usaram-se as práticas mais comuns (SP e SP1) e, posteriormente foram introduzidas à

adubação e irrigação. A adubação mineral modular foi introduzida utilizando a fórmula de acordo com a produtividade em @ (arrobas) que se pretendia chegar (40@, 60@, 80@, 100@, 200@, 300@, 400@ e 500@/ ha) (Chepote et al., 2013). Em seguida foi implementada o sistema de produção retirando a adubação e a irrigação independentes e utilizando a fertirrigação (água e adubo juntos) a partir de 200@/ha. A adubação foliar e a gessagem foram implementadas também a partir de 200@/ha. (Ramos et al., 2014), (Marrocos et al., 2009). Outra prática que também foi introduzida inicialmente foi a polinização artificial manual e, a partir da SP8, foram realizadas simulações introduzindo a polinização artificial mecanizada (Nakayama, 2018). O beneficiamento (práticas 41 a 50) corresponde a colheita, quebra, fermentação e secagem do cacau, conforme Quadro 1.

No Quadro 2 identificam-se quinze principais sistemas de produção (SP) doravante denominados tecnologias (SP a SP9), adotadas para produzir cacau na Bahia, os quais sintetizam o melhoramento da tecnologia ocorrida após o advento da vassoura-debruxa. A partir do sistema de produção SP6 foram introduzidas alternativas para melhorar a tecnologia, modernizando-a e melhorando a eficiência, a exemplo da polinização artificial mecanizada. Por exemplo, a tecnologia SP6 envolve as práticas agrícolas: a 03, que corresponde ao controle de ervas daninhas ou roçagem mecânica, a 05 a desbrota com despiolhamento, a 07 que é a poda mecânica, a 08 a remoção da vassourade-bruxa, a 09 o combate às pragas, a 10 o controle de doenças, a 11 a calagem, a 12 a gessagem, a 17 a adubação mineral modular para 200 @, a 21 a adubação foliar para 200@, a 25 a adequação de sombra e a 47 que corresponde ao beneficiamento para 200@ de cacau, que é a produtividade prevista quando se utiliza a tecnologia SP6. Na alternativa com o sistema de produção SP6 A, acrescentou-se a tecnologia 26 que é a irrigação, a 32 que é a polinização artificial manual e continuou com a 47, que é a tecnologia para beneficiamento para 200@. Na alternativa com o sistema de produção SP6 B, retiraram-se as tecnologias 26 e 32, irrigação e polinização artificial manual, respectivamente e introduziram-se as tecnologias 27 e 37, fertirrigação e polinização artificial mecânica por ventilação forçada, respectivamente. Simulações semelhantes foram feitas também para os sistemas de produção SP7, SP8 e SP9.

Quadro 1 - Principais práticas agrícolas utilizadas na cacauicultura na região Sulbaiana

PRÁTICAS AGRÍCOLAS
01- CONTROLE DE ERVAS DANINHAS – Roçagem manual 02- CONTROLE DE ERVAS DANINHAS – Roçagem controle químico
03- CONTROLE DE ERVAS DANINHAS - Roçagem mecânica
04- DESBROTA TRADICIONAL (Broto maduro)
05- DESBROTA TRADICIONAL (BIOLO III adulto)
06- PODA TRADICIONAL (podão, facão)
07- PODA MECÂNICA (Moto poda, tesoura, serra)
08- REMOÇÃO DE VASSOURAS
09- COMBATE ÁS PRAGAS (Inseticida CONECT)
10- CONTROLE DE DOENÇAS (Cobre ATAR 50% P.A.) 6g p/planta P.C.
11- CALAGEM
12- GESSAGEM
13- ADUBAÇÃO MINERAL (NPK) para 40 @
14- ADUBAÇÃO MINERAL (NPK) para 60 @
15- ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 80 @
16- ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 100 @
17- ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 200 @
18- ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 300 @
19- ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 400 @
20- ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 500 @
21- ADUBAÇÃO FOLIAR para 200@
22- ADUBAÇÃO FOLIAR para 300@
23- ADUBAÇÃO FOLIAR para 400@
24- ADUBAÇÃO FOLIAR para 500@
25- ADEQUAÇÃO DE SOMBRAS
26- IRRIGAÇÃO
27- FERTIRRIGAÇÃO para 200 @/ha
28- FERTIRRIGAÇÃO para 300 @/ha
29- FERTIRRIGAÇÃO para 400 @/ha
30- FERTIRRIGAÇÃO para 500 @/há
31- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MANUAL para 100@ 32- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MANUAL para 200@
33- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MANUAL para 300@
34- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MANUAL para 400@
35- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MANUAL para 500@
36- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MECÂNICA VENTILAÇÃO FORÇADA para 100@
37- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MECÂNICA VENTILAÇÃO FORÇADA para 200@
38- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MECÂNICA VENTILAÇÃO FORÇADA para 300@
39- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MECÂNICA VENTILAÇÃO FORÇADA para 400@
40- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MECÂNICA VENTILAÇÃO FORÇADA para 500@
41- BENEFICIAMENTO (20@)
42- BENEFICIAMENTO (30@)
43- BENEFICIAMENTO (40@)
44- BENEFICIAMENTO (60@)
45- BENEFICIAMENTO (80@)
46- BENEFICIAMENTO (100@)
47- BENEFICIAMENTO (200@)
48- BENEFICIAMENTO (300@)
49- BENEFICIAMENTO (400@)
50- BENEFICIAMENTO (500@)

Fonte: Dados da Pesquisa

Quadro 2 – Principais sistemas de produção (níveis de tecnologias) utilizados na cacauicultura na região Sulbaiana

NÍVEIS DE TECNOLOGIA
SP (01+04+06+41)
SP1 (01+04+06+09+42)
SP2 (02+05+06+09+11+13+25+43)
SP3 (03+05+06+08+09+11+14+25+44)
SP4 (03+05+06+08+09+10+11+15+25+45)
SP5 (03+05+07+08+09+10+11+12+16+25+46)
SP6 (03+05+07+08+09+10+11+12+17+21+25+47)
SP6 A (03+05+07+08+09+10+11+12+17+21+25+26+32+47)
SP7 (03+05+07+08+09+10+11+12+22+28+33+48)
SP7 A (03+05+07+08+09+10+11+12+22+28+38+48)
SP8 (03+05+07+08+09+10+11+12+23+29+34+49)
SP8 A (03+05+07+08+09+10+11+12+23+29+39+49)
SP9 (03+05+07+08+09+10+11+12+24+30+35+50)
SP9 A (03+05+07+08+09+10+11+12+24+30+40+50)

Fonte: Dados da Pesquisa

Na polinização artificial manual utilizou-se para cálculo de diária 30% dos frutos, enquanto na polinização artificial motorizada utilizou-se 70% dos frutos, sendo considerado 300 frutos por arroba ou 20 frutos por kg de amêndoas secas (Nakayama, 2018).

Os quantitativos dos insumos utilizados em cada prática, nº de repetições encontram-se no Quadro 3 e os preços no Anexo 1. Os coeficientes técnicos de mão de obra de cada prática se encontra no Anexo 2.

Foram considerados como custo de transporte 10% dos valores dos insumos. Para outras despesas 5% do valor da mão de obra, dos encargos e dos insumos, destinados à aquisição de ferramentas de pequeno valor, a exemplo de facão, serra, podão, lupa, pinça, etc.

Os custos de manutenção e depreciação foram calculados em percentuais dos valores dos equipamentos usados nas práticas agrícolas.

Com base nos coeficientes técnicos de mão-deobra, de insumos e de capital exigidos, com preços praticados no mês de dezembro de 2019 no Sul da Bahia, calcularam-se os custos de cada prática agrícola empregada no processo de produção, que se dividiu em mão de obra, encargos sociais, insumos e equipamentos.

Com relação aos encargos sociais utilizou-se repouso remunerado 8/22 avos ou seja, para cada 22 dias trabalhados 8 são remunerados como descanso, férias 1/12 avos das jornadas, 13° salário 1/12 avos das jornadas, abono de férias 1/3 das jornadas, o fundo de garantia por tempo de serviço e o INSS 8% e 2,7%, respectivamente, sobre jornadas, repouso remunerado, férias, 13° salário e abono de férias.

Desconsideraram-se o aviso prévio, licença paternidade, multa de rescisão de contrato sem justa causa, licença por morte de parente e afastamento por doença.

A partir do segundo ano os custos para roçagem e desbrota tendem a diminuir em virtude da redução do banco de sementes e definição das copas, tornando a área "bate folha", e da retirada das gemas responsáveis pelos brotos, respectivamente.

Eventualmente as polinizações manual e motorizada podem ser complementares a depender da quantidade de flores, ficando, entretanto, seu somatório de diárias equivalente a uma das práticas (ou manual ou motorizada).

A utilização de inseticidas é localizada e restrita a área da ocorrência ou ataque de pragas.

A poda manual foi considerada como repetição em um terço da área (1/3), ou seja, a cada três anos ele realiza a prática agrícola em toda área.

#### Resultados e Discussões

No Quadro 3 estão representados os custos totais de cada tecnologia ou prática agrícola empregada no processo de produção de cacau, conforme dados da pesquisa, levando em consideração o número de vezes ou repetições que é necessário usar uma determinada prática, bem como o equivalente em arrobas, em R\$ (reais) e US\$ (dólares) para pagar os custos de realização de cada prática.

De acordo com o Quadro 4, verifica-se que o ponto de nivelamento, de acordo com o sistema de produção SP ou nível de tecnologia SP, ocorre com a produtividade de 18,08 arrobas/ha, ou seja,

Quadro 3 - Custos totais das principais práticas agrícolas utilizadas na cacauicultura na região Sulbaiana

	CUSTO DA PRÁTICA POR HECTARE				
PRÁTICAS AGRÍCOLAS	UMA REALI-	Nº REPE-		OTAL POR AN	0
	ZAÇÃO @	TIÇÕES	@	R\$	US\$
01- CONTROLE DE ERVAS DANINHAS - Roçagem manual	2,55	2,00	5,10	883,18	214,38
02- CONTROLE DE ERVAS DANINHAS - Roçagem controle químico	0,94	2,00	1,88	324,84	78,84
03- CONTROLE DE ERVAS DANINHAS - Roçagem mecânica	1.03	2,00	2.06	356,64	88.56
04- DESBROTA TRADICIONAL (Broto maduro)	2.19	3.00	6.58	1.135,52	275,81
05- DESBROTA DESPIOLHAMENTO (Broto novo)	0.38	3,00	1,09	189,25	45,94
06- PODA TRADICIONAL (podão, facão)	6,58	0,33	2,16	374,72	90,95
07- PODA MECÂNICA (Moto poda, tesoura, serra)	2,04	1,00	2,04	353,66	85,84
08- REMOÇÃO DE VASSOURAS	2.19	2.00	4.37	757.01	183.74
09- COMBATE ÁS PRAGAS (Inseticida CONECT)	0,49	2,00	0,98	169,35	41,11
10- CONTROLE DE DOENÇAS (Cobre ATAR 50% P.A.) 6g p/planta P.C.	4,14	4,00	16,57	2.868,12	696,15
11- CALAGEM	1,88	1,00	1,88	321,67	78,07
12- GESSAGEM	2,59	1,00	2,59	448,17	108,78
13- ADUBAÇÃO MINERAL (NPK) para 40 @	3,98	1,00	3,98	689,34	167,31
14- ADUBAÇÃO MINERAL (NPK) para 60 @	6,25	1,00	6,25	1.082,64	262,78
15- ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 80 @	5,24	1,00	5,24	907,84	220,35
16- ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 100 @	12,07	1,00	12,07	2.088,70	506,97
17- ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 200 @	17,94	1,00	17,94	3.105,73	753,82
18- ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 300 @	22,49	1,00	22,49	3.893,40	945,00
19- ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 400 @	24,88	1,00	24,88	4.303,07	1.044,43
20- ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 500 @	31,23	1,00	31,23	5.406,41	1.312,24
21- ADUBAÇÃO FOLIAR para 200@	9,73	1,00	9,73	1.684,41	408,84
22- ADUBAÇÃO FOLIAR para 300@	9,73	1,00	9,73	1.684,41	408,84
23- ADUBAÇÃO FOLIAR para 400@	9,73	1,00	9,73	1.684,41	408,84
24- ADUBAÇÃO FOLIAR para 500@	9,73	1,00	9,73	1.684,41	408,84
25- ADEQUAÇÃO DE SOMBRAS	08,0	1,00	08,0	137,80	33,45
26- IRRIGAÇÃO	14,72	1,00	14,72	2.547,72	618,38
27- FERTIRRIGAÇÃO para 200 @/ha	23,56	1,00	23,58	4.078,11	989,83
28- FERTIRRIGAÇÃO para 300 @/ha	32,05	1,00	32,05	5.547,82	1.348,58
29- FERTIRRIGAÇÃO para 400 @/ha	33,43	1,00	33,43	5.788,71	1.404,54
30- FERTIRRIGAÇÃO para 500 @/há	34,82	1,00	34,82	6.028,26	1.463,17
31- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MANUAL para 100@	4,26	1,00	4,26	737,33	178,96
32- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MANUAL para 200@	8,54	1,00	8,54	1.478,18	358,78
33- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MANUAL para 300@ 34- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MANUAL para 400@	12,78 17,04	1,00 1,00	12,78 17,04	2.211,99	536,89 715,85
35- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MANUAL para 500@	21,30	1,00	21,30	2.949,32 3.686,65	894,82
36- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MANDAL PARA 500@  36- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MECÂNICA VENTILAÇÃO FORCADA p 100@	0.47	10.00	4.73	818.33	198.62
37- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MECÂNICA VENTILAÇÃO FORÇADA P 100@	0,47	20,00	9,73	1.636.66	397.25
38- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MECÂNICA VENTILAÇÃO FORÇADA p 300@	0,47	30,00	14,18	2.454,99	595,87
39- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MECÂNICA VENTILAÇÃO FORÇADA p 400@	0.47	40,00	18,91	3.273,32	794,50
40- POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MECÂNICA VENTILAÇÃO FORÇADA p 500@	0,47	50,00	23,63	4.091,65	993,12
	4.25	1.00	4.25	738,11	178,67
41- BENEFICIAMENTO (20@)	6.38	1,00	6,38	1.104,17	268.00
42- BENEFICIAMENTO (30@)	8,50	1,00	8.50	1.472,23	357,34
43- BENEFICIAMENTO (40@) 44- BENEFICIAMENTO (60@)	12.78	1,00	12.78	2.208.34	538.00
45- BENEFICIAMENTO (80@)	15.59	1,00	15,59	2.699,08	655.12
46- BENEFICIAMENTO (100@)	17,72	1,00	17,72	3.067,14	744,45
47- BENEFICIAMENTO (200@)	28,35	1,00	28,35	4.907,42	1.191,12
48- BENEFICIAMENTO (300@)	39.33	1,00	39.33	6.809,04	1.652,68
49- BENEFICIAMENTO (400@)	49.61	1,00	49.61	8.587,98	2.084,46
50- BENEFICIAMENTO (500@)	53,15	1,00	53,15	9.201,41	2.233,35
					_

Quadro 4 – Receita esperada, custo da tecnologia, margem bruta e a relação custo benefício das principais tecnologias utilizadas na cacauicultura na região Sulbaiana

PRO DU ÇÕES E RECEITAS BRUTAS ESPERAD.										
BRUTA E RELAÇÃO BENEFÍCIO/CU STO DO SI	IÍVEIS DE TE	CNOLOGIA	U SADOS NA	A PRODUÇ	ÃO DE CA	CAU				
	RECEITA			CUSTO DA			M ARG EM			RELAÇÃO
NÍVEIS DET ECNO LOGIA		E SPERADA		TECNOLOGIA			BRUTA			CUSTO (@
	(@/HA)	(U S\$)	R\$	(@/HA)	(U S\$)	R\$	(@/HA)	(U S\$)	R\$	BEN EFÍCIO
SP (01+04+06+41)	20	840,39	3.462,40	18,08	759,60	3.129,53	1,92	80,79	332,87	1,11
								-		
SP1 (01+04+06+09+42)	30	1.260,58	5.193,60	21,18	890,03	3.666,94	8,82	370,55	1.526,66	1,42
								-		
SP2 (02+05+06+09+11+13+25+43)	40	1.680,78	6.924,80	21,25	893,01	3.679,20	18,75	787,77	3.245,60	1,88
PD9 109 - 05 - 00 - 00 - 00 - 44 - 44 - 25 - 440	60	2 524 47	40 207 22	20.00	4.050.00	5 507 40	27.67	4 492 57	4 700 70	4.00
SP3 (03+05+06+08+09+11+14+25+44)	00	2.521,17	10.387,20	32,33	1.358,60	5.597,42	27,67	1.162,57	4.789,78	1,88
SP4 (03+05+06+08+09+10+11+15+25+45)	80	3.381,55	13.849.60	50,72	2.131,43	8.781.49	29.28	1.230.12	5.068.11	1.58
314 (03-03-00-00-03-10-11-13-23-43)	8	3.30123	13.040,00	30,12	2.131,73	0.701,40	20,20	1.200,12	3.000,11	1,30
SP5 (03+05+07+08+09+10+11+12+16+25+46)	100	4.201.94	17.312.00	62.14	2.611.05	10.757,51	37.88	1.590.90	6.554.49	1,61
010 (00-00-01-00-00-10-11-12-10-20-40)	100	1.201,01	11.012,00	32,11	2.011,00	10.101,01	0.,00	1.000,00	0.001,10	1,01
SP6 (03+05+07+08+09+10+11+12+17+21+25+47)	200	8.403.88	34.624.00	88.37	3.713.41	15.299.24	111.63	4.690.48	19.324.76	2.26
,								-		$\vdash$
SP6 A (03+05+07+08+09+10+11+12+17+21+25+26+32+47)	200	8.403,88	34.624,00	111,63	4.690,57	19.325,13	88,37	3.713,32	15.298,87	1,79
								-		
SP6 B (03+05+07+08+09+10+11+12+21+25+27+37+47)	200	8.403,88	34.624,00	103,44	4.346,67	17.908,28	98,58	4.057,21	16.715,72	1,93
								-		
SP7 (03+05+07+08+09+10+11+12+22+28+33+48)	300	12.605,83	51.938,00	125,45	5.271,15	21.717,14	174,55	7.334,67	30.218,88	2,39
								-		
SP7 A (03+05+07+08+09+10+11+12+22+28+38+48)	300	12.605,83	51.936,00	126,85	5.330,13	21.980,14	173,15	7.275,69	29.975,88	2,37
PD0 100 - 05 - 07 - 00 - 00 - 10 - 11 - 10 - 20 - 20 - 2 1 - 100	400	40 007 77	90 040 00	444.00	E 020 00	24 472 20	258.64	40.007.00	4477570	2.02
SP8 (03+05+07+08+09+10+11+12+23+29+34+49)	400	16.807,77	69.248,00	141,38	5.939,88	24.472,30	238,04	10.887,89	44.775,70	2,83
SP8 A (03+05+07+08+09+10+11+12+23+29+39+49)	400	16.807.77	69.248,00	143,23	6.018,52	24.798,31	258,77	10.789.25	44.451,69	2.79
31 0 A (03-03-01-00-03-10-11-12-23-23-33-43)	700	10.001 / 1	03.270,00	170,23	0.010,32	24.130,31	200,11	10.703,23	77.701,03	2,13
SP9 (03+05+07+08+09+10+11+12+24+30+35+50)	500	21.009.71	88.580.00	150.56	6.326.36	28.084.80	349.44	14.683.35	60.495.40	3.32
		2		122,00			2.22.11	-		-,
SP9 A (03+05+07+08+09+10+11+12+24+30+40+50)	500	21.009,71	88.580,00	152,90	6.424,66	26.469,61	347,10	14.585,05	60.090,39	3,27

Fonte: Dados da Pesquisa

considerando-se a somatória dos produtos marginais das práticas agrícolas necessárias para compor o sistema de produção SP e multiplicar pelo preço de mercado (R\$ 173,12) encontra-se o valor do produto marginal (R\$ 3.129,53), que é igual ao preço dos fatores (US\$ 759,60\* R\$ 4,12). Isto quer dizer que se o produtor conseguir a produtividade de 20 arrobas de cacau com o sistema de produção SP ele cobrirá todos os custos da tecnologia SP que é de 18,08 @ e, portanto, terá um lucro de 1,92 arrobas/ha.

De acordo com determinado sistema de produção utilizado (SP a SPA) há uma variação na relação custo/benefício de 1,11 a 3,27. A relação custo/benefício do sistema de produção SP é positiva, ou seja, para cada R\$ 1,00 investido o produtor terá um retorno de R\$ 1,11, ou seja, um lucro de R\$ 0,11. A relação custo/

benefício mais alta é do sistema de produção SP9, no qual para cada R\$ 1,00 investido dar-se-á um retorno de R\$ 3,32.

Na mudança do sistema de produção SP6 para SP6 A e B há um aumento considerável dos custos de produção, em virtude da introdução da irrigação e da fertirrigação, mas, o produtor de cacau ganha na redução do risco de uma estiagem prolongada (seca) e, consequentemente, evita a redução de sua produção, ou seja, tem mais segurança na obtenção da produção desejada. O mesmo deve ser considerado quando utiliza a polinização artificial manual ou a motorizada, pois embora aumentem os custos de produção, resulta também em maior número de flores fecundadas e frutos vingados, e, consequentemente, no aumento de produção na propriedade.

Também, de acordo com o Quadro 5, verifica-se que o sistema de produção mais completo é o SP9, com uma produtividade esperada de 500 @/ha. Considerando o preço médio de R\$ 173,14/@, obtemse uma receita bruta de R\$ 86.560,00/ha e um custo de R\$ 26.064,60/ha, o que proporciona ao produtor uma receita líquida de R\$ 60.495,40/ha. Isto representa um índice de lucratividade de 69,89% e um ponto de nivelamento de 150,56@/ha. Ao citado custo e produtividade esperada de 500 @/ha, a taxa de câmbio utilizada 1US\$ = R\$ 4,12, obtem-se um custo de produção de US\$ 0,84/kg. Observa-se que o custo de produção em R\$/@ vai decrescendo de R\$ 156,48, no sistema de produção SP, para R\$ 52,13/@, no sistema de produção SP9. Ao preço de R\$ 173,14/@ considerando a mesma taxa de câmbio obtem-se um preço ao produtor de US\$ 2,80/Kg. Comparando o custo de produção com o preço ao produtor obtem-se uma relação de 30,11%.

Para melhor visualização dos custos das práticas agrícolas por sistema de produção e por produtividade elaborou-se o Quadro 6, o qual pode servir de referencial para que produtores possam decidir sobre o sistema de produção a ser utilizado na sua propriedade.

Neste trabalho, os pesquisadores se propuseram a fazer um exercício sobre a viabilidade dos diversos sistemas de produção ou níveis de tecnologias utilizadas. Logicamente que esse não é um trabalho de campo, portanto, as produtividades dos diversos sistemas de produção são as esperadas, baseadas na experiência dos autores, depois de consultarem também diversos extensionistas da CEPLAC e cacauicultores. Além

disso, de acordo com tese de doutorado de (Pedreira, 2018), na área experimental localizada no município de Uruçuca no Sul da Bahia, objetivou-se quantificar a produção de frutos e amêndoas, avaliar o estado nutricional e a exportação de macro e micronutrientes por frutos de clones de cacaueiros tolerantes à vassoura-de-bruxa. Foram coletadas amostras de folhas e frutos dos clones: CCN-51, CCN-10, CEPEC-2002, CEPEC-2005, CEPEC-2007, PH-15 e PS-1319. Como resultados mais inerentes a este trabalho obtevese que os genótipos CCN-51 e o PS-1319 possuíram o melhor perfil agronômico com características superiores em relação à produção de amêndoas chegando a 7.555 e 5.377 kg ha-1 ano-1, respectivamente, e baixo IF para cada tonelada de amêndoas secas.

#### Projeto 500

O Projeto 500 foi desenvolvido pela CEPLAC em 2005 com ênfase na identificação e eliminação das causas do baixo rendimento nas plantações e na adoção de técnicas voltadas ao atendimento das necessidades nutricionais, fisiológicas e reprodutivas de cacaueiros geneticamente superiores, conduzidos em adequadas condições de manejo, em validação até 2017, em 700 fazendas, a partir daí foi ampliando o número de participantes, alcançando atualmente 1.000 produtores.

Objetiva alcançar a produtividade de 500@ de cacau seco por hectare/ano com o mínimo de mil pés de cacau. Esta tecnologia busca a reparação das perdas no processo de produção frequentemente observadas nos

Quadro 5 - Indicadores de Lucratividade e Ponto de nivelamento para diferentes tecnologias utilizadas na cacauicultura na região Sulbaiana

	Indicadores de Lucratividade e Ponto de nivelamento para diferentes tecnologias na cacauicultura														
Indicadores de Tecnologias	\$P	SP1	SP2	\$ P3	SP4	SP5	SP6	SP6 A	SP6 B	SP7	SP7 A	SP8	SP8 A	SP9	SP9A
Produtividade Esperada (@ha)	20	30	40	60	80	100	200	200	200	300	300	400	400	500	500
Preço ao Produtor (R\$/@)	173,12	173,12	173,12	173,12	173,12	173,12	17312	173,12	173,12	173,12	173,12	173,12	173,12	173,12	173,12
Receita Bruta (R\$/ha)	3.462,40	5.193,60	6.924,80	10.387.20	13.849,60	17.312,00	34 6 24,00	34.624,00	34.62400	51.936,00	51.936,00	69.248,00	69.248,00	86.560,00	86.560,00
Custo do Sistema de Produção R\$/ha)	3.129.53	3.666,94	3.679,20	5.597.42	8.781,49	10.757,51	15 299,24	19.325.13	17.90828	21,717,14	21.960,14	24.472.30	24.796,31	26.064,60	26.469,61
Receita Líquida(R\$/ha)	332,87	1.526,66	3 2 45,60	4,789.78	5.068,11	6.554,49	19.324,76	15 298 87	16.715.72	30.218,86	29.975,86	44,775,70	44.451.69	60.495,40	60.090,39
Índice de Lucratividade (%)	9,61	29,39	46,87	46,11	36,59	37,86	55,81	44,19	48.28	58,18	57,72	64,66	64,19	69,89	69,42
Ponto de Nivelamento (@/ha)	18,08	21,18	21,25	32,33	50,72	62,14	88,37	111.63	103,44	125,45	126,85	141,36	143.23	150,56	152,90
Custo de Produção US\$/kg	2,53	1,98	1,49	1,51	1,78	1,74	1,24	1,56	1,45	1,17	1,18	0,99	1,00	0,84	0,86
Custo de Produção R\$/@	156,48	122,23	91,98	93,29	109,77	107,58	76,50	96,63	89,54	72,39	73,20	61,18	61,99	52,13	52,94
Preço ao Produtor US\$/kg	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80
Razão Custo de Produção/Preço ao Produtor	90,39	70,61	53,13	53,89	63,41	62,14	44,19	55,81	51,72	41,82	42,28	35,34	35,81	30,11	30,58

Fonte: Dados da Pesquisa

Quadro 6 - Custos das práticas agrícolas ou tecnologia de acordo com os sistemas de produção (níveis de tecnologia) e produtividades

					Sist	emas	de Pro	oduçã	o e Pro	odutivi	dades	<b>S</b>			
PRÁTICAS AGRÍCOLAS	SP	SP1	SP2	SP3	SP4	SP5	SP6	SP6A		SP7	SP7A	SP8	SP8A	SP9	SP9A
01-CONTROLE DE ERVAS DANINHAS — Roçagem manual	883,18	883,18													
02-CONTROLE DE ERVAS DANINHAS – Roçagem controle químico			324,84												
03-CONTROLE DE ERVAS DANINHAS - Roçagem mecânica				356,64	356,64	356,64	356,64	356,64	356,64	356,64	356,64	356,64	356,64	356,64	356,64
04-DESBROTATRADICIONAL (Broto maduro)	1.135,52	1.135,52		,	,						,				
05-DESBROTA DESPIOLHAMENTO (Broto novo)			189,25	189,25	189,25	189,25	189,25	189,25	189,25	189,25	189,25	189,25	189,25	189,25	189,25
06-PODA TRADICIONAL (podão, facão)	374,72	374,72	374,72	374,72	374,72										
07-PODA MECÂNICA (Moto poda, tesoura, serra)	- /	,	,	- /	,	353,66	353,66	353,66	353,66	353,66	353,66	353,66	353,66	353,66	353,66
08-REMOÇÃO DE VASSOURAS				757,01	757,01	757,01	757,01	757,01	757,01	757,01	757,01		757,01		757,01
09-COMBATE ÁS PRAGAS (Inseticida CONECT)		169.35	169.35	169,35	169,35	169,35		169,35	169,35	169,35	169,35		169,35	169,35	
10-CONTROLE DE DOENÇAS (Cobre ATAR 50% P.A.) 6g p/planta P.C.		,	,	,	_	2.868,12	_	2.868,12	-		_	_	2.868,12		
11-CALAGEM			321.67	321,67	321.67	321,67	321,67	-	321,67	321,67	321,67	321,67	321,67	321,67	-
12-GESSAGEM			021,07	02.,07	021,07	448,17	448,17	448,17	448,17	448,17	-	448,17	448,17	448,17	
13-ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 40 @			689,34			-,	-,	-,	-,	-,	-,	-,			-,
14-ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 60 @				1.082,64											
15-ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 80 @					907.84										
16-ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 100 @					23.,04	2.088.70									
17-ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 200 @						,/0	3.105,73	310570							
18-ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 300 @							3.100,73	3.105,73							
19-ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 400 @															
20-ADUBAÇÃO MINERAL MODULAR (NPK) para 500 @															
21-ADUBAÇÃO FOLIAR para 200@							1 004 41	1 004 41	1 004 41						
22-ADUBAÇÃO FOLIAR para 300@							1.004,41	1.684,41	1.004,41	1 694 41	1.684,41				
23-ADUBAÇÃO FOLIAR para 400@										1.004,41	1.004,41	1.684,41	1 684 41		
24-ADUBAÇÃO FOLIAR para 500@												1.001,11	1.001,11	1 004 41	1 004 41
25-ADEQUAÇÃO DE SOMBRAS			407.00	407.00	407.00	407.00	407.00	407.00	407.00					1.004,41	1.684,41
26-IRRIGAÇÃO			137,80	137,80	137,80	137,80	137,80	137,80 2.547,72	137,80						
27-FERTIRRIGAÇÃO para 200 @/ha								2.341,12	4.070.44						
28-FERTIRRIGAÇÃO para 300 @/ha									4.078,11	554792	5.547,82				
29-FERTIRRIGAÇÃO para 400 @/ha										3.347,02	J.J47,02	5.786,71	E 70C 71		
30-FERTIRRIGAÇÃO para 500 @/há												3.760,71	5.760,71	0.000.00	0.000.00
														6.028,26	6.028,26
31-POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MANUAL para 100@  32-POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MANUAL para 200@															
33-POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MANUAL para 200@								1.478,18							
<u> </u>										2.211,99					
34-POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MANUAL para 400@												2.949,32			
35-POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MANUAL para 500@														3.686,65	
36-POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MECÂNICA VENTILAÇÃO FORÇADA p100@															
37-POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MECÂNICA VENTILAÇÃO FORÇADA p200@									1.636,66						
38-POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MECÂNICA VENTILAÇÃO FORÇADA p300@											2.454,99				
39-POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MECÂNICA VENTILAÇÃO FORÇADA p400@													3.273,32		
40-POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL MECÂNICA VENTILAÇÃO FORÇADA p 500@															4.091,6
41-BENEFICIAMENTO (20@)	736,11														
42-BENEFICIAMENTO (30@)		1.104,17													
43-BENEFICIAMENTO (40@)			1.472,23												
44-BENEFICIAMENTO (60@)				2.208,34											
45-BENEFICIAMENTO (80@)					2.699,08										
46-BENEFICIAMENTO (100@)						3.067,14									
47-BENEFICIAMENTO (200@)							4.907,42	4.907,42	4.907,42						
48-BENEFICIAMENTO (300@)										6.809,04	6.809,04				
49-BENEFICIAMENTO (400@)												8.587,98	8.587,98		
50-BENEFICIAMENTO (500@)														9.201,41	
51-TOTAL	3.129,53	3.666,94	3.679,20	5.597,42	8.781,49	10.757,51	15299,24	19.325,13	17.908,27	21.717,14	21.960,14	24.472,30	24.796,31	26.064,60	26.469,6

sistemas manejados convencionalmente e provê inovações como polinização artificial e adubação modular, dentre outras, como condições para que os cacaueiros alcancem o pleno potencial produtivo escalonado, partindo de 100 até 500 arrobas por hectare. Como objetivos específicos do projeto 500 tem-se: a) elevar a produtividade escalonada para 100, 200, 300, 400 e 500 (@/ha/ano); b) reduzir o uso de mão de obra no processo produtivo; c) efetuar compras em comum de insumos; d) reduzir custos; e) realizar vendas em comum de amêndoas de cacau; f) comercializar produtos derivados do cacau: sibira, mel, geleia, licor, aguardente e nibs; e e) aumentar a lucratividade.

Os principais clones utilizados no projeto 500 são: PS - 1319, CCN - 51, PH - 09, PH - 16, BN - 34, Ipiranga I, etc., em um total de 18 clones indicados atualmente pelo Centro de Pesquisas e Inovação do Cacau.

Porém, essa realidade das 500 @/ha já está sendo vivenciado na Fazenda Rio Doce, em Canavieiras, em área comercial do produtor rural Marcos Melo. No Quadro 7 relacionam-se alguns produtores que aderiram ao Projeto 500 desenvolvido pela Ceplac, além de informações sobre número de plantas, produtividade máxima alcançada e tempo de participação no mesmo.

Comparando os resultados obtidos por Ruf & Milly (1990), citados por Irfan ul Haque (2004), com os resultados deste trabalho, verifica-se que houve um decréscimo significativo no custo de produção, de US\$

1,62/kg, no período 1995-1999, para US\$ 0,84/kg, para dezembro de 2019, considerando o sistema de produção SP9. Note-se que compara-se com a tecnologia mais completa e que obteve o melhor resultado, a SP9. Mas, mesmo comparando-se com as tecnologias mais inferiores até SP6 (US\$ 1,23/Kg), assim mesmo, o custo de produção foi reduzido (Quadro 8). Entre os sistemas de produção SP e SP5 verifica-se que os custos de produção por quilo continuam acima de 1,73/kg. Da mesma forma o preço ao produtor aumentou, saindo de US\$ 1,18/kg para US\$ 2,80/kg. A relação entre o custo de produção e o preço ao produtor foi reduzida, saindo de 137% para 29,99% considerando a melhor produtividade. Essa redução na relação se deu não por causa do decréscimo do custo de produção, mas pelo aumento de produtividade e do preço do cacau ao produtor.

#### Conclusões e Sugestões

As tecnologias que obtiveram os maiores índices de lucratividade foram a SP9 e SP9A, e aquelas que obtiveram os menores retornos foram a SP e SP1. O produtor que aplicou a tecnologia mais completa, no caso, a SP9, ao preço de mercado obtido por arroba de cacau, R\$ 173,12, obteve um ponto de nivelamento alto, 150,56@/ha para uma produção de 500@/ha, bastante superior à média de produtividade existente na Bahia, que é em torno de 20@/ha. Isto evidencia

Quadro 7 - Relação de produtores que fazem parte do Projeto 500 com o nome da fazenda, município, número de plantas, produtividade máxima alcançada e tempo no projeto para efeito de validação

Produtor	Fazenda	Município	N° de Plantas	Produtividade máxima alcançada em @	Tempo no projeto
Marcos Melo Saf	Rio Doce	Canavieiras	10.000	289	2,5 anos
Thiago Ribeiro	A Vermelha	Gandu	4.500	214	6 anos
Ivan Viana	Gameleira	Gandu	2.000	211	1 ano
Jorge Carilo	São Jorge	Ilhéus	1.200	215	2 anos
José Maltez	Limoeiro	Itacaré	1.800	179	4 anos
Paulo Veloso	São Luís	Ilhéus	1.800	179	2 anos
Aldo Pinheiro	São Jorge	Ilhéus	1.200	151	2 anos
Marivaldo Nunes	L. dos Vales	Uma	1.700	207	2 anos
Cantagalo	Santa Cruz	Itacaré	200	365	2 anos
Lourivaldo Assis	5 Irmãos	Jequié	1.000	138	7 meses
Laércio Reis	Manguinha	Canavieiras	800	248	2 anos
José H. Souza Saf	Tiriri	P. do Norte	1.000	243	1 ano
Marcos Melo Saf	Rio Doce	Canavieiras	1.000	503	3,5 anos

		Custo de	Preço aos	Preco de	Razão do Custo de Produção			
		Produção (US\$/Kg)	Produtores (US\$/Kg)	Exportação (US\$/Kg)	Preços aos Produtores %	Preço de Exportação %		
	* 1995-99	1.62	1,18	1,44	137	112		
	Dezembro 2019 (SP9)	0,84	2,80	2,51	37	40		
	Dezembro 2019 (SP8)	0,99	2,80	2,51	42	46		
	Dezembro 2019 (SP7)	1,17	2,80	2,51	51	56		
Brasil	Dezembro 2019 (SP6)	1,24	2,80	2,51	67	73		
Diasii	Dezembro 2019 (SP5)	1,74	2,80	2,51	72	78		
	Dezembro 2019 (SP4)	1,78	2,80	2,51	75	82		
	Dezembro 2019 (SP3)	1,51	2,80	2,51	57	63		
	Dezembro 2019 (SP2)	1,49	2,80	2,51	73	80		
	Dezembro 2019 (SP1)	1,98	2,80	2,51	86	94		
	Dezembro (SP)	2,53	2,80	2,51	129	140		

Quadro 8 - Estimativa dos Custos de Produção do Brasil em períodos diferentes

Fonte: Dados da pesquisa

\* Ruf e Milly (1990)

a baixa tecnologia utilizada pelo produtor de cacau na Bahia.

A relação custo de produção com o preço ao produtor foi reduzida sensivelmente, porém, essa redução decorreu do aumento da produtividade e do preço pago ao produtor.

Os produtores devem se unir para realizarem "Vendas em Comum", mas, principalmente, "Compras em Comum" dos principais insumos agrícolas visando baratear os custos de produção.

Políticas para melhorar a produtividade e, consequentemente, baixar o custo unitário de produção, são condições "sine qua non" para que se possa ganhar em competitividade internacional.

#### Literatura Citada

- ANDRADE FILHO, E. N. 1990. Análise econômica das práticas agrícolas usadas na produção de cacau. CEPEC/CEPLAC.
- BANCO CENTRAL DO BRASIL. 2008. Disponível em: <a href="http://www.bcb.gov.br.">http://www.bcb.gov.br.</a> Acesso em: 31 maio.
- CHEPOTE, R. E. et al. 2013. Recomendações de corretivos e fertilizantes na cultura do cacaueiro no sul da Bahia. Boletim Técnico nº 203. CEPEC/CEPLAC/MAPA. 44p.
- FURLANETO, F. de P. B.; MARTINS, A. N.;

- ESPERANCINI, M. S. T. 2007. Análise econômica da bananicultura, cultivares do subgrupo cavendish, na região do médio Paranapanema, estado de São Paulo. Informações Econômicas, SP, v.37, n.2.
- HOFFMANN, R. et al. 1992. Administração da empresa agrícola. 7. ed. São Paulo, Pioneira, v. 1. 325p.
- IRFAN UL HAQUE, 2004. Commodities under Neoliberalism: The Case of Cocoa. United Nations conference on trade and development. Intergovernmental group of twenty-four. Number 25.
- MARTIN, N. B. et al. 1998. Sistema integrado de custos agropecuários CUSTAGRI. Informações Econômicas 28(1):7-28.
- MARROCOS, P. C. L. et al. 2009. Efeito do manejo da fertilização sobre a produtividade e incidência de doença em cacaueiros no Sul da Bahia. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 32. Fortaleza, CE.
- MENDES, J. T. G. 1998. Economia Agrícola: princípios básicos e aplicações. Editora ZNT Ltda. 2ª Edição. 458p.
- NAKAYAMA, K. 2018. Efeitos da ventilação na polinização do cacaueiro. Agrotrópica (Brasil) 30(3):195-204.

- NORONHA, J. F. 1987. Projetos Agropecuários. Administração Financeira, Orçamento e Viabilidade Econômica. 2 ed. São Paulo. Atlas.
- PEDREIRA, E. R. 2018. Características de produtividade e exportação de nutrientes por cacaueiros. Tese Doutorado. Programa de pósgraduação em produção vegetal-PPGPV. Ilhéus, Bahia. UESC.
- RAMOS, A. et al. 2014. Aplicação de nitrogênio e potássio via água de irrigação no crescimento de mudas clonais de cacaueiro. Agrotrópica (Brasil) 26(1):27-34.
- RUF, F.; DE MILLY, H. 1990. Comparison of cocoa production costs in seven producing countries. Paper resented at ICCO Advisory Group on the World Economy, seventh meeting, Accra, Ghana, 18.
- SECRETARIA DE AGRICULTURA, IRRIGAÇÃO E REFORMA AGRÁRIA. <a href="http://www.seagri.ba.gov.br.">http://www.seagri.ba.gov.br.</a> Acesso em: 31 maio. 2008.
- ZUGAIB, A. C. C.; SANTOS, A. M.; NASCIMENTO, V. A. 2008. Nível ótimo de produção, lucratividade e a relação custo-benefício na cultura do cacau. Disponível em: http://www.ceplac.gov.br/radar. Ceplac/Cepec, Ilhéus, Bahia. 17p.

#### **ANEXO 1**

### Tabela para atualização global da planilha

BASE DOS PREÇOS EM		Dia	16/09/2014
Valor amêndoa de cacau	1 @	R\$	173,12
Valor do dólar comercial	US\$	R\$	4,12
Valor do Salário Minimo		R\$	1.045,00
Conect	litro	R\$	53,00
Fungicida ATAR	1 kg	R\$	41,00
Diuron	litro	R\$	30,00
Calcário	sc.50 kg	R\$	8,50
Adubo N PK 16-24-16	sc.50 kg	R\$	95,00
Uréia	Saco	R\$	90,00
Roundup	litro	R\$	18,00
Tordon 101	litro	R\$	120,00
Gasolina	litro	R\$	4,80
Óleo 2T	litro	R\$	20,00
Roçadeira	Unid.	R\$	2.300
E PI	Unid.	R\$	80,00
Pulverizador Costal Manual	Unid.	R\$	240,00
Nylon	M	R\$	0,60
Motopoda	Unid.	R\$	2.600,00
Pulverizador Costal Motorizado	Unid.	R\$	1.700,00
Gesso	Saco	R\$	14,00
Soprador Motorizado	Unid.	R\$	1.700,00
Sistema de Irrigação	Sistema	R\$	6.000,00
Sistema de Fetirrigação	Sistema	R\$	6.500,00
Cloreto de Potássio - K Cl	Saco	R\$	90,00
Sulfato de Zinco	Kg	R\$	7,20
Sulfato de Maganês	Kg	R\$	5,00
Sulfato de Cobre - Fert	Kg	R\$	11,80
Ácido Bórico	Kg	R\$	3,80
Sulfato de Ferro	Kg	R\$	11,72
Boster	L	R\$	145,00
Supratrace	L	R\$	65,00
Broadacre Mn	L	R\$	67,00
E nergia	verba	R\$	810,00
Super Simples	Saco	R\$	53,00
Cloreto de Potassio Branco-Fert	Kg	R\$	2,52
Groflow	Kg	R\$	72,00

#### **ANEXO 2**

### Coeficientes Técnicos de mão de obra e repetições utilizados.

Prática agrícola (Tecnologia)	Coeficiente técnico	Nº de Repetições
Roçagem manual	7 jornadas/ha/1.000 plantas	2
Roçagem química	2 jornadas/ha/1.000 plantas	2
Roçagem mecânica	2 jornadas/ha/1.000 plantas	2
Desbrota tradicional	6 jornadas/ha/1.000 plantas	3
Desbrota despiolhamento	1 jornada/ha/1.000 plantas	3
Poda tradicional	18 jornadas/ha/1.000 plantas	0,33
Poda mecânica	4 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Remoção de vassoura	6 jornadas/ha/1.000 plantas	2
Combate as pragas aplicador	0,5 jornadas/ha/1.000 plantas	2
Controle de doenças	4 jornadas/ha/1.000 plantas	4
Calagem	2 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Gessagem	2 jornadas/ha/1.000 plantas	1
		1
Adubação Mineral 40@	4 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Adubação Mineral 60@	4 jornadas/ha/1.000 plantas	
Adubação Mineral 80@	4 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Adubação Mineral 100@	8 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Adubação Mineral 200@	12 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Adubação Mineral 300@	14 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Adubação Mineral 400@	16 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Adubação Mineral 500@	26 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Adubação Foliar 200@	9 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Adubação Foliar 300@	9 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Adubação Foliar 400@	9 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Adubação Foliar 500@	9 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Adequação de Sombra	1 jornada/ha/1.000 plantas	1
Irrigação	16,40 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Fertirrrigação para 200@	16,40 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Fertirrrigação para 300@	32,80 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Fertirrrigação para 400@	32,80 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Fertirrrigação para 500@	32,80 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Polinização artificial manual para 100@	15 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Polinização artificial manual para 200@	30 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Polinização artificial manual para 300@	45 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Polinização artificial manual para 400@	60 jornadas/ha/1.000 plantas	i
Polinização artificial manual para 400@	75 jornadas/ha/1.000 plantas	i
Polinização artificial manual para 500@	75 jornadas/ha/1.000 plantas	1
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		10
Polinização artificial mecânica para 100@	0,7 jornadas/ha/1.000 plantas	
Polinização artificial mecânica para 200@	0,7 jornadas/ha/1.000 plantas	20
Polinização artificial mecânica para 300@	0,7 jornadas/ha/1.000 plantas	30
Polinização artificial mecânica para 400@	0,7 jornadas/ha/1.000 plantas	40
Polinização artificial mecânica para 500@	0,7 jornadas/ha/1.000 plantas	50
Beneficiamento para 20 @	12 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Beneficiamento para 30 @	18 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Beneficiamento para 40 @	24 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Beneficiamento para 60 @	36 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Beneficiamento para 80 @	44 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Beneficiamento para 100 @	50 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Beneficiamento para 200 @	80 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Beneficiamento para 300 @	111 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Beneficiamento para 400 @	140 jornadas/ha/1.000 plantas	1
Beneficiamento para 500 @	150 jornadas/ha/1.000 plantas	1

# IDENTIFICATION IN SILICO AND CONFIRMATION VIA RT-qPCR OF CANDIDATE RESISTANCE GENES LINKED TO CERATCYSTIS WILT IN CACAO

Rogério Mercês Ferreira Santos<sup>1\*</sup>, Stela Dalva Vieira Midlej Silva<sup>2</sup>, Lívia Santos Lima Lemos<sup>5</sup>, Fabienne Micheli<sup>3,4</sup>, Karina Peres Gramacho<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana. Av. Transnordestina, s/n - Novo Horizonte, Feira de Santana - BA, 44036-900, Feira de Santana-BA, Brazil; <sup>2</sup>CEPLAC/CEPEC, 45600-970, Itabuna-BA, Brazil; <sup>3</sup>UESC, Centro de Biotecnologia e Genética, Rodovia Ilhéus-Itabuna km 16, 45662-900 Ilhéus-BA, Brazil; <sup>4</sup>CIRAD UMR AGAP, F-34398 Montpellier, France; <sup>5</sup>Universidade Federal do Sul da Bahia/IHAC, Campus Paulo Freire, Praça Joana Angélica, 250, Bairro São José, 45988-058, Teixeira de Freitas-Bahia, Brazil.

\*Corresponding author: rmfsantos@uefs.br

One strategy for the identification of candidate genes is the *in silico* detection of the genes present in the resistance linked genomic regions (QTLs). The present work locates and correlate *in silico* genes found in the previously region of mapped QTLs, selecting and testing candidate genes involved in the resistance of cacao to *C. cacaofunesta* by RT-qPCR. We found 156 genes identified in the LXD-GL3 region and 166 in the LXD-GL9 region were reduced to 17 and 19 candidate genes, respectively, and at least 2 genes (osmotin e thaumatin) are especially interesting. The level of osmotin transcription is generally low at the start of infection (6 hours after inoculation), increases slightly at 48 hai, and rapidly increases over the course of days (7 and 15 days after inoculation) in the two genotypes studied. The expression pattern of thaumatin in the susceptible CCN 51 genotype increased abruptly in the first days after infection (7 and 15 dai), while the resistant genotype TSH 1188 showed a smaller increase in 7 dai and 15 dai. The antifungal activity of these genes makes them candidates for genetic engineering in the production of disease resistant plants.

**Key words:** Ceratocystis cacaofunesta, QTLs, osmotin, thaumatin, differential expression.

Identificação *in silico* e confirmação via RT-qPCR de genes candidatos ligados a resistência à murcha-de-Ceratocystis em cacau. Uma estratégia para a identificação de genes candidatos é a detecção *in silico* dos genes presentes nas regiões genômicas ligadas à resistência (QTLs). O presente trabalho localiza e correlaciona genes encontrados *in silico* em regiões de QTLs previamente mapeados, selecionando e testando genes candidatos envolvidos na resistência do cacaueiro a *C. cacaofunesta* por RT-qPCR. Encontramos 156 genes identificados na região LXD-GL3 e 166 na região LXD-GL9, que foram reduzidos a 17 e 19 genes candidatos, respectivamente, e pelo menos 2 genes (osmotina e taumatina) são especialmente interessantes. O nível de transcrição de osmotina é geralmente baixo no início da infecção (6 horas após a inoculação), aumenta ligeiramente aos 48 hai e aumenta rapidamente ao longo dos dias (7 e 15 dias após a inoculação) nos dois genótipos estudados. O padrão de expressão da taumatina no genótipo suscetível CCN 51 aumentou abruptamente nos primeiros dias após a infecção (7 e 15 dai), enquanto o genótipo resistente TSH 1188 apresentou um aumento menor em 7 dai e 15 dai. A atividade antifúngica desses genes os torna candidatos à engenharia genética na produção de plantas resistentes a doenças.

Palavras-chave: Ceratocystis cacaofunesta, QTLs, osmotina, taumatina, expressão diferencial.

Recebido para publicação em 18 de junho de 2019. Aceito em 02 de abril de 2020. DOI: 10.21757/0103-3816.2020v32n1p21-30

22 Santos et al.

#### Introduction

The genus Ceratocystis includes several fungal species in various parts of the world. In Brazil, there are reports of the existence of three species: C. paradoxa, attacking mainly monocotyledons, C. cacaofunesta causing great problems in cacao plantations (*Theobroma cacao*) (Bezerra, 1997), and C. fimbriata, which causes disease in many cultures of economic importance such as mango (Mangifera indica) and eucalyptus (Eucalyptus spp.). In Brazil in 2001 this fungus was reported causing great problems in cacao plantations, causing a disease known as Ceratocystis wilt (CW). Currently in the cacao region of the State of Bahia the disease is already widely disseminated and the deaths already add up to the equivalent of 24% of the plants, mainly those derived from the clone ICS-1, such as the variety Theobahia (ICS-1 x Sca-6) (Silva and Luz, 2000; Ram, Valle and Freitas 2004), that are used as a source of resistance to witches' broom disease.

Ceratocystis cacaofunesta is a pathogen of difficult control, causes irreversible damage to the vascular system of the plant and in a short time the plant dies, but the dead leaves remain adhered for a long time, passing the fungus to grow in the decomposing tissue where the sexed and asexual spores are formed (Silva, Paim and Castro, 2004; Tumura, De Pieri and Furtado, 2012). The use of resistant cacao genotypes is the most efficient method to control of the disease (Silva, Paim and Castro, 2004; Silva et al., 2012; Delgado and Suárez, 2003; Baker et al., 2003; Alarcon, 1994; Lawrence, Campêlo and Figueredo, 1991).

In recent years, researchers around the world have used genomic information to identify disease resistance genes in cocoa (Micheli, Guiltinan and Gramacho, 2010; Argout et al., 2011). It is necessary to identify a large number of genes, so as to be able to study defense mechanisms that contribute to the development of resistant genotypes (Vrain, 1999). The cacao tree has a large database of ESTs composed of 56 cDNA libraries, including three libraries of interaction between cocoa (Jaca resistant genotype) and *C. cacaofunesta* (Argout et al., 2008; Jones et al., 2002; Gesteira et al., 2003; Verica et al., 2004), in addition to its decoded genome V1 (https://cocoa-genome-hub.southgreen.fr/genome-browser) made from the Criollo clone B97

(Argout et al., 2011). One strategy for the identification of candidate genes is the *in silico* detection of the genes present in the resistance linked genomic regions (QTLs). Santos et al. (2012b) established the quantitative nature of the resistance to CW of cacao.

In this study, 2 QTLs were found linked to CW resistance in linkage groups (LG) 3 and 9 (6.9% and 8.6% of the phenotypic variation, respectively) from a segregating F2 Sca-6 x ICS-1 population using SSR markers and EST-SSRs developed for this interaction (Santos et al., 2012a). The identification of genes already described in the literature as correlated to mechanisms of resistance in the QTL region may suggest the association of these genes to resistance to *C. cacaofunesta* in cacao, allowing the use of these genes for RT-qPCR studies and to confirm their possible association with this trait.

In this context, the present work was developed to locate and correlate in silico genes found in the region of mapped QTLs, selecting and testing candidate genes involved in the resistance of cacao to CW via RT-qPCR.

#### **Materials and Methods**

#### Identification of genes in the QTL region

The molecular markers located flanking or in peaks of QTLs for resistance to CW (Santos et al., 2012b) were used (Table 1) as an anchor point in the physical genome of cacao V1 (https://cocoa-genomehub.southgreen.fr/genome-browser) (Argout et al., 2011). The genetic reference map of the cacao was used (Pugh et al., 2004), a search in the NCBI (http:/ /www.ncbi.nlm.nih.gov/gquery/\$Url) for the marker mTcCIR135 for the LXD-GL3 and the marker mTcCIR266 for the LXD-GL9 was performed. The sequence containing the marker was then searched for in the cocoa genome (http://cocoagendb.cirad.fr/ gbrowse/cgi-bin/searching.pl). From the genome location, a search for 500 kb genes above and below the marker was made, totaling 1Mb per selected region (Figure 1).

The functional annotation of the genes was performed using the Blast2GO program (Gotz et al., 2008) using BlastN (E-value  $\leq 1e^{-3}$ ) in the non-redundant database (NR) of the NCBI. The mapping of ontology terms (GOs) was performed according to

Table 1. QTLs identified by Santos et al. (2012b) for resistance to Ceratocystis wilt

QTL	Linkage group	Flanking markers	Peak marker of QTL	Position in CM in map (Pugh et al., 2004)
LXD-G3	3	mTcCIR254-mTcCIR128	mTcCIR135	78.63
LXD-G9	9	mTcCIR266-mTcCIR126	mTcCIR108	8.22

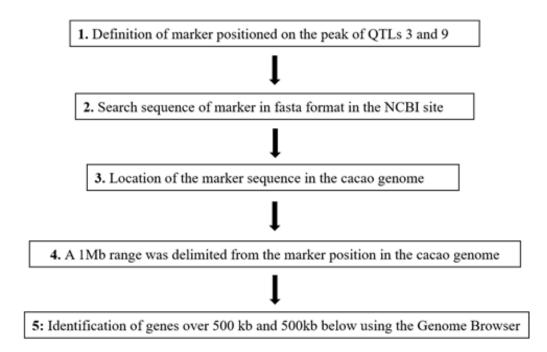


Figure 1. Schematic representation of the methodology used to identify genes close to the QTLs of LG  $_3$  (Tc03) and LG  $_9$  (Tc09).

Blast2GO instructions (http://www.blast2go.org/localgodb). Protein domains were mapped to Interproscan (http://www.ebi.ac.uk/Tools/pfa/iprscan) using the parameters determined by the Blast2GO program.

#### Inoculation of *C. cacaofunesta* in cocoa seedlings

Seedlings of the clones TSH 1188 (resistant to *C. cacaofunesta*) and CCN 51 (susceptible to *C. cacaofunesta*) from *Theobroma cacao* L. were grown in the CEPEC/CEPLAC greenhouse on a previously sterilized substrate under natural light and relative humidity of 90 %. The susceptible clone CCN 51 and the resistant clone TSH 1188 were chosen based on evidence of their demonstrated responses to CW from field progeny trials (Silva et al., 2006; Sanches et al., 2008; Santos et al., 2012a). The inoculation was carried out in six-month-old seedlings through a scalpel incision above the first stem node, where 30 ì 1 of a suspension at 3.0 x 10<sup>4</sup> CFU/mL of the isolate Cf 20

were deposited with an automated pipette. A moistened cotton was then placed below the incision to form a wet chamber and the site was sealed with adherent plastic tape (screw-thread).

Control seedlings were inoculated with sterile water and submitted to the same growth conditions. Typical symptoms of the disease were observed in 7 days in the CCN 51 clone, and at 15 days the plants were dead. The TSH 1188 clone did not develop visible symptoms. Approximately 125 mm³ of the tissue (stem) at the site where the inoculation was done were excised in 3 seedlings. Tissue stem from inoculated and non-inoculated (control) of CCN 51 and TSH 1188 plants were collected at 6, 48 hours of inoculation) (hai) and 7, 15 days after inoculation (dai), determined based on histopathological studies performed by Santos et al. (2013). The collected tissues were frozen in liquid nitrogen and stored at 80°C until use.

Santos et al.

# Extraction of total RNA from cocoa stem tissues and cDNA synthesis

Total RNA was extracted using the RNAqueousTM kit according to the manufacturer's instructions (Ambion®). RNA concentrations were determined by the GeneQuant II RNA/DNA Calculator spectrophotometer (Pharmacia Biotech). The synthesis of the cDNA was performed using the total RNA treated with DNAse according to the recommendations of the manufacturer of the High Capacity RNA-to-cDNA kit (Applied Biosystems).

#### Primers used and RT-qPCR

The pairs of primers were designed using Primer Express 3.0 software (Applied Biosystems) and were based on sequences selected from the previously described cocoa cDNA libraries (Gesteira et al., 2007) and the endogenous reference genes for cocoa according to Pinheiro and Litholdo (2011) are shown in Table 2.

As a calibrator, the treatment not inoculated with a pool of the 3 times tested for both genotypes was used. All samples used in the assay (target gene, endogenous gene, calibrator and NTC) were amplified in experimental triplicates for each biological replicate. Expression analyzes were performed on model 7500 Fast Thermal cycler (Applied Biosystems) using SYBRgreen. The reaction consisted of 1ul of the cDNA, 0.3µl of each primer (F-R) and 5µl of qRGreen PCR SuperMix (Invitrogen) to a total volume 10ul of each reaction. The reaction conditions were 50° C for 20 min, 95° C for 10 min followed by 40 cycles of 95° C for 15 min, 58 °C for 1min. To generate a lower cycle Threshold (Ct) a test was performed to verify the cDNA concentration as well as a concentration test of the primers to generate a lower Ct, higher ÄRn

Table 2. Primers used to evaluate the gene expression of cacao genotypes with primers sequence, amplification efficiency and R<sup>2</sup> obtained by RT-qPCR

Gene	Description Sequence (5'-3')	Efficiency	$\mathbb{R}^2$
Taumatin	F:CGGAGCGTGAAAGAGGAAT R:ACCAGCTTCAAAACCACCAG	1,93	0,98
Osmotin	F:TGTTGCATCCTGGTACTGCT R:GGCTTTCTTGCACTGGTACAC	1,94	0,99
Tubulin*	F:TCCTCTTCCAGCCATCTCTC R:TCTCCTTGCTCATTCGGTCT	1,95	0,99
EF1α*	F:AGGTCCACCAACCTTGACTG R:TTGGGCTCGTTAATCTGGTC	1,98	0,99

<sup>\*</sup> Endogenous reference genes for cocoa according to Pinheiro et al (2011).

and free of dimers. Before evaluating the expression profile of the gene, a test of the efficiency of the assay was performed, performing serial dilutions with 5 dilutions and 3 replicates, and the evaluation done by the slope indication of the standard curve and R<sup>2</sup>. After the reaction the data were collected and stored in Software 7500 version 2.0.5. The results were normalized using DataAssist <sup>TM</sup> software ver.3.01 (Life Technology).

#### **Results and Discussion**

# Search and annotation of the genes found in the QTLs region

A search and annotation of the genes comprised between 1Mb from the QTLs identified by Santos et al. (2012b) in the cacao genome (Argout et al., 2011; http://cocoagendb.cirad.fr/gbrowse) is performed (Figure 1). QTLs are found in LG 3 (LXD-GL3) and in LG 9 (LXD-GL9). We found 156 probable genes for LXD-GL3 and 166 for LXD-GL9 using BlastN with moderate astringency (Astchul et al., 1997).

These genes were annotated for gene ontology (GO) (Ashburner et al., 2000), biochemical routes (KEEG) (Kanehisa et al., 2008) and conserved protein domains (Interproscan) (Hunter et al., 2009). The description of homologous genes and all individual annotations were manually inspected for their relevance in resistance to CW and selected genes that showed correlations with biological functions linked to biotic and abiotic stresses or that were important for resistance to diseases according to specialized literature.

Candidates genes for resistance were selected by searching for unigenes associated with the word "stress", where the 156 genes identified in the LXD-

GL3 region and 166 in the LXD-GL9 region were reduced to 17 and 19 candidate genes, respectively. These genes are listed in Table 3. The specific terms used for the selection were: "stress response to abiotic stimulus" (GO: 0009628)"; "response to endogenous stimulus" (GO: 0009719); "response to extracellular stimulus" (GO: 0009991);" and "response to stress" (GO: 0006950).

Table 3. Candidate genes for Ceratocystis wilt resistance in the QTLs region

QTL	Unigene ID	Description Blast	Acess	Domains Interproscan	Description terms
LXD-GL3	Tc03:2299905323000016	thaumatin-like protein	GO:0050832	1	defense response to fungus
	Tc03:2300482423005876	osmotin-like protein	GO:0009817	6	defense response to fungus
	Tc03:2302716323032865	RNA helicase	GO:0009651	1	response to salt stress
	Tc03:2310854923111256	tubulin beta	GO:0009651	8	response to salt stress
	Tc03:2314775423149975	glutathione peroxidase-l prot	GO:0006979	1	response to oxidative stress
	Tc03:2319503223201524	glutamylcysteine synthetase	GO:0050832	1	defense response to fungus
	Tc03:2320626323208820	Protein	GO:0071367	7	cellular response stimulus
	Tc03:2341348323420621	beta-adaptin-like protein b	GO:0050690	4	regulation of defense
	Tc03:2342108323427653	dna repair and transc factor	GO:0009636	1	response to toxin
	Tc03:2344291123444152	zinc finger	GO:0009737	1	response to abscisic acid stimulus
	Tc03:2353106723535825	big map kinase	GO:0009737	5	response to abscisic acid stimulus
	Tc03:2353856223541706	heat shock protein 81-2	GO:0009414	5	response to water deprivation
	Tc03:2365824723663956	respiratory burst oxidase	GO:0050832	1	defense response to fungus
	Tc03:2372162023726477	calcium-dependent protein kinase	GO:0009651	7	response to salt stress
	Tc03:2375939623760428	Protein	GO:0006952	5	defense response
	Tc03:2382231223825122	6-phosphogluconate dehydrogenase	GO:0009749	10	response to glucose stimulus
	Tc03:2392231723975326	bax inhibitor	GO:0006983	1	ER overload response
LXD-GL9	Tc09:721425723705	enhancer of rudimentary	GO:0050832	1	defense response to fungus
	Tc09:728135730454	glutathione peroxidase	GO:0080167	1	response to karrikin
	Tc09:769270775070	btb poz domainprotein npy1-like	GO:0009416	4	response to light stimulus
	Tc09:831770833752	cbl-interacting protein kinase	GO:0050832	10	defense response to fungus
	Tc09:897196901975	Protein	GO:0009408	1	response to heat
	Tc09:940710942098	acidic mammalian chitinase-like	GO:0009753	8	response to jasmonic acid stimulus
	Tc09:974742975760	ap2 erf domain transcription factor	GO:0003700	1	transcription factor activity
	Tc09:983715988221	aspartate aminotransferase	GO:0009409	1	response to cold
	Tc09:10787301080693	flotillin-like protein	GO:0071456	5	cellular response to hypoxia
	Tc09:11270161133091	protein topless	GO:0009733	1	response to auxin stimulus
	Tc09:12043741208993	protein far 1-related sequence 6-like	GO:0009639	4	response to red or far red light
	Tc09:11044061107482	octicosapeptide phox domain protein	GO:000695	8	response to stress
	Tc09:12442311247337	h+-transp atp synthase-like protein	GO:0042742	3	defense response to bacterium
	Tc09:12561751257803	indole-3-acetic acid inducible 29	GO:0009733	1	response to auxin stimulus
	Tc09:12938021296902	1-ascorbate peroxidase	GO:0006979	1	response to oxidative stress
	Tc09:13912011396114	nitrate transporter	GO:0009611	3	response to wounding
	Tc09:14414371442156	low temp and salt responsive protein	GO:0050832	1	defense response to fungus
	Tc09:16193071621132	protein kinase	GO:0009414	1	response to water deprivation

Terms used for selection of candidate genes: response to abiotic stimulus (GO: 0009628); response to biotic stimulus (GO: 0009607); response to the endogenous stimulus (GO: 0009719); response to the extracellular stimulus (GO: 0009991); response to stress (GO: 0006950). The following terms have been omitted because of the low information content: biological process (GO: 0008150); biosynthesis process (GO: 0009058); connection (GO: 0005488); catalytic activity (GO: 0003824); cell process (GO: 0009987); DNA metabolic process (GO: 0006259); metabolic process (GO: 0008152). binding to proteins (GO: 000551).

Of the 17 genes selected for the LXD-GL3 region and the 19 genes for LXD-GL9, 8 and 5 genes respectively, were noted in the category "response to biotic factors" (GO: 0009607) and at least 2 of these 13 genes are especially interesting and were selected for confirmation of the differential expression via RT-qPCR. They are located on chromosome 3 at positions 22999053 to 23000016 and 23004824 to 23005876 (87.05% and 86% similarity; BLASTN E-value = 4.10E-87 and 1.06E-148,

respectively) being coded for osmotin (osmotin-like protein) with 6 related protein domains in Interproscan and thaumatin (thaumatin like-protein) (Table 3). Both osmotins and thaumatins belong to the family of the Pathogenesis Related Proteins 5 (PR5) (Liu, Sturrock and Ekramoddoullah, 2010), implicated in acquired and induced systemic resistance (Dong, 2001). Members of PR5 family have shown antifungal action, including against fungi that attack cocoa (Resende et al., 2002, 2010).

Santos et al.

It is important to note that these data do not prove a causal relationship between the genes identified and the probable genes involved in resistance to CW, but these genes are, however, good candidates for validation and differential gene expression experiments using RT-qPCR. Therefore, the study of the differential expression of genes in resistant and susceptible CW cacao clones under conditions of induction of expression by the pathogen will allow a better understanding of the plant-pathogen relationship, representing a valuable source of information that may be used in identification studies of resistance genes.

# **Expression of osmotin and thaumatin genes** after fungal infection in cocoa

To study the role of PR5 osmotin and thaumatin in cacao, we analyzed the accumulation of transcripts in two contrasting genotypes for resistance to CW. CCN 51 is a highly susceptible and TSH 1188 highly resistant genotype (Silva et al., 2012a). The progress of the disease after inoculation of these genotypes with *C. cacaofunesta* at different inoculation times (6 and 48 hai and 7 and 15 dai) can be observed in Figure 2. It can be observed that the inoculated TSH 1188 seedlings showed no symptoms, whereas in CCN 51 it is possible to notice characteristic progressive wilt and disease from 7 dai (Figure 2).

PR5 may also promote the release of phytoalexin elicitors (Bol, Linthorst, and Cornelissen, 1990; Kuc,

1985; Neuenschwander et al., 1995) as well as induce the synthesis of phenolic compounds (Keen and Yoshikawa, 1983; Kurosaki, Amin and Nishi, 1986). It is important to note that in histological studies of the *C. cacaofunesta*-cacao interaction was found a high concentration of phenolic compounds in the genotypes elicited with the fungus (Santos et al., 2013), indicating that these proteins may be related to the defense process in this patosystem. Studies have already confirmed the action of thaumatins against *Phytophthora* spp., causal agent of the brown rot disease of cacao (Evans, 2007).

These two genes are present in the libraries constructed from the *C. cacaofunesta*-cacao interaction. (Argout et al., 2008). We monitor the levels of transcription of osmotin and thaumatin after infection by *C. cacaofunesta*. In both genes analyzed, a discrete increase in transcript levels in the first hours after inoculation (6 and 48 hai) and a large increase in later times (7 and 15 days) (Figure 3) were observed. Other factors that stimulate the expression of both thaumatin and osmotin are: abscisic acid (ABA), wounds, tobacco mosaic virus and ethylene (Singh, Makkar and Negi, 1989; Neale et al., 1990; Casas et al. (1992), which corroborates the expression levels of these genes in the initial times (6 and 48 hai) (Figure 3).

RT-qPCR analysis revealed that the level of osmotin transcription is generally low at the start of infection (6 hai), increases slightly at 48 hai, and rapidly increases



Figure 2. Cocoa seedlings inoculated with *Ceratocystis cacaofunesta*. A) TSH 1188 6 hai; B) TSH1188 48 hai; C) TSH 1188 7 dai; D) TSH 1188 15 dai; E) CCN 51 6 hai; F) 48 hai; G) CCN 51 7 dai; H) CCN 51 15 dai.

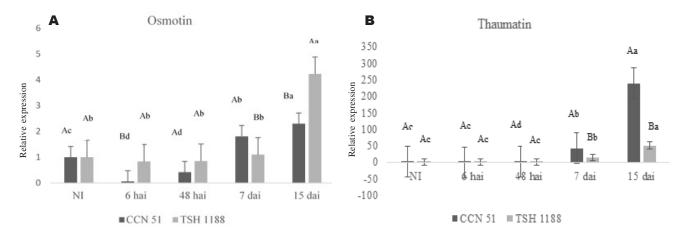


Figure 3. Relative expression based on RT-qPCR data from: A) the osmotin gene at 5 inoculation times (NI (control -not inoculated), 6 and 48 hai; 7and 15 dai) and 3B) the thaumatin gene at 5 inoculation times (NI (control - not inoculated), 6 and 48 hai; 7and 15 dai) in CCN 51 and TSH 1188 of *C. cacaofunesta*-cacao interaction. The control, used as calibrator (for this reason is always 1), corresponds to the average of the expression values of Osmotin or Thaumatinin in 3 non-inoculated samples in each genotype (see also Methods section). The results are the arithmetical mean of the repetitions  $\pm$  standard error. Different letters indicate significant statistical difference between samples by the Scott-Knott test (P  $\leq$  0.01): lower case letters correspond to statistics between harvesting times for each genotype while upper case letters correspond to statistics between genotypes for each harvesting time. hai: hours after inoculation; dai: days after inoculation.

(approximately 4.5×) over the course of days (7 and 15 dai) in the two genotypes studied (Figure 3A).

Osmotin-like proteins (OLPs) are proteins of approximately 26 kDa belonging to the PR5 family, which have a high degree of homology to the thaumatin protein (Yun et al., 1997). The first osmotin was described in cultures of tobacco plant cells (Nicotiana tabacum) adapted to salinity conditions (Singh and Bracker, 1987). After the discovery of osmotin many studies have shown that its synthesis in plants is regulated by various hormonal and environmental signals including fungal infections, mechanical injury, salinity, desiccation, cold, ultraviolet radiation and hormones such as auxins, ethylene and abscisic acid (Noori and Sokhansanj, 2008). These proteins are indispensable molecules for plant resistance, since they are associated with the defense of plants to biotic and abiotic stresses.

Many studies describe the role of osmotin in the defense against pathogens. In plants of tobacco and tomato, it was discovered that osmotins are induced when the plants are in contact with pathogens of viral and fungal origin (Stintzi, Heitz and Prasad, 1993; Woloshuk and Meulenhoff, 1991), indicating a probable relation with the mechanisms of resistance to pathogenic attacks. There are reports in the literature that

overexpression of these proteins in susceptible plants confers resistance to pathogens (Rajam et al., 2007).

In addition to defense against pathogens, there are many studies showing the protective action of osmotin to abiotic damage. Studies show the relationship of osmotin in stress protection caused by mechanical damage (Nelson, Salamini and Bartels, 1994), by cooling (Zhu, Chen and Li, 1995; Hong et al., 2003), and drought (Zhu, Chen and Li, 1995).

Thaumatin is also a protein of the PR5 group. In tobacco and other plant species, the proteins belonging to this group exhibit activity of inhibition of the growth of hyphae or spore germination of different fungi in vitro, probably through a mechanism of permeabilization of membranes (Stintzi, Heitz and Prasad, 1993). The expression pattern of thaumatin was different and contradicted the constitutive levels (Figure 3B). In the susceptible CCN 51 genotype, transcription levels increased abruptly in the first days after infection (7 dai-43x and 15 dai - 245x), while the resistant genotype TSH 1188 showed a smaller increase in 7 dai (15x) and 15 dai (51x) (Figure 3B).

Anti-fungal properties of thaumatin were observed in Arabidopsis and other plants whose expression levels during fungal infection increased in both resistant and susceptible cultivars (Elkereamy and Guevara, 2011). The thaumatin protein induced expression under 28 Santos et al.

conditions of low water potential. In this condition it accumulates about 15 times more than under normal water conditions (Singh, Makkar and Negi, 1989). It should be noted that one of the main symptoms of CW is the water deficit caused by fungus blockade in the xylem, which could explain the large increase in the expression of this gene in the susceptible CCN 51 genotype at 7 and 15 dai (Figure 3B). Other factors that stimulate the expression of both thaumatin and osmotin are: abscisic acid (ABA), wounds, tobacco mosaic virus and ethylene (Singh, Makkar and Negi, 1989; Neale et al., 1990; Casas et al., 1992).

The antifungal activity of these genes makes them candidates for genetic engineering in the production of disease resistant plants. Transgenic banana plants expressing the TLP (thaumatin-like protein) gene of rice challenged with Fusarium fungus presented higher resistance to *Fusarium oxysporum* sp. Cubense (race 4) in relation to non-inoculated plants (Mahdavi, Sariah and Maziah, 2012).

#### Conclusion

By means of the *in silico* analyzes presented this work it was possible to identify and select of two genes that are candidates for CW resistance. The identification and characterization of these genes enables the subsequent studies, such as analyzing the differential expression between plants grown in field and greenhouse, or prospecting natural variability using different genetic materials, thus enabling the identification and validation of polymorphisms for the development of molecular markers associated with CW resistance. The methodology used in this study allowed the identification of several genes with expression differential in response to CW resistance, opening new experimental possibilities for the characterization of function of these genes.

#### **Acknowledgements**

The present study was carried out in the facilities of the Molecular Plant Pathology Laboratory (FITOMOL) and Cocoa Research Center (CEPEC/CEPLAC) located in Ilhéus, Bahia, Brazil. This research was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB).

#### Literature Cited

- ALARCON, C. R. M. 1994. Determinacion de Resistencia de 250 Clones de Cacao de Origen Nacional al Ataque de Mal-de-Machete (*Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halsted). Tesis de Grado. Universidad Agrária del Ecuador. Guayaquil, Ecuador. 125p.
- ALTSCHUL, S. F. et al. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Research 17:3389-3402.
- ARGOUT, X. et al. 2011. The genome of Theobroma cacao. Nature Genetics 43:101-108.
- ARGOUT, X. et al. 2008. Towards the undestanding of the cacao transcriptome: Production and analysis of an exhaustive dataset of ESTs of *Theobroma cacao* L. generated from various tissues and under various conditions. BMC Genomics 9:512-523.
- ASHBURNER, M. et al. 2000. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. Nature Genetics 6:25-29.
- BAKER, C. J. et al. 2003. Genetic variability and host specialization in the Latin American clade of *Ceratocystis fimbriata*. Phytopathology, 93:1274-1284.
- BEZERRA, J. L. 1997. *Ceratocystis fimbriata* causing death of budded cocoa seedlings in Bahia, Brazil. Incoped Newsletter 1:6-14.
- BOL, J. F.; LINTHORST, H. J. M.; CORNELISSEN, B. J. C. 1990. Plant pathogenesis-related proteins induced by virus infection. Annual Review Phytopathology 28:113-38.
- CASAS, A. M. et al. 1992. Expression of osmotin-like genes in the halophyte *Atriplex nummularia* L. Plant Physiol 99:329-337.
- DELGADO, R.; SUÁREZ, C. 2003. Diferencias em agressividad entre aislamientos de Ceratocystis fimbriata de Ecuador y Brasil em cacao. In: XII Seminário Nacional de Sanidad Vegetal, 12. Latacunga, Ecuador. 8p.
- DONG, X. 2001. Genetic dissection of systemic acquired resistance. Current Opinion in Plant Biology 4:309-14.

- ELKEREAMY, A.; GUEVARA, D. 2011. Exploring the molecular and metabolic factors contributing to the adaptation of maize seedlings to nitrate limitation. Front Plant Science 2:49.
- EVANS, H. C. 2007. Cacao diseases-the trilogy revisited. Phytopathology 97:89-95.
- GESTEIRA, A. S. et al. 2003. Isolation and puriûcation of functional total RNA from different organs of cocoa tree during its interaction with the pathogen *Crinipellis perniciosa*. BioTechniques 35:494-500.
- GESTEIRA, A. S. et al. 2007. Comparative analysis of expressed genes from cacao meristems infected by Moniliophthora perniciosa. Annals of Botany 100:129-140.
- GÖTZ, S. et al. 2008. High-throughput functional annotation and data mining with the Blast2GO suite. Nucleic Acids Research 36:3420-3435.
- HONG, S. W. et al. 2003. Arabidopsis hot mutants define multiple functions required for acclimation to high temperatures. Plant Physiology 132:757-767.
- HERBERS, K. et al. 1996. Systemic acquired resistance mediated by the ectopic expression of invertase: possible hexose sensing in the secretory pathway. Plant Cell 87:78-98.
- HUNTER, S. et al. 2009. InterPro: the integrative protein signature database. Nucleic Acids Research 57:875-897.
- JONES, P. G. et al. 2002. Gene discovery and microarray analysis of cacao (*Theobroma cacao* L.) varieties. Planta 216:255-264.
- KANEHISA, M. et al. 2008. KEGG for linking genomes to life and the environment. Nucleic Acids Research 58:478-498.
- KEEN, N. T.; YOSHIKAWA, M. 1983. 1,3-Endoglucanase from soybean releases elicitoractive carbohydrates from fungus cell walls. Plant Physiology 71:460-465.
- KUC, J. 1985. Increasing crop productivity and value by increasing disease resistance through nongenetic techniques. In: Symposium on Forest Potentials: Productivity and Value. Proceedings. 1985. Weyerhaeuser Co, Tacoma, Washington. pp.147-190.

- KUROSAKI, F.; AMIN, M.; NISHI, A. 1986. Induction of phytoalexin production and accumulation of phenolic compounds in cultured carrot cells. Physiological and Molecular Plant Pathology 28:359-370.
- LAWRENCE, J. S.; CAMPÊLO, A. M. F. L.; FIGUEIREDO, J. M. 1991. Enfermidades do cacaueiro. II Doenças fúngicas que ocorrem nas folhas, ramos e tronco. Agrotrópica (Brasil) 3(1):1-14.
- LIU, J. J.; STURROCK, R.; EKRAMODDOULLAH, A. K. 2010. The superfamily of thaumatin-like proteins: its origin, evolution, and expression towards biological function. Plant Cell Reports 29(5):419-436.
- MAHDAVI, F.; SARIAH, M.; MAZIAH, M. 2012. Expression of rice thaumatin-like protein gene in transgenic banana plants enhances resistance to fusarium wilt. Biotechnology and Applied Biochemistry 166:1008-1019.
- MICHELI, F.; GUILTINAN, M.; GRAMACHO, K. P. 2010. Functional genomics of cacao. Adv Bot Res 155:119-177.
- NEALE, A. D. et al. 1990. Chitinase 1,3-glucanase, osmotin, and extensin are expressed in tobacco explants during flower formation. Plant Cell 2:673-684.
- NELSON, D.; SALAMINI, F.; BARTELS, D. 1994. Abscisic acid promotes novel DNA-binding activity to a desiccation-related promoter of *Craterostigma plantagineum*. Plant Journal 5(4):451-458.
- NEUENSCHWANDER, U. et al. 1995. Activation of plant disease resistance. Aspects of Applied Biology 42:217-225.
- NOORI, S. A. S.; SOKHANSANJ, A. 2008. Wheat plants containing an osmotin gene show enhanced ability to produce roots at high NaCl concentration. Russian Journal of Plant Physiology 55:256-258.
- PINHEIRO, T. T.; LITHOLDO JR, C. G. 2011. Establishing references for gene expression analyses by RT-qPCR in *Theobroma cacao* tissues. GMR 10(4):3291-3305.

30 Santos et al.

PUGH, T. et al. 2004. A new cacao linkage map based on codominant markers: development and integration of 201 new microsatellite markers. Theoretical and Applied Genetics 108:1151-1161.

- RAJAM, M. V. et al. 2007. Thaumatin gene confers resistance to fungal pathogens as well as tolerance to abiotic stresses in transgenic tobacco plants. Biol Plant 51:135-141.
- RAM, A.; VALLE, R. R. M.; FREITAS, D. B. 2004. Controle de cancro ou murcha de Ceratocystis do cacaueiro na Bahia, Brasil. Agrotrópica (Brasil) 16:111-114.
- RESENDE, M. L. V. et al. 2002. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis perniciosa* and *Verticillium dahlia* by acibenzolar-S-methyl (ASM). Plant Pathology 51:621-628.
- RESENDE, M. L. V. et al. 2010. Percepção, transdução e tradução de sinais para respostas de defesa contra patógenos em plantas. In: Simpósio de Biologia Molecular da Resistência de Plantas a Patógenos: aplicações no manejo integrado de fitodoenças, 1. Lavras, MG. pp.9-35.
- SANCHES, C. L. G. et al. 2008. Assessment of resistance to *Ceratocystis cacaofunesta* in cacao genotypes. European Journal of Plant Pathology 122:517-528.
- SANTOS, R. M. F. et al. 2012a. Identification, characterization and mapping of EST-derived SSRs from the cacao *Ceratocystis cacaofunesta* interaction Tree Genetics & Genomes 10:117.
- SANTOS, R. M. F. et al. 2012b. Identification of QTLs linked to Ceratocystis wilt resistance in cacao. Molecular Breeding 4:30-38.
- SANTOS, R. M. F. et al. 2013. Kinetics and histopathology of the Cacao *Ceratocystis cacaofunesta* interaction. Tropical Plant Biology 6:37-45.
- SILVA, S. D. V. M.; LUZ, E. D. M. N. 2000. Ceratocystis fimbriata em cacaueiros dasvariedades cultivadas na Bahia. Fitopatologia Brasileira 25:424.
- SILVA, S. D. V. M.; PAIM, M. C. A.; CASTRO, W. M. 2004. Cacau Jaca resistente a *Ceratocystis*

- *fimbriata* na região cacaueira da Bahia, Brasil. Fitopatologia Brasileira 29:538-540.
- SILVA, S. D. V. M et al. 2006. Indicações de resistência à murcha-de-ceratocystis em genótipos de cacaueiros no sul da Bahia, Brasil. In: Conferência Internacional de Pesquisas em Cacau, 15. San José, Costa Rica. pp.9-14.
- SILVA, S. D. V. M. et al. 2012. Resistência de progênies de cacaueiro à murcha-de-Ceratocystis. Tropical Plant Pathology 37:191-195.
- SINGH, N. K.; BRACKER, C. A. 1987. Characterization of osmotin and thumatin-like protein associated with osmotic adaptation in plant cells. Plant Physiology 85(79):126-137.
- SINGH, B.; MAKKAR, H. P. S.; NEGI, S. S. 1989. Rate and extent of digestion and potentially digestible dry matter and cell wall of various tree leaves. Journal of Dairy Science 72(12):3233-3239.
- STINTZI, A.; HEITZ, T.; PRASAD, V. 1993. Plant Pathogenesis-Relsted proteins and their role in defense against pathogens. Biochimie 75:687-706.
- TUMURA, K. G.; DE PIERI, C.; FURTADO, E. L. 2012. Murcha por Ceratocystis em eucalipto: avaliação de resistência e análise epidemiológica. Summa Phytopathologica 38(1):54-60.
- VERICA, J. A. et al. 2004. Isolation of ESTs from cacao (*Theobroma cacao* L.) leaves treated with inducers of the defense response. Plant Cell Report 23:404-413.
- VRAIN, T. C. 1999. Engineering natural and synthetic resistance for nematode management. Journal of Nematology 31:424-436.
- WOLOSHUK, C. R.; MEULENHOFF, J. S. 1991. Pathogen-induced proteins with inhibitory activity toward *Phytophthora infestans*. Plant Cell 3:619-628.
- YUN, D. J. et al. 1997. Stress proteins on the yeast cell surface determine resistance to osmotin, a plant antifungal protein. Proceedings of the National Academy of Sciences 94:7082-7087.
- ZHU, B.; CHEN, T. H. H.; LI, P. H. 1995. Expression of three osmotin-like protein genes in response to osmotic stress and fungal infection in potato. Plant Molecular Biology (in press).

# NEW OCCURRENCES OF ASCOMYCETES FOR SOUTH AMERICA AND THE NEOTROPICS

#### Paloma Quirino Rocha, Nadja Santos Vitória

Universidade do Estado da Bahia, Campus VIII, Departamento de Educação, Colegiado de Biologia Rua do Gangorra, 503, 48608-240, Bairro Alves de Souza, Paulo Afonso, Bahia, Brazil. palomahqr@gmail.com;

The Raso da Catarina Ecological Station (ESEC Raso da Catarina) is a fully protected Brazilian conservation unit, located in the state of Bahia, the Caatinga biome. Systematic research on fungal taxonomy is still poorly performed in this area. In order to know the fungi of the phylum Ascomycota associated with the palm *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. (licuri) two expeditions were carried out, one in August/2017 and the other in April/2018. Green and dry leaves attached to the plant and licuri litter were collected. The samples were analyzed at the UNEB-VIII Mycology Laboratory. After morphological characterization, some interesting species of Ascomycota were identified as *Phaeosphaeriopsis amblyospora* A.W. Ramaley and *Apoharknessia eucalypti* Crous & Crous & M. J. Wingf. These taxa are documented, in this work, as new records for South America and neotropic, respectively. Description, comments, geographical distribution and illustrations are presented for the species.

**Key words:** diversity, fungi, taxonomy.

Novas ocorrências de ascomicetos para a América do Sul e Neotrópico. A Estação Ecológica do Raso da Catarina (ESEC Raso da Catarina) é uma unidade de conservação de proteção integral brasileira, localizada no estado da Bahia, bioma Caatinga. Pesquisas sistematizadas sobre taxonomia de fungos ainda são pouco realizadas nesta área. Com o objetivo de conhecer os fungos do filo Ascomycota associados à palmeira *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. (licuri) foram realizadas duas expedições, uma em agosto/2017 e outra em abril/2018. Folhas verdes e secas presas a planta e serrapilheira de licuri foram coletadas. As amostras foram analisadas no Laboratório de Micologia da UNEB-VIII. Após caracterização morfológica algumas espécies interessantes de Ascomycota foram identificadas como *Phaeosphaeriopsis amblyospora* A.W. Ramaley e *Apoharknessia eucalypti* Crous & Crous & M. J. Wingf. Esses táxons são documentados, neste trabalho, como novos registros para a América do Sul e neotrópico, respectivamente. Descrição, comentários, distribuição geográfica e ilustrações são apresentadas para as espécies.

Palavras-chave: diversidade, fungos, taxonomia.

Rocha and Vitória

#### Introduction

Brazil is a megadiverse country that harbors 20% of all of the known species on our planet as well as a wide variety of ecosystems (Brasil, 2018), including the dryland Caatinga, an exclusively Brazilian domain rich in biodiversity and endemism (Brasil, 2018) - although one of the least studied regions in that country (Leal et al., 2005).

The phylum Ascomycota comprises approximately 65.000 species, representing 60% of all known fungal taxa (Kirk et al., 2008). The group is cosmopolitan, and its species can be encountered with a wide variety of life forms and associated with many different organisms, including plants – with which they establish saprophytic, parasitic, endophytic, phytopathogenic, or symbiotic relationships (Webster & Weber, 2007).

Currently, 1881 ascomycete species are known to Brazil, but the real number is certainly much larger (Maia et al., 2015). The amplification of that known diversity will depend on intensifying research concerning the group, and here we focus on Ascomycota colonizing palm trees in Caatinga dryland vegetation.

In areas of the Raso da Catarina ecoregion, municipality of Paulo Afonso, Bahia Vitoria and collaborators have been dedicated to the study of Ascomycota fungi that colonizing plants of social and economic importance for region, contributing to the expansion of knowledge in a poorly studied place (Vitoria, Calvacanti and Bezerra 2016; Barbosa and Vitoria, 2019; Santos, Bezerra and Vitória 2019).

So, the present work aimed to characterized species of that phylum, contributing with increased completeness of the Fungal list for South America and the neotropics. Besides, the palms tree *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. (licurí) is documented as a new host for the fungi.

#### **Materials and Methods**

Collections were undertaken in August/2017 and April/2018 in the Raso da Catarina Ecological Station (ESEC), in an area within the municipality of Paulo Afonso, Bahia State, Brazil (09° 39'05.9" S 038° 29'07.7" W, 602 m; 09°39'05.1" S e 038° 29'07.7" W, 611 m). Green leaves and dry leaves still attached to *Syagrus coronata* plants, as well as leaf litter from

around their bases, were collected for mycobiota analyses. The material was processed at MICOLAB-UNEB VIII (Mycology Laboratory: Didactic Collection, Fungus Herbarium and Fungal Culture Collection). The specimens were examined by direct observation and after treatment in a humid chamber. Topographic analyses were performed using a stereomicroscope. Fertile fragments of the fungal structures were removed using a thin needle (insulin injection type), mounted on slides with coverslips, and treated with the following reagents: cotton blue; 5% Melzer; and water. The fungal structures were then examined using a light microscope, and the species were identified by consulting the specialized literature. Testimonial material was deposited in MICOLAB-UNEB/VIII.

#### Results

The ascomycete *Phaeosphaeriopsis amblyospora* reported here is a new record for South America, and *Apoharknessia eucalypti* a new record for the neotropical region.

**1.** *Apoharknessia eucalypti* Crous & Crous & M. J. Wingf., in Marin-Felix et al., Stud. Mycol. 92: 51 (2018) Figure 1. A-C.

**Description:** Fungus on the host surface (Figure 1. A). Conidiomata not observed. Conidia  $7.5 - 12.5 \times 5 \mu m$ , light brown when young, becoming dark brown at maturity, ellipsoid to obovoid, smooth, with central guttule, catenulate, apex rounded, mucilaginous sheath not observed, visible on the surface as a brown fuzz (Figure 1. B-C).

**Material examined:** BRAZIL. BAHIA: Raso da Catarina Ecological Station (ESEC), Paulo Afonso, in green leaflets of *S. coronata*, 11.04.2018, col. P.Q. Rocha, 09° 39'05.9" S 038° 29'07.7" W, 602 m (MICOLAB-UNEB VIII 0108).

**Commentary:** The specimen found is similar in the measurement and morphology of the conidia, conidiophore and conidiogenic cells to *Apoharknessia eucalypti*, this species differs from the other three valid species of the genus in that its conidia usually lack an

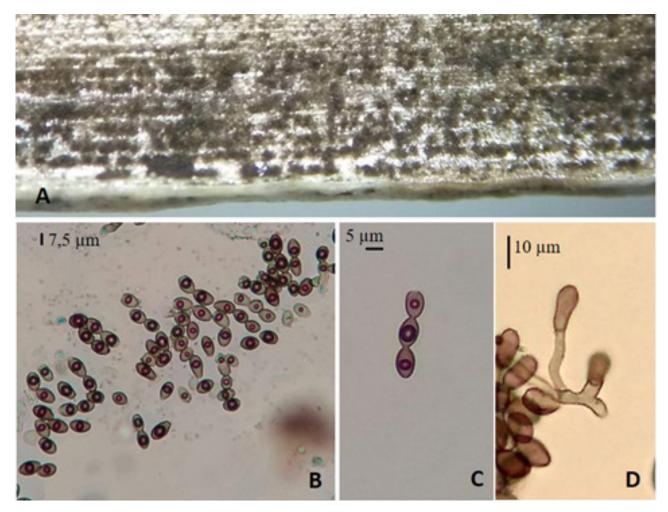


Figure 1 - Apoharknessia eucalypti. A. Conidiomata on surface of the host. B-C. Conidia. D. Conidiogenous cells and conidia.

apical appendage (Marin-Felix et al., 2019). It was not possible to observe conidiomata in the specimens examined, because the material was a little worn. This individual was collected once during this study, additional collections are needed to isolate this species and perform molecular characterization. Here, *A. eucalypti* was encountered as a phytopathogen on the green leaflets of the palm tree *S. coronata*, with its conidia were agglomerated on the leaf surface forming a dark fuzz.

**2.** *Phaeosphaeriopsis amblyospora* A.W. Ramaley [as 'amblyspora'], in Câmara, Ramaley, Castlebury & Palm, Mycol. Res. 107(5): 520 (2003) Figure 2. A-E

**Description:** Host surface (Figure 2. A).

Ascomata peritecial 240 x 300  $\mu$ m, immersed to erumpent (Figure 2. B). Ascus (100-) 112.5 (-125) x 10 - 11.25  $\mu$ m bitunicate, claviform, subpedicelate, 8-sporate, I (Figure 2. C-D). Ascospore 22.5 - 25 (-27.5) x 7.5 - 10  $\mu$ m, pale brown when young, becoming golden brown at maturity, 4-5 septate, cylindrical, smooth, mucilaginous sheath present (Figure 2. E).

**Material examined:** BRAZIL. BAHIA: Raso da Catarina Ecological Station (ESEC), Paulo Afonso, in green leaflets of *S. coronata*, 30.08.2017, col. P.Q. Rocha, 09°39' 05.1" S e 038° 29' 07.7" W, 611 m (MICOLAB-UNEB VIII 0107).

**Commentary:** The genus *Phaeosphaeriopsis* houses 17 valid species (Species Fungorum, 2020). The

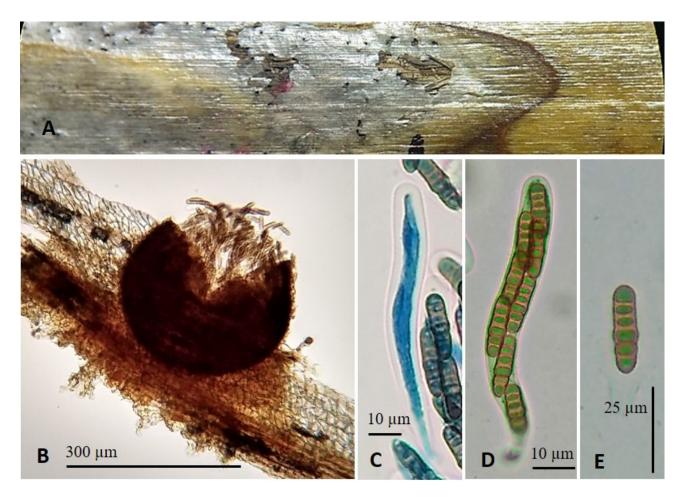


Figure 2 - *Phaeosphaeriopsis amblyospora*. A. Ascomata on surface of the host. B. Section of ascomata formed on licuri leaf. C-D. Ascus. E. Ascospore.

material was identified as *Phaeosphaeriopsis* amblyospora based on the work of Câmara et al. (2003), the material examined was morphologically selected and displayed with literature epithets, being similar to *P. amblyospora* in the morphology and measurement of ascoma, mites and ascospores. This individual was collected once during this study, additional collections are needed to isolate this species and perform molecular characterization. In the present study, this ascomycete was encountered as a phytopathogen on the green leaflets of *S. coronata*, associated with a leaf blotch having a dark border.

#### **Discussion**

The three valid species of the genus *Apoharknessia* have been found in association with

Eucalyptus (Myrtaceae): A. insueta (B. Sutton) Crous & S.J. Lee. (a presumed pathogen) has been observed to cause spots on Eucalyptus leaves in Brazil, Colombia, Cuba and Mauritius (Marin-Felix et al., 2019), A. eucalyptorum Crous and M. J. Wingf. (supposedly endophyte) was isolated from Eucalyptus pellita F. Muell (Myrtaceae) leaves in Malaysia (Asia) (Crous et al., 2017) e A. eucalypti (supposedly endophyte) was isolated from E. pellita leaves incubated in humid chambers in Sabah, Malaysia (Marin-Felix et al., 2019). In the present study, the databanks and literature consulted did not contain any records of A. eucalypti for the neotropical region (SMML, 2018; Species Link, 2018), this thus being the first report. In addition, this fungus appears here as a pathogen and S. coronata is presented as a new botanical

host not only for this species but for the genus Apoharknessia.

The genus *Phaeosphaeriopsis* counts on individuals recognized as saprobes or pathogens on various monocotyledons (Phookamsak et al., 2014). The species *P. amblyospora* was first found once in Colorado, United States of America (USA), on dead leaves of *Yucca baccata* (Asparagaceae) Torr. by Câmara et al. (2003), which is the only distribution and only host found for the known (SMML, 2018; Species Link, 2018). In this study, the databanks and literature consulted showed no records of *P. amblyospora* for South America (SMML, 2018; Species Link, 2018), this then representing its first record. Additionally, this species appears here as a pathogen and *S. coronata* is presented here as a new host for the fungus.

### **Conclusions**

The data this study contribute to expansion of knowledge in order to better understand the geographic distribution of species of the phylum Ascomycota.

### **Acknowledgments**

The authors are grateful to the Universidade do Estado da Bahia – UNEB, Campus VIII for the use of their laboratories and equipment; the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) for awarding an Iniciação Científica (PIBIC) grant; the Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) for authorizing research within the Estação Ecológica Raso da Catarina and for transportation and support during the collections and PROPUBLIC for the financial support for translating the manuscript.

### Literature Cited

BARBOSA, R. L.; VITÓRIA, N. S. 2019. Fungos anamórficos da Ecorregião Raso da Catarina: *Aplosporella* (Botryosphaeriales) e *Stilbella* 

- (Hypocreales). Novos registros para o Brasil. Agrotrópica (Brasil) 31(2):109-122.
- BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. 2018. Available at <a href="http://www.mma.gov.br/biomas/caatinga">http://www.mma.gov.br/biomas/caatinga</a> Accessed on 05 January 2018.
- CÂMARA, M. P. et al. 2003. *Neophaeosphaeria* and *Phaeosphaeriopsis*, segregates of *Paraphaeosphaeria*. Mycological research 107(5):516-522.
- CROUS, P. W. et al. 2017. Fungal Planet description sheets: 558-624. Persoonia 38:240-384.
- KIRK, P. M. et al. 2008. Dictionary of the Fungi. 10ed. Wallingford, CABI. 759p.
- LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. 2005. Ecologia e conservação da caatinga. 2ed. Recife, Ed. Universitária da UFPE. 822p.
- MAIA, L. C. et al. 2015. Diversity of Brazilian fungi. Rodriguésia 66(4):1033-1045.
- MARIN-FELIX, Y. et al. 2019. Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 2. Studies in mycology 92:47-133.
- PHOOKAMSAK, R. et al. 2014. Revision of *Phaeosphaeriaceae*. Fungal Diversity 68(1): 159-238.
- SANTOS, M. A. L.; BEZERRA, J. L.; VITÓRIA, N. S. 2019. *Phaeoseptum aquaticum* (Halotthiaceae): new record for American continent in a new host for Science. Rodriguésia (Brasil) 70.
- SPEECH SYNTHESIS MARKUP LANGUAGE SMML. 2018. Fungus-Host Distribution Database. Disponível em: <a href="http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/fungushost/fungushost.cfm">http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/fungushost/fungushost.cfm</a> Acesso em: 06 de dezembro 2018.
- SPECIES LINK. 2018. Disponível em: <a href="http://www.splink.org.br/index?lang=pt">http://www.splink.org.br/index?lang=pt</a> Acesso em: 06 de dezembro 2018.
- SPECIES FUNGORUM. 2020. Disponível em: http://www.speciesfungorum.org/Names/Names.asp> Acesso em 20 de janeiro de 2020.
- VITÓRIA, N. S.; CAVALCANTI, M. A. Q.; BEZERRA, J. L. 2016. Species of *Astrosphaeriella* and *Fissuroma* from palms:

36 Rocha and Vitória

new records for South America and Brazil. Nova Hedwigia Band 102 (1-2):129-140. WEBSTER, J.; WEBER, R. 2007. Introduction to Fungi. 3ed. Cambridge University Press. 590p.

## HOSPEDABILIDADE DE ESPÉCIES DE EUCALIPTO A NEMATOIDES-DAS-GALHAS

Vanessa Alba da Silva<sup>1\*</sup>, Stela Maris Kulczynski<sup>2</sup>, Andressa Calderan Bisognin<sup>2</sup>, Vanessa Graciela Kirsch<sup>2</sup>, Márcia Gabriel<sup>1</sup>, Dionei Schmidt Muraro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Santa Maria-UFSM, Departamento de Defesa Fitossanitária, Centro de Ciências Rurais. Av. Roraima, 1000, Camobi, 97105-900, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. vanessaalba115@gmail.com; dioneimuraro@gmail.com; gabriel.marcia@gmail.com. <sup>2</sup>Universidade Federal de Santa Maria, Linha 7 de setembro, BR 386, km 40-Zona Rural, 98400-000 - Frederico Westphalen, RS - Brasil. stelamk@terra.com.br; vanessa.kirsch@gmail.com; andressacalderan@hotmail.com

\*autor para correspondência: vanessaalba115@gmail.com

O objetivo deste trabalho foi avaliar a hospedabilidade de *Eucalyptus dunni, E. grandis* e *E. citriodora* a *Meloidogyne arenaria, M. javanica* e *M. morocciensis*. O experimento foi realizado na Universidade Federal de Santa Maria sob condições de casa de vegetação (25 ± 2 °C). Para tanto, as mudas de eucalipto foram inoculadas individualmente com 2.000 ovos + juvenis de segundo estádio (J2) dos respectivos nematoides, incluindo-se, no ensaio, um tratamento controle (sem inoculação). Decorridos 180 dias da inoculação, as plantas foram avaliadas quanto à altura, às massas da matéria fresca da parte aérea e do sistema radicular. A seguir, determinou-se a população final dos nematoides nos sistemas radiculares das plantas inoculadas para cálculo do fator de reprodução (FR= população final/população inicial). Adicionalmente, a reação das espécies de eucalipto foi classificada de acordo com os valores de FR, considerando-se como resistentes, aqueles cujo nematoide apresentou FR<1,00 e, suscetíveis, aqueles com FR≥1,00. As espécies de *Meloidogyne* interferiram negativamente no desenvolvimento das plantas de *E. grandis* e *E. citriodora*, causando redução na altura e massa de parte aérea. Todas as espécies analisadas foram resistentes a *M. javanica* (0,36 > FR < 0,19), *M. arenaria* (0,42 > FR < 0,14) e *M. morocciensis* (0,25 > FR < 0,10).

Palavras-chave: Eucalyptus spp., fitonematoides, suscetibilidade.

**Hospitability of species of eucalyptus to root-knot nematodes.** The objective this work was to evaluate the hostability of *Eucalyptus dunni*, *E. grandis* and *E. citriodora* to *Meloidogyne arenaria*, *M. javanica* and *M. morocciensis*. The experiment was performed in Federal University of Santa Maria in greenhouse conditions  $(25 \pm 2 \,^{\circ}\text{C})$ . Thus, eucalyptus seedlings were individually inoculated with 2,000 eggs + second stage juveniles (J2), together with a control treatment (without inoculation). After 180 days of inoculation, plant height, fresh matter of shoots and root system were evaluated. In addition, the final population of nematodes was determined in the root systems of inoculated plants to calculate the reproduction factor (RR = final population/initial population). Additionally, the reaction of eucalyptus species was classified according with RR values, considering RF values as resistant <1.00 and susceptible with RF 1.00 values. *Meloidogyne* species interfered negatively in tage development of *E. grandis* and *E. citriodora* plants, causing a reduction in aerial part height and mass. All species analyzed were resistant to *M. javanica* (0.36 > FR < 0.19), *M. arenaria* (0.42 > FR < 0.14) and *M. morocciensis* (0.25 > FR < 0.10).

**Key words:** *Eucalyptus* spp., phytomatomatoides, susceptibility.

Recebido para publicação em 15 de agosto de 2018. Aceito em 02 de abril de 2020. DOI: 10.21757/0103-3816.2020v32n1p37-42

38 Silva et al.

### Introdução

O gênero *Eucalyptus* pertence à família Myrtaceae, possuindo várias espécies com elevado valor comercial, que podem ser utilizadas para produção de energia renovável na forma de biomassa, na indústria de papel e celulose, bem como na produção de laminados, compensados e madeira serrada. No Brasil, o uso das espécies de eucalipto não se destaca apenas pela diversidade de uso de sua madeira, mas também pelo rápido crescimento em ciclo de curta duração, alta produtividade florestal, ampla diversidade de espécies e grande capacidade adaptativa (Higa et al., 2000; Latorraca et al., 2015).

As áreas de florestas plantadas no Brasil atingiram 7,83 milhões de hectares em 2018, enquanto que 5,7 milhões de hectares são ocupados por plantios de eucalipto, localizados principalmente nos estados de Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso do Sul (IBÁ, 2019). Nesse cenário, as pequenas e médias propriedades são responsáveis por um exponencial desenvolvimento do setor madeireiro, devido a implementação de sistemas agroflorestais, com a capacidade de suprir as demandas locais (ABRAF, 2019).

O sistema agroflorestal possui grande potencial de produção e geração de renda, buscando integrar o plantio de culturas anuais com plantios arbóreos. Mas, para se obter sucesso na produção no SAF, é indispensável que sejam seguidos alguns aspectos na escolha das espécies para que não aconteçam conflitos entre as raízes e parte aérea, coincidência entre períodos de máxima exigência por fatores de produção das culturas em consórcio e, principalmente, que haja uma boa compatibilidade fitossanitária entre as espécies envolvidas (Macedo et al., 2010). Contudo, inúmeras espécies arbóreas utilizadas em SAF's são suscetíveis a fitoparasitas, com destaque aos nematoides dos gêneros *Meloidogyne* e *Pratylenchus* (Jose, 2009).

Espécies de *Meloidogyne*, também conhecidas como nematoides-das-galhas, causam a redução da produtividade de inúmeras espécies de planta, devido a fatores como, a extensa faixa de hospedeiros, a alta capacidade reprodutiva e de sobrevivência em diferentes ambientes (Sasser & Freckman, 1987; Kirsch et al., 2016). No Brasil, esses nematoides têm causado grandes danos às culturas do algodoeiro,

batateira, tomateiro, cenoura, soja, feijoeiro, cafeeiro, entre outras culturas, incluindo as frutíferas, todas de relevante importância econômica (Santos, 2012). Grande parte dessas espécies vegetais são utilizadas em sistemas agroflorestais em consórcio com o eucalipto, que já foi relatado como hospedeiro de *P. brachyurus* (Bellé et al., 2018).

Porém, ainda são escassas as informações quanto ao ataque de nematoides do gênero *Meloidogyne* em espécies florestais, tendo, assim, a necessidade de se conhecer a relação existente entre estes fitoparasitas e espécies de eucalipto, largamente utilizadas em consórcios com culturas que são relatadas como hospedeiras. Com base no exposto e em busca de gerar informações, o presente trabalho objetivou avaliar a reação de três espécies de eucalipto a três espécies de *Meloidogyne*.

### Material e Métodos

O trabalho foi conduzido em casa de vegetação na Universidade Federal de Santa Maria Campus Frederico Westphalen-RS. As mudas de eucalipto utilizadas neste trabalho foram obtidas de forma seminal. Aos três meses após a semeadura, as mesmas foram transplantadas para vasos contendo 800 cm³ de solo e substrato comercial, na proporção 2:1 (v/v). A mistura de solo e substrato foi esterilizada em autoclave a 121 °C por 30 minutos, por 2 vezes em dias consecutivos, antes de ser colocada nos vasos.

Os inóculos dos nematoides foram preparados a partir de populações puras de cada uma das espécies, multiplicadas em tomateiros (Solanum lycopersicum L. 'Santa Cruz') e mantidos em estufa. A extração dos nematoides para preparo dos inóculo foi realizada conforme a metodologia proposta por Hussey & Barker (1973) modificada por Bonetti e Ferraz (1981). As mudas foram inoculadas aos sete dias após o transplantio com uma suspensão de 2000 ovos + juvenis de segundo estádio (J2) constituindo a população inicial, distribuída em dois orifícios de aproximadamente dois centímetros de profundidade, feitos próximos ao colo das mudas de eucalipto. As mudas de tomateiro cultivar Santa Cruz foram igualmente inoculadas com uma suspensão de cada espécie de Melodoigyne, para verificação da viabilidade dos inóculos.

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, com esquema fatorial 3 x 3 + 1, sendo 3 (espécies de eucalipto) x 3 (espécies de *Meloidogyne*) e um tratamento controle (ausência de inóculo), com seis repetições por tratamento. As plantas foram avaliadas aos 180 dias após a inoculação dos nematoides em relação às seguintes variáveis:

Altura de plantas: média da distância entre o colo e o ápice do caule, sendo realizada com uma régua milimétrica e o resultado foi expresso em cm.

Massas de matérias fresca e seca de parte aérea: após a medição da massa da matéria verde da parte aérea das plantas em balança de precisão, as amostras foram acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa com circulação de ar e temperatura de 65 °C até a obtenção de massa constante, para determinação da massa da matéria seca da parte aérea.

Massa de matéria fresca de raízes: as raízes foram lavadas e, após a retirada do excesso de umidade, foi determinada a massa de matéria fresca em balança de precisão.

**População final de nematoide:** foi obtida por meio da extração dos nematoides presentes nas raízes das plantas conforme descrito anteriormente. O número de espécimes foi determinado pela média de três contagens em câmara de Peters sob microscópio ótico.

Fator de reprodução: foi determinado pela razão entre a população final e a população inicial (Oostenbrink, 1966), em que as plantas com FR < 1 foram consideradas resistentes e aquelas com FR ≥1, como suscetíveis.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, e quando significativa para as variáveis analisadas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, através do programa ASSISTAT 7.7 beta (Silva & Azevedo, 2016).

### Resultados e Discussão

As três espécies de eucalipto foram resistentes a M. arenaria, M. javanica e M. morocciensis (Tabela 1) pois apresentaram  $FR \le 1,0$ .

Nos tomateiros utilizados para a verificação da viabilidade dos inóculos foram obtidos valores médios de fatores de reprodução iguais a 40,7, 36,3 e 37,5 para *M. arenaria, M. javanica* e *M. morocciensis*,

respectivamente. Corroborando estes resultados, Souza (2015) também observou fator de reprodução menor do que 1, classificando as espécies *E. citriodora, E. urophylla* e *E. urugrandis* como resistentes à *M. incognita*. Ferraz (1980) também já relatou que *E. grandis, E. saligna* e *E. urophylla* são altamente resistentes a *M. incognita* e *M. javanica*.

As menores populações de nematoides, foram observados nas plantas de *E. duni*, encontrando, 297, 382 e 212 de *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. morocciensis*, respectivamente. As maiores populações de *M. arenaria* e *M. javanica* foram obtidas quando as inoculações foram feitas em *E. grandis*, e, o mesmo aconteceu quando *M. morocciensis* foi inoculado em *E. citriodora*. Semelhantemente, Cruz et al. (2003), verificando a ocorrência de nematoides em eucalipto e pinus, observaram que os maiores valores de reprodução de *Meloidogyne* sp. foram encontrados em *E. citriodora*.

Com estes ensaios, pode-se apontar o *E. grandis* como sendo a espécie mais sensível ao parasitismo de nematoides do gênero *Meloidogyne*. Embora tenham sido observados FR menores que 1, nesta espécie foram observadas as maiores populações

Tabela 1. População final (PF), Fator de reprodução (FR) e Reação de *Eucalyptus* spp. inoculadas, de forma isolada, com três espécies de *Meloidogyne* 

Espécie	M.arenaria	M.javanica	M.morocciensis
	I	População final	
E. dunni	297 с	382 c	215 с
E. grandis	848 a	720 a	319 b
E. citriodora	738 b	488 b	495 a
Tomateiro	81475	72664	74983
CV%		33.2	
	F	ator de reprodu	ıção
E. dunni	0,14 b	0,19 a	0,10 b
E. grandis	0,42a	0,36 a	0,15 b
E. citriodora	0,37 b	0,24 a	0,25 b
Tomateiro	40,7	36,3	37,5
CV%		30.2	
		Reação	
E. dunni	R	R	R
E. grandis	R	R	R
E. citriodora	R	R	R
Tomateiro	S	S	S

<sup>\*</sup>Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. FR = população final (PF) / população inicial (Pi = 2.000); Reação: R = Resistente (FR < 1) e S = Suscetível (FR > 1).

40 Silva et al.

em comparação às demais, bem como, maior redução nas variáveis de massa, altura de planta e comprimento raiz. O estabelecimento dos nematoides na raiz de *E. grandis* pode ter alterado a absorção de água e nutrientes, reduzindo consequentemente o desenvolvimento da planta, assim como foi verificado por Lordello (1967) nas cultivares *E. saligna* e *E. alba*.

A resistência de espécies de eucalipto ao nematoidedas-galhas foi observada por Almeida et al. (2012) que verificaram que dois clones de *E. urograndis* não multiplicaram *M. enterolobii*. Os FR foram iguais a zero e não houve a formação de galhas radiculares, caracterizando estes clones como não hospedeiros deste nematoide. Em goiabeira e em várias outras espécies, este nematoide é muito agressivo e pode inviabilizar os cultivos (Freitas et al., 2014).

Apesar das espécies de eucalipto terem apresentado uma baixa reprodução dos inóculos de *Meloidogyne*, a presença de nematoides e ovos viáveis após 180 dias da inoculação representa a capacidade

de os mesmos conseguirem sobreviver na cultura até encontrar outra cultura preferencial, não multiplicando a população, mas servindo para a sua manutenção. Resultados semelhantes foram obtidos por Cruz et al. (2003), de acordo com esses autores a infestação de Meloidogyne sp. encontrada em E. citriodora, E. tereticornis e E. toreliana, tanto no solo como nas raízes, tornou evidente que essas culturas podem hospedar esse nematoide. Analogamente, em ipê roxo, os nematoides do gênero Meloidogyne podem infectar e se hospedar, porém, com baixa reprodução (Oliveira et al., 1995).

A população final e o fator de reprodução são variáveis importantes, que atestam a capacidade das plantas em reproduzir ou suprimir uma população de nematoides, auxiliando no planejamento das táticas de manejo de um determinado local, através do correto posicionamento de espécies ou cultivares de plantas (Kirsch et al., 2016).

Embora as espécies de Eucalipto não tenham apresentado suscetibilidade às espécies de *Meloidogyne* testadas, observou-se que a presença dos nematoides ocasionou interferência negativa no desenvolvimento das plantas, causando redução nos valores de algumas variáveis mensuradas (Tabela 2). De acordo com a Tabela 2, observou-se que *E. dunni* e *E. citriodora* não sofreram influência da inoculação das três espécies de *Meloidogyne*. Entretanto, para *E. grandis*, *M. arenaria* e *M. javanica* reduziram a altura das plantas e a massa de matéria fresca de parte aérea em relação à testemunha, demonstrando que a infecção pelo nematoide-das-galhas comprometeu o desenvolvimento das plantas.

Não houve interferência da inoculação dos nematoides sobre a variável massa de matéria seca de parte aérea das espécies de eucaliptos (Tabela 2). Estes resultados corroboram com o trabalho de Oliveira e Silva (2013), no qual avaliaram a reação de Teca (*Tectona grandis*) a *M. javanica* e, verificaram que a massa da matéria seca da parte aérea das plantas

Tabela 2. Altura de planta, massas de matéria fresca e seca de parte aérea e massa de matéria fresca de raiz de *Eucalyptus* spp. inoculadas com diferentes espécies de *Meloidogyne* 

Espécie	Testemunha	M. arenaria	M. javanica	M. morocciensis						
	Altura de planta (cm)									
E. dunni	57,7 aA	53,3 abA	54,7 aA	50,8 aA						
E. grandis	57,5 aA	46,0 bB	45,8 bB	56,8 aA						
$E.\ citriodora$	61,5 aA	58,2 aA	58,5aA	54,1 aA						
CV%		12,3								
	Massa de matéria fresca de parte aérea (g)									
E. dunni	9,7aA	7,4 abA	8,8 aA	8,4 aA						
E. grandis	10,4 aA	5,3 bB	6,0 bB	9,6 aA						
E. citriodora	10,6 aA	10,4 aA	8,6 aA	9,4 aA						
CV%		30,2								
	Massa de	matéria seca de	e parte aérea(g)							
E. dunni	4,1 aA	3,4 aA	3,6 aA	3,7 aA						
E. grandis	4,4 aB	2,3 bA	2,7 bA	2,9 aA						
E. citriodora	4,2 aA	3,7 aA	3,7 aA	3,4 aA						
CV%		39,7								
	Massa fresca de raiz (g)									
E. dunni	14,8 aA	11,5 aA	12,6 aA	12,3 aA						
E. grandis	20,5 aA	14,4 aB	14,3 aB	15,3 aB						
E. citriodora	22,7 aA	13,9 aB	13,7 aB	15,4 aB						
CV%		33,4								

<sup>\*</sup>Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na linha, e pela minúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

inoculadas não diferiram das testemunhas sem inoculação de nematoides. No entanto, para *E. grandis* foram observados menores valores de massa seca de parte área para *M. arenaria* (2.3g), *M. javanica* (2.7g), *M. morocciensis* (2.9g) quando comparados com a testemunha (4,4g).

Observou-se redução da massa fresca de raiz em *E. grandis* e *E. citriodora*, para todos os nematoides, quando comparados com a testemunha (Tabela 2). Esta redução está ligada ao fato de que a presença dos nematoides nas raízes das plantas de eucalipto compromete sua estrutura e funcionamento. Como não há a formação de galhas radiculares, ocorre, ainda, uma redução da massa radicular, fato inverso ao que se observa em diversas outras culturas, em que a intensa formação de galhas aumenta a massa das raízes (Almeida et al., 2013).

Alguns autores relatam resultados contrários ao encontrado neste trabalho com outras espécies florestais em relação a presença do nematoide das galhas. Oliveira et al. (1995) avaliando os efeitos da infestação de *M. javanica* e *M. arenaria* em ipê roxo (*Tabebuia avellanedae*) e Oliveira e Silva (2013) avaliando a reação de teca (*Tectona grandis*) a *M. javanica* observaram que a inoculação dos nematoides nas plantas não causaram diferenças nos parâmetros de massa fresca de raiz e altura de plantas em relação a testemunha.

Apesar de estes serem dados importantes, a área de nematologia florestal ainda é negligenciada e parece existir um pensamento de que plantas arbóreas ou florestais não são afetadas pelos nematoides, considerando a escassez de estudos na área e, consequentemente, de informações e resultados de pesquisa referentes ao assunto (Souza, 2015).

### Conclusões

Todas as espécies de eucalipto foram resistentes ao parasitismo das espécies de *Meloidogyne*, apresentando fator de reprodução menor que um. Contudo, *E. grandis* sofreu interferência negativa nas variáveis de desenvolvimento vegetativo avaliadas.

### Literatura Citada

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS - ABRAF.

- 2019. Anuário estatístico da ABRAF 2019 ano base 2018. Brasília, DF, ABRAF. 118p.
- ALMEIDA, A. M. et al. 2013. Field assessment of meat and bone meal for management of guava orchards affected by guava decline. Nematropica (Auburn) 43(2):247-253.
- ALMEIDA, E. J. et al. 2012. Reação de clones de eucalipto a *Meloidogyne enterolobii*. Nematologia Brasileira 36(2):80-83.
- BELLÉ, C. et al. 2018. Reprodução de *Pratylenchus* spp. em espécies de eucalipto (*Eucalyptus* spp.). Nematropica (Brasil) 48(1):45-49.
- BONETI, J. I.; FERRAZ, S. 1981. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira 6(1):553.
- CRUZ, M. C. et al. 2003. Ocorrência de nematoides em genótipos de *Eucaliptus* e *Pinus caribaea*. Revista Científica Eletrônica Agronomia (Brasil) 2(4):1-3.
- FERRAZ, L. C. C. B. 1980. Nematoides parasitos de espécies de *Eucalyptus*, *Pinus* e outras essências florestais cultivadas no estado de São Paulo. Tese Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP. 92p.
- FREITAS, V. M. et al. 2014. Resistant accessions of wild *Psidium* spp. to *Meloidogyne enterolobii* and histological characterization of resistance. Plant Pathology (Chichester) 63(4):738-746.
- HIGA, R. C. V. et al. 2000. Plantio de eucalipto na pequena propriedade rural. Colombo, Embrapa Florestas. 31p.
- HUSSEY, R. S; BARKER, K. R. 1973. A comparison of methods colleting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. Plant Disease Reporter 57:1025.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE ÁRVORES IBÁ. 2019. Relatório anual: ano base 2019. São Paulo: IBA. 80p. <a href="https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/ibarelatorioanual2019.pdf">https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/ibarelatorioanual2019.pdf</a>>. Acesso em: 05 Fev. 2020.
- JOSE, S. 2009. Agroforestry ecosystem services and environmental benefits: an overview. Florida. 1p.

42 Silva et al.

KIRSCH, V. G. et al. 2016. Caracterização de espécies de *Meloidogyne* e de *Helicotylenchus* associadas à soja no Rio Grande do Sul. Nematropica 46(1):197-208.

- LATORRACA, J. V. F. et al. 2015. Anelamento e vaporização de toras visando otimização do processo de secagem da madeira eucalipto. Revista Brasileira de Ciências Agrárias 10(2):273-279.
- LORDELLO, L. G. 1967. A root-lesion nematode found infesting eucalyptus trees in Brazil. Plant Disease Reporter 51(1):791.
- MACEDO, R. L. G. et al. 2010. Eucalipto em sistemas agroflorestais. Lavras, MG. 331p.
- OOSTENBRINK, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Mededeelingen Landbouwhogeschool Wageningen - Nederlands. 46p.
- OLIVEIRA, A. S. de; SILVA, R. A. 2013. Ocorrência e patogenicidade de *Meloidogyne javanica* sobre plantas de teca (*Tectona grandis* Linn. F.). Ciência Florestal (Brasil) 23(4):563-569.

- OLIVEIRA, C. M. G. et al. 1995. Suscetibilidade e danos causados em ipê roxo por *Meloidogyne javanica* e *M. arenaria*. Nematologia Brasileira 19(1): 89-92.
- SANTOS, T. F. S. 2012. Metodologia de avaliação a *Pratylenchus brachyurus* e reação de genótipos de soja aos nematoides das galhas e das lesões. Dissertação Mestrado. Rondonópolis, UFMT. 87p.
- SASSER, J. N.; FRECKMAN, D. W. 1987. A World Perspective on Nematology: The Role of the Society. In: Veech, J.A. and Dickson, D.W., eds. Vistas on Nematology, Hyattsville, Maryland. Pp.7-20.
- SILVA, F. de A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. 2016. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. African Journal of Agricultural Research 11(39):3733-3740.
- SOUZA, V. H. M. de. 2015. Reação de hospedeiro de espécies de eucalipto a *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne incognita*. Dissertação Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, SP. 57p.

Agrotrópica 32(1) 2020

### CARACTERES AGRONÔMICOS DE ARROZ BRANCO SOB DIFERENTES DOSES DE NITROGÊNIO E FORMAS DE SEMEADURA

Francisco Jardeson de Oliveira Fortes, Edmilson Igor Bernardo Almeida, Antonio Roberto Cardoso Siqueira, Antonio Felipe Ferreira de Sousa, Deucleiton Jardim Amorim, Washington da Silva Sousa

Universidade Federal do Maranhão - UFMA (CCAA); BR 222, km 04, S/N, Bairro Boa Vista, Chapadinha-Maranhão, 65.500-000. jardeson13f@hotmail.com

A agricultura atual busca meios de otimização da produtividade, todavia estes ainda são escassos para maioria dos rizicultores no Norte Maranhense. Neste cenário, predominam produtores, cujas lavouras têm baixo aporte de orientações agronômicas e adoção de tecnologias, com aumento dos riscos na atividade. Objetivou-se avaliar os efeitos de doses crescentes de nitrogênio e formas de semeadura, sobre as características agronômicas da cultura do arroz branco. O experimento foi conduzido em lavoura comercial, situada em Matões do Norte (MA), durante a safra 2017/2018. Adotou-se o delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições em arranjo fatorial 4x2. O primeiro fator consistiu em doses de nitrogênio (0, 25, 50 e 75 kg ha<sup>-1</sup>) e o segundo em dois sistemas de semeadura (sulco e a lanço). O nitrogênio foi aplicado em cobertura, aos 40 dias após a emergência (DAE), correspondendo ao início do perfilhamento. Avaliaram-se o efeito significativo do nitrogênio sobre altura de planta, produtividade, grãos cheios, grãos vazios e porcentagem de grãos quebrados. Recomenda-se para o cultivo de arroz branco cv. IRGA 424, no Norte Maranhense, a aplicação de 50 kg de nitrogênio e semeadura no sulco, que proporcionaram melhorias no crescimento, produtividade média (5.640 kg ha<sup>-1</sup>) e qualidade de grãos.

Palavras-chave: Adubação, Maranhão, *Oryza sativa*, produtividade, rizicultura.

## Agronomic characters of white rice under different doses of nitrogen and

**sowing ways.** The agriculture is always searching for ways to optimize productivity; however, these are scarce for most rice farmers in the north of the state of Maranhão. In this scenario, there is a predominance of producers whose crops have low input agronomic orientations and technology adoption, with increased risks in the activity. This study aimed to evaluate the effects of increasing doses of nitrogen and sowing ways on agronomic characteristics of white rice culture. The experiment was conducted in commercial tillage, located in Matões do Norte (MA), during the 2017/2018 harvest. A randomized block design was adopted, with four replications in a 4x2 factorial arrangement. The first factor consisted of nitrogen doses (0, 25, 50, and 75 kg ha<sup>-1</sup>) and the second in two seeding systems (furrow and broadcast). Nitrogen was applied in cover, 40 days after emergence (DAE), corresponding to the beginning of tillering. Besides, the significant effect of nitrogen on plant height, yield, filled grains, empty grains, and percentage of broken grains was evaluated. Furthermore, it is recommended for the cultivation of white rice cv. IRGA 424, in the study area, the application of 50 kg of nitrogen and furrow sowing, which provided improvements in growth, average productivity (5,640 kg ha<sup>-1</sup>), and grain quality.

**Key words:** Fertilization, Maranhão, *Oryza sativa*, productivity, rice growing.

Recebido para publicação em 9 de julho de 2019. Aceito em 02 de abril de 2020. DOI: 10.21757/0103-3816.2020v32n1p43-50

Fortes et al.

### Introdução

O arroz (*Oryza sativa*) é uma planta pertencente à família Poaceae, caracteriza-se como um dos principais grãos utilizados na alimentação da população mundial. Entretanto, de acordo Wander (2015), o mercado global de arroz representa apenas 7% do total produzido, ou seja, na maioria dos países, ele é cultivado para autoconsumo. De acordo com a FAO (2013), os principais países exportadores desse cereal são Tailândia (29,4%), Vietnã (19,6%), Índia (13,8%) Paquistão (9,4%) e EUA (8,7%). O Brasil é o maior produtor do Mercosul, seguido pela Argentina, e Uruguai (Conab, 2019). As maiores regiões produtoras no Brasil são: Sul, Centro Oeste, Norte e Nordeste, respectivamente.

O Maranhão é o maior estado produtor de arroz da Região Nordeste e o quinto produtor brasileiro, porém não é autossuficiente na produção deste cereal (Conab, 2019). Neste estado, as lavouras de arroz de terras altas sofrem forte pressão de outros sistemas produtivos, considerados mais rentáveis pelo pequeno e médio produtor, a exemplo da criação de animais de pequeno porte. O que tem favorecido, com raríssimas exceções, na diminuição de área cultivada com essa cultura em várias microrregiões do estado (Conab, 2019).

A rizicultura maranhense na sua quase totalidade produzida, encontra-se em lavouras com menos de 50 hectares, com poucos estudos científicos e com um nível tecnológico variado. O alto nível tecnológico fica a encargo da agricultura empresarial, principalmente nos municípios de São Mateus, Viana, Vitória do Mearim e Matões do Norte, que utilizam cultivares modernas. Ao passo que, a agricultura familiar trabalha em quase ausência de tecnologias e orientações, principalmente em áreas de assentamento, situadas nos municípios de Itapecuru Mirim e Igarapé do Meio, que utilizam cultivares tradicionais de terras altas (Abreu et al., 2017).

As respostas da cultura a adubações nitrogenadas variam muito com as condições climáticas, fertilidade do solo, sequência de cultivos, cultivar, época e densidade de semeadura, eficiência de controle de plantas daninhas, estado fitossanitário e manejo da água. Além disso, pode ocorrer a incidência de doenças, especialmente a brusone (*Pyricularia* 

oryzae), cujo desenvolvimento é favorecido pelo excesso de N.

De acordo com De Queiroz et al. (2011), esse nutriente caracteriza-se por possuir um dos maiores índices de perdas, as quais podem ser por lixiviação, escorrimento superficial, erosão, volatilização de amônia e desnitrificação. O maior ou menor índice de perda pode ser contornado pela forma de aplicação, manejo e fonte do nutriente a ser utilizada. Em varias lavouras comerciais de arroz branco inundado, na mesorregião Norte Maranhense, constata-se o uso de ureia que é a fonte nitrogenada altamente susceptível à volatização, particularmente em áreas alagadas. Nesse contexto, entende-se que é necessário testar outras fontes e doses de N, também disponível em revendas agrícolas dessa mesorregião. Dessa forma, é importante proporcionar a adoção de tecnologias eficientes, disponíveis e rentáveis, particularmente sobre diferentes sistemas de semeadura.

Na mesorregião do Norte Maranhense, observase de maneira geral, há predominância de pequenos rizicultores, cujas lavouras são cultivadas com baixo aporte de orientações agronômicas e baixa adoção de tecnologias. Assim, há aumento nos riscos da atividade, redução nas possibilidades de acesso ao crédito rural e desestímulo do produtor a permanecer na atividade.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar os efeitos de doses crescentes de nitrogênio e formas de semeadura, sobre as características agronômicas da cultura do arroz branco.

### Material e Métodos

O experimento foi conduzido em talhão de lavoura comercial, situada no município de Matões do Norte (MA). Este município está localizado há 145 km da capital do Estado, São Luís (MA) e inserido na mesorregião do Norte Maranhense, a qual é constituída por municípios como Itapecuru Mirim, Nina Rodrigues, Pirapemas, Presidente Vargas, Vargem Grande, Miranda do Norte. De acordo com Köppen-Geiger o clima da mesorregião é o Aw, com temperatura média de 28°C, precipitação média anual de 1700 a 1900 mm.

A análise de solo na profundidade de 0-20 cm, apresentou as seguintes características físico-químicas: pH (CaCl<sub>2</sub>) 4,5;  $P_2O_5 = 1 \text{ mg/dm}^3$ ;  $K_2O = 52 \text{ mg/dm}^3$ ;  $Ca^{+2} = 3,0 \text{ cmolc.dm}^3$ ;  $Mg^{+2} = 1,3 \text{ cmolc.dm}^3$ ;  $Al^{+3} = 1$ 

0,60 cmolc.dm³; Saturação por Base (V%) 43%; CTC 10,43 cmolc.dm³; matéria orgânica 1,6 %; textura: areia = 51%; silte = 29%; e argila = 20%.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos ao acaso, em esquema fatorial 4x2, com quatro repetições. O primeiro fator foi representado por doses de nitrogênio (0, 25, 50 e 75 kg ha<sup>-1</sup>), e o segundo, por dois sistemas de semeadura (a lanço e em sulco), totalizando 32 parcelas experimentais de 4 x 4 m, cujas linhas úteis avaliadas foram de 1,5 m posicionadas ao centro da parcela.

A área de estudo contava com mais de sete anos de abertura, sem antecedência de calagem e adubações nitrogenadas, com semeadura predominantemente à lanço. O preparo inicial do solo constituiu-se da aração e gradagem. Em seguida fez-se a semeadura (a lanço e em sulco) das sementes de arroz cultivar IRGA 424. Foram utilizados 130 kg de semente por hectare e na semeadura em sulco, o espaçamento adotado foi de 20 cm entre fileiras. Um dia após a semeadura, procedeu-se a aplicação do herbicida pré-emergente Goal®, na dose de 1,5 L ha<sup>-1</sup>. A adubação nitrogenada ocorreu 40 dias após o plantio da cultura, sendo que a aplicação do fertilizante ocorreu inteiramente a lanço, similarmente realizado pelo setor produtivo da região.

Foi realizado o controle de plantas daninhas em pósemergência, nas entrelinhas, com aplicação de 0,5 L ha-1 de Glifosato e dentro das parcelas, o controle foi de forma manual, realizando o arranquio das plantas daninhas sempre que necessário. Para o controle de pragas não foi necessária nenhuma aplicação de inseticida preventiva ou corretiva.

Para avaliação de caracteres agronômicos e produtividade, foram selecionadas dez plantas ao acaso na área útil da parcelam. Avaliou-se a altura de planta (cm), pela distância entre o colo e o ápice da planta; número de grãos por cacho, por contagem; rendimento de grãos (dados corrigidos para 14% de umidade, posteriormente convertidos para kg ha<sup>-1</sup>) e porcentagem de grãos quebrados.

Os dados foram submetidos à análise estatística pelo software

AgroEstat®. Inicialmente procedeu-se com analise de variância (ANOVA), cujos efeitos significativos dos tratamentos foram analisados por teste Tukey ao nível de 5% de significância.

#### Resultados e Discussão

A aplicação de doses crescentes de N proporcionou efeito significativo e isolado sobre a altura de plantas, produtividade e número de grãos cheios. Ao passo que a interação entre doses de N e formas de plantio culminou em efeito significativo sobre o número de grãos cheios, número de grãos vazios e porcentagem de grãos quebrados por cacho (Tabela 1).

A Figura 1 apresenta o efeito de doses crescentes de N sobre a altura de plantas de arroz branco cultivar IRGA 424. Os resultados se adequaram a um modelo linear simples, cujo R² foi estimado em 0,92; ou seja, 92% da dispersão foi explicada pela equação apresentada.

As doses de 50 e 75 kg de N por hectare proporcionaram maior efeito sobre a altura de arroz branco cv. IRGA 424, corroborando com Buzetti et al. (2006), que relataram aumento linear na altura de planta de arroz branco cv. IAC 201 e IAC 202, com o fornecimento de doses crescentes de N. Fidelis et al. (2012) também constataram diferença significativa entre os ambientes com alto e baixo teor de N, sendo que o ambiente com alto teor de N propiciou maiores médias de altura de planta para as cultivares Conai, Bonança, Curinga, Caiapó e Epagri-114. Hernandes et al. (2010) e Mattje et al. (2013) também verificaram incrementos significativos na altura de plantas de arroz branco, em resposta a doses crescentes de N.

Tabela 1. Análise de variância para altura de plantas (AP), produtividade (PROD), porcentagem de grãos cheios (PGC), porcentagem de grãos vazios (PGV) e porcentagem de grãos quebrados (PGQ) de arroz branco cv. IRGA 424

		Quadrados médios					
FV	GL	AP	PROD	PGC	PGV	GQ	
Doses de N (N)	3	700,86*	7,00*	22,44ns	22,44ns	0,18*	
Plantio (P)	1	42,78 <sup>ns</sup>	$0,01^{ns}$	8,42ns	8,42ns	$0,06^{ns}$	
NxP	3	$2,20^{ns}$	$0,01^{ns}$	128,50*	128,50*	0,18*	
Blocos	3	11,86 <sup>ns</sup>	$0,02^{ns}$	$9,27^{ns}$	$9,27^{ns}$	0,01 <sup>ns</sup>	
Resíduo	21	11,48	0,0047	23,46	23,46	0,03	
C.V. (%)	-	5,06	1,4	6,05	24,27	4,73	

 $<sup>^{\</sup>rm ns}-$  Não significativo; \* - Significativo a 5% de significância; C.V. -- Coeficiente de variação.

Fortes et al.

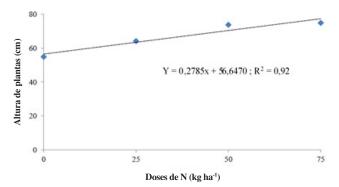


Figura 1. Efeito de doses crescentes de nitrogênio sobre a altura de plantas de arroz branco cv. IRGA 424.

Desta forma, esses resultados comprovam o efeito significativo do N sobre o crescimento do arroz branco, em diferentes cultivares e locais. Portanto, podem ser de grande importância para os cultivos comerciais do Norte Maranhense, cujas ferramentas tecnológicas de produção são empregadas com baixo aporte de assistência técnica e embasamento científico.

Para as médias das alturas das plantas de arroz nos dois sistemas de semeadura (Tabela 2), não houve diferença estatística significativa, porém é importante ressaltar que o sistema de semeadura via sulco em números reais obteve plantas maiores, que de tal forma é uma importante característica para o sistema comercial de cultivo da cultura, que geralmente emprega mecanização na semeadura e colheita.

Vale ressaltar que isso pode ter ocorrido pela melhor distribuição das plantas na área de cultivo, com menor competição intraespecífica por água, luz e nutrientes. Assim como, pela menor interferência de plantas daninhas, que o sistema em sulco pode permitir. Por conseguinte, ocorre a melhor distribuição de plantas por unidade de área, tendo melhor uso do espaço físico e recursos que nele estão presentes.

Tabela 2. Efeito de diferentes sistemas de semeadura sobre a altura de plantas (AP) de arroz branco cv. IRGA 424

Sistema de semeadura	Médias de altura de Planta
Sulco	68,06 a
Lanço	65,75 a
D.M.S	2,49159

D.M.S: Diferença mínima significativa; Medias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância

Trabalhos realizados por Fornasieri Filho e Fornasieri (2006) verificaram que a semeadura resulta em economia de cerca de 20% de sementes e possibilita melhor profundidade de plantio, uniformidade de emergência das plântulas, distribuição de fertilizantes e aplicação de defensivos agrícolas.

A produtividade de grãos foi influenciada significativamente pelas doses de nitrogênio e os resultados se adequaram a um modelo linear crescente, cujo R<sup>2</sup> expressou que 86% da dispersão pôde ser explicada pela equação proposta (Figura 2).

As maiores produtividades foram obtidas nas doses 50 e 75 kg de nitrogênio por hectare, fato semelhante ao que ocorreu na altura das plantas. Neste panorama, entende-se que a melhor opção seria a dosagem de 50 kg ha<sup>-1</sup>, por questões de relação custo-benefício, tendo em vista que o incremento existente com a aplicação da maior dose (75 kg ha<sup>-1</sup>) foi apenas 1,05% superior ao obtido para 50 kg ha<sup>-1</sup>. A produtividade média obtida na dose de 50 kg.ha<sup>-1</sup> (5.640 kg ha<sup>-1</sup>), foi similar aos resultados obtidos por Buzetti et al. (2006), os quais atingiram 5.500 kg ha<sup>-1</sup>, para a dose de 100 kg ha<sup>-1</sup> de N tendo como fonte de N a ureia, no segundo ano de cultivo.

Em trabalho realizado por Hernandes et al. (2010) no Estado de São Paulo, ao utilizar três fontes de N, na forma de sulfonitrato de amônio (26% de N), sulfato de amônio (21% de N) e ureia (45% de N), obteve melhor desempenho para cultivares de arroz BRSMG Curinga e IAC 202, para aplicação de 122 kg de N ha¹, cujas doses maiores ocasionaram efeito negativo sobre a produtividade. Esses resultados também corroboram com Fidelis et al. (2012) que reportaram efeitos positivos do N sobre a produtividade de grãos, na cultivar Curinga.

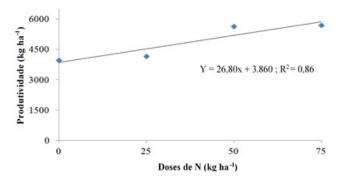


Figura 2. Efeito de doses crescentes de nitrogênio sobre a produtividade de arroz branco cv. IRGA 424.

No presente estudo, a produtividade máxima de 5.850 kg ha<sup>-1</sup> ocorreu para a dose de 75 kg ha<sup>-1</sup>, com a ressalva de que este investimento pode não ser pago pelo retorno em produtividade, comparativamente a dose de 50 kg ha<sup>-1</sup>. Bem como, os produtores podem estar sujeitos a efeitos de antagonismo ou toxidez por nutrientes, pelo uso periódico de doses elevadas de N, ao longo dos ciclos consecutivos, conforme validado por Hernandes et al. (2010) e Fidelis et al. (2012) em seus estudos.

Obtiveram-se produtividades médias de 3.960 kg ha<sup>-1</sup>, 4.160 kg ha<sup>-1</sup>, 5.640 kg ha<sup>-1</sup> e 5.700 kg ha<sup>-1</sup> nas doses de 0, 25, 50 e 75 kg de N ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Essas médias podem ser consideradas satisfatórias, quando comparadas com a média nacional para cultivos de arroz de sequeiro (2.380 kg ha<sup>-1</sup>), média da região nordeste (1.548 kg ha<sup>-1</sup>) e Maranhão (1.652 kg ha<sup>-1</sup>), segundo dados da Conab (2019). Também corroboraram com estudos feitos por Bordin et al. (2003), Farinelli (2004), Buzetti et al. (2006) e Hernandes et al. (2010) em que melhores produtividades foram atingidas, com aplicação de 80 kg de N ha<sup>-1</sup>, 75 de N ha<sup>-1</sup>, 100 kg de N ha<sup>-1</sup> e 122 kg de N ha<sup>-1</sup>, respectivamente.

No que concerne aos sistemas de semeadura, constatou-se efeito não significativo sobre a produtividade (Tabela 3). Fato que não era esperado, mas que podem ser explicados pelas limitações de manejo da área cultivada. E abre margem para novos estudos, que associem estas formas de plantio com outras melhorias, que não apenas o uso de N, nas práticas agronômicas empregadas no agronegócio do arroz branco. Ribeiro (1999) e Dario e Dario (2015) relataram que quando não há cuidado necessário no preparo do solo, os efeitos da semeadura mecanizada são limitados, semelhantemente ao que ocorreu no presente estudo.

A Figura 3 evidencia a porcentagem de grãos cheios, associada ao desdobramento de doses de N em dois sistemas de plantio (lanço e sulco).

Os dados apresentaram ajuste polinomial quadrático e com diferentes respostas para lanço e sulco. Pelo método de derivação verificou-se que o sistema de semeadura a lanço teve um incremento máximo de grãos cheios, em uma adubação de 41,19 kg de N ha<sup>-1</sup>, chegando a 84,76%, representada pela equação: y lanço = -0,0067x<sup>2</sup> + 0,5552x + 73,395; R<sup>2</sup> = 0,8269 e com mínimo incremento via semeadura em sulco na adubação

Tabela 3. Produtividade média de arroz branco cv. IRGA 424, sob diferentes sistemas de semeadura

Sistema de semeadura	Médias de produtividade (kg ha¹)
Lanço	4.840 a
Sulco	4.890 a
D.M.S	0,05021

D.M.S: Diferença mínima significativa; Medias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância

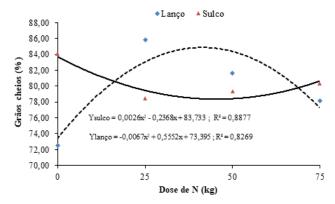


Figura 3. Efeito de doses crescentes de nitrogênio associado a sistemas de semeadura, sobre a porcentagem de grãos cheios de arroz branco cv. IRGA 424.

de 45,53 Kg N ha<sup>-1</sup> com 78,43% de grãos cheios: y sulco =  $0,0026x^2 - 0,2368x + 83,733$ ; R<sup>2</sup> = 0,8877.

Por conseguinte, o sistema de semeadura a lanço tende a cair, pois a capacidade produtiva da planta pode estar limitada por outros fatores, como a competição e limitações no manejo do solo. Ao passo que no sistema de semeadura em sulco ocorreu efeito contrário, fato este explicado pela perca ou lixiviação adubação no sulco, com diferença de 11,33% entre os incrementos máximos e mínimos entre os sistemas.

Os resultados corroboram com Freitas et al. (2008), que utilizou como fonte de N a ureia. Segundo esses autores, o rendimento de grãos responde de forma quadrática ao incremento da dose de N, tendo em vista que a derivada da equação de regressão indicou que a dose de máxima eficiência técnica (DMET) foi de 132 kg ha<sup>-1</sup> para obtenção de 8.900 kg ha<sup>-1</sup>, para o sistema de semeadura ideal para a cultura. O que pode justificar as diferentes respostas ocorrentes sobre doses crescentes de N, no presente estudo.

O número de panículas é definido durante o período de germinação, até dez dias depois que o primórdio da panícula é visível (Fornasieri Filho e Fornasieri, 2006).

48 Fortes et al.

É possível que os resultados expostos tenham ocorrido em função das diferentes doses utilizadas, tendo em vista que as plantas que receberam as maiores quantidades de nitrogênio (50 e 75 kg ha<sup>-1</sup>) apresentaram maior crescimento e produtividade, o que implica em maiores exigências por fatores abióticos, que podem ser limitados pela competição entre plantas, e consequentemente pelas formas de plantio.

Segundo Freitas et al. (2008), quando semeado na época adequada, o número de panículas m<sup>-2</sup> aumentou linearmente com incremento da dose de N, cujos resultados foram de 549 panículas m<sup>-2</sup> (tratamento sem aplicação de N) para 771 panículas m<sup>-2</sup> (tratamento com 180 kg ha<sup>-1</sup> de N).

A Tabela 4 demonstra o rendimento de grão cheios, associado ao desdobramento de sistemas de semeadura em doses de N. Importante destacar que as médias observadas no sistema de semeadura em sulco apresentam uma leve superioridade em relação às médias obtidas para o sistema de plantio a lanço, nas diferentes doses N. Quando comparadas as médias obtidas nos dois sistemas de semeadura utilizados, em função das doses, constatou-se diferença estatística significativa apenas na dose de 0 kg de N, sendo que o melhor rendimento foi obtido para o plantio no sulco.

Portanto, em condições de deficiência de N, as plantas de arroz branco cv. IRGA 424 sofreram interferência da forma de plantio, a qual possivelmente aumentou a competição pelos recursos abióticos induzidamente escassos. Nesse contexto, o plantio no sulco pode ser uma estratégia para os produtores que tem dificuldade em acesso a tecnologias agrícolas, como os adubos minerais.

Constatou-se efeito significativo de diferentes doses de nitrogênio e formas de plantio sobre a porcentagem de grãos vazios. Os dados se ajustaram a uma equação polinomial quadrática e verificou-se interação entre os tratamentos estudados (Figura 4). Os resultados expressam um aumento na porcentagem de grãos vazios em função da elevação das doses de N com o incremento máximo de 21,66%, por meio do sistema de semeadura em sulco, em adubação de 45,53 kg N ha<sup>-1</sup>; y sulco = -0,0026x<sup>2</sup> + 0,2368x + 16,268; R<sup>2</sup> = 0,8877.

Porém, o sistema de semeadura feito a lanço, teve um efeito melhor, tendo cerca de 15,10% de grãos vazios, em uma adubação de 41,43 kg N ha-1; y lanço

=  $0.0067x^2$  - 0.5552x + 26.605;  $R^2$  = 0.8269. Esse possível incremento em grãos vazios, pode ter sido proporcionado pelo aumento do tamanho das panículas, culminado assim em rendimento superior a capacidade de suporte da planta.

Na Tabela 5 constatou-se diferença estatística significativa apenas na dose de 0 kg de N, dentro dos diferentes sistemas de semeadura, com similaridade ao que ocorreu para grãos cheios.

A percentagem de grão vazios, teve maior média na ausência de N (0 kg ha<sup>-1</sup> N) no sistema a lanço, possivelmente, devido à competição existente e para condição de semeadura em sulco, houve escassez nutricional para atender as exigências para enchimento dos grãos, via relação fonte-dreno. Logo, mesmo com similares altura de plantas e produtividade, independente da presença de N, a qualidade de grãos foi afetada pela ausência do N. Pois sua ausência culminou em queda de qualidade de grãos, para o cultivo a lanço.

Isso é um importante alerta para os pequenos produtores de arroz branco do Norte Maranhense, onde

Tabela 4. Porcentagem de grãos cheios em função de diferentes doses de nitrogênio e sistemas de semeadura

Doses de N	Grãos Ch	eios (%)
(Kg)	Lanço	Sulco
0	72,49 b	84,05 a
25	78,49 a	85,80 a
50	79,36 a	81,65 a
75	78,18 a	80,32 a
D.M.S	7,498	1

D.M.S: Diferença mínima significativa; Medias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância.

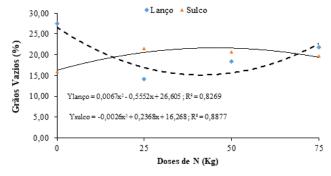


Figura 4. Efeito de doses crescentes de nitrogênio associado a sistemas de semeadura sobre porcentagem de grão vazios de arroz branco cv. IRGA 424.

predomina o plantio a lanço e a escassa utilização de tecnologias fundamentais, como os adubos minerais. E quando fazem uso de adubação nitrogenada, não levam em consideração as particularidades da região, a exemplo a facilidade de solos serem inundados, por ausência de assistência técnica existe a utilização de fontes erradas de N. Como por exemplo, a aplicação de ureia para suprimento de N, em áreas de arroz inundado.

Para as outras doses dentro dos sistemas de semeadura não houve diferença estatística significativa. Ressalta-se que as médias de grãos vazios no sistema de semeadura em sulco são menores do que as observadas no sistema semeadura a lanço.

Em relação a porcentagem de grãos quebrados também verificou-se efeito significativo da interação doses de nitrogênio e sistema de semeadura, cujos desdobramentos foram interpretados através da (Figura 5). Observou-se que as crescentes doses de N dentro dos sistemas tiveram inconstâncias quanto aos dados obtidos, essa desuniformidade de dados pode ser atribuída a desorganização das plantas dentro do

Tabela 5. Porcentagem de grãos vazios em função de diferentes doses de nitrogênio e sistemas de semeadura, em arroz branco cv. IRGA 424

Doses de N	Grãos Vazi	os (%)
(Kg)	Lanço	Sulco
0	27,51 b	15,95 a
25	21,51 a	14,20 a
50	20,64 a	18,35 a
75	21,82 a	19,68 a
D.M.S	7,4981	

D.M.S: Diferença mínima significativa; Medias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância.

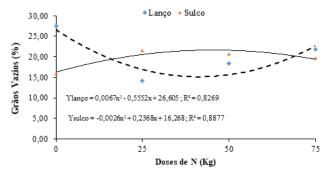


Figura 5. Efeito de doses crescentes de nitrogênio associado a sistemas de semeadura sobre porcentagem de grão quebrado em arroz branco cv. IRGA 424.

estande, pois nesse sistema existe uma variação grande no quesito espaçamento de plantas, assim como densidade populacional.

Além disso, não se tem o cuidado necessário no processo de preparo do solo, levando muitas dessas sementes caírem em fendas mais profundas com prejuízo para a emergência das plântulas, e outras permanecem na superfície, secando antes mesmo de germinar, que por sua vez justificam os dados obtidos.

O rendimento de grãos quebrados, em plantio a lanço, y Lanço = -6E-05x2 + 0.0068x + 3.6465; R² = 0.8008, foi reduzido conforme o aumento de N, ao passo que para o arroz branco semeado no sulco, y Sulco = 4E-05x2 - 0.0071x + 4.0283; R² = 0.2049, houve uma tendência quadrática no ajuste dos dados. Isso pode ter ocorrido devido ao fato que mesmo em boas condições de disponibilidade com relação ao N, as plantas cultivadas no sulco demandaram outros nutrientes para constituição dos grãos, os quais podem apresentar quantidade insuficiente e ocasionar queda da qualidade dos grãos, tornando-os facilmente quebradiços. Ao passo que, para o plantio a lanço, essa possível deficiência nutricional acessória tornou-se menos evidente por ocasião da competição entre plantas.

Para os diferentes sistemas de semeadura, dentro das doses de N, observou que as menores percentagens de grãos quebrados foram registradas para o sistema feito em sulco (Tabela 6), isso pode ter ocorrido pela melhor distribuição das plantas na área de cultivo, com menor competição intraespecífica por água, luz e nutrientes. Bem como, pela menor interferência de plantas daninhas que o sistema plantio no sulco pode permitir. Por sua vez, com a melhor distribuição de plantas por unidade de área, melhor uso do espaço físico e recursos que nele estão presentes.

Tabela 6. Porcentagem de grãos quebrados de acordo com diferentes doses de nitrogênio e sistemas de semeadura, em arroz branco cy IRGA 424

Doses de N	Grãos Que	ebrados (%)
(Kg)	Lanço	Sulco
0	4,13 a	3,66 b
25	3,73 a	3,58 a
50	4,08 a	3,88 a
75	3,79 a	3,63 a
D.M.S	0,2650	)

D.M.S: Diferença mínima significativa; Medias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância.

Fortes et al.

Para Fornasieri Filho e Fornasieri, (2006), nacionalmente, atribui-se ao arroz com casca uma renda básica de 68% no beneficiamento, constituída de um rendimento de 40% em grãos inteiros e mais 28% de grãos quebrados e quirera. Dessa forma, os valores obtidos no presente estudo estão dentro do que é considerado aceitável ou esperados pelos autores.

A presença de grãos quebrados em lotes de arroz é uma característica indesejável, pois diminui a qualidade e o valor comercial do produto (Arf et al., 2002; Santos, Stone e Vieira, 2006). Além da redução do valor econômico, pode ocorrer também a diminuição da quantidade total de grãos descascados, ou seja, o rendimento no beneficiamento, condicionada por uma fração eliminada junto com as cascas (Garcia et al., 2015).

### Conclusões

Recomenda-se para o cultivo de arroz branco cv. IRGA 424, no Norte Maranhense, a aplicação de 50 kg de nitrogênio e semeadura no sulco, que proporcionaram melhorias no crescimento, produtividade média (5.640 kg ha<sup>-1</sup>) e qualidade de grãos.

### Literatura Citada

- ABREU, G. B. et al. 2017. Desempenho de cultivares de arroz de terras altas e irrigado no ambiente de sequeiro favorecido no Maranhão. In: Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado. Intensificação sustentável. Embrapa Cocais. Gramado, RS. Anais. Porto Alegre, RS, IRGA.
- ARF, O. et al. 2002. Preparo do solo, irrigação por aspersão e rendimento de engenho do arroz de terras altas. Scientia Agricola 59(2):321-326.
- BATISTELLA, M. et al. 2013. Relatório do diagnóstico do macrozoneamento ecológico-econômico do Estado do Maranhão. Embrapa Territorial-Outras publicações técnicas (INFOTECA-E).
- BORDIN, L. et al. 2003. Sucessão de cultivo de feijão arroz com doses de adubação nitrogenada após adubação verde, em plantio direto. Bragantia 62:235-241.
- BUZETTI, S. et al. 2006. Resposta de cultivares de arroz a doses de nitrogênio e do regulador de crescimento cloreto de clormequat. Pesquisa Agropecuária Brasileira 41(12):1731-1737.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO CONAB. 2019. Acompanhamento da safra brasileira: Grãos. Brasília, DF, v. 6 SAFRA 2018/19- n. 8 Oitavo

- levantamento. Disponível em: < https://www.conab.gov.br/infoagro/safras/graos>. Acesso em: 24 de maio de 2019.
- DARIO, G.; DARIO, I. 2015. Adubação e correção da acidez. Arroz: do plantio à colheita 2(5):122-134.
- DE QUEIROZ, A. M. et al. 2011. Avaliação de diferentes fontes e doses de nitrogênio na adubação da cultura do milho (*Zea mays* L.). Revista Brasileira de Milho e Sorgo 10 (3):257-266.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS-FAO. 2013. Fao stat database. Disponivel em: http://faostat.fao.org; Acesso em 22 mar. 2019.
- FARINELLI, R. 2004. Características agronômicas de arroz de terras altas sob plantio direto e adubação nitrogenada e potássica. Revista Brasileira de Ciência do Solo 28(3):447-454.
- FIDELIS, R. R. et al. 2012. Eficiência do uso de nitrogênio em genótipos de arroz de terras altas. Pesquisa Agropecuária Tropical 42(1):124-128.
- FORNASIERI FILHO, D.; FORNASIERI, J. L. 2006. Manual da cultura do arroz. Jaboticabal, SP, Funep. 589p.
- FREITAS, T. F. S. D. et al. 2008. Produtividade de arroz irrigado e eficiência da adubação nitrogenada influenciadas pela época da semeadura. Revista Brasileira de Ciência do Solo 32(6):2397-2405.
- GARCIA, N. F. S. et al. 2015. Rendimento e qualidade de grãos de Arroz de terras altas em função de doses e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense*. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer -Goiânia, 11(21):1653p.
- HERNANDES, A. et al. 2010. Doses, fontes e épocas de aplicação de nitrogênio em cultivares de arroz. Ciência e Agrotecnologia 34:307-312.
- MATTJE, V. M. et al. 2013. Evaluation of rice cultivars contrasting in doses of nitrogen in soils of irrigated lowland. Journal of Biotechnology and Biodiversity 4:126-133.
- RIBEIRO, A. C. 1999. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação. Comissão de fertilidade do solo do estado de Minas Gerais.
- SANTOS, A. B dos; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R de A. 2006. A cultura do arroz no Brasil. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás.
- WANDER, A. E. (org). 2015. A cultura do Arroz. In: Borém, A.; Rangel, P. H. N. Arroz do plantio à colheita. Viçosa, MG, Ed. UFV. 242p.

# ACAROLOGIA AGRÍCOLA NO ESTADO DO AMAPÁ: PANORAMA HISTÓRICO E DESAFIOS FUTUROS

Rodrigo Souza Santos<sup>1</sup>, Jeferson Luiz de Carvalho Mineiro<sup>2</sup>, Maria do Socorro Miranda de Sousa<sup>3</sup>, Ezequiel da Glória de Deus<sup>4</sup>, Ricardo Adaime<sup>5</sup>

¹Embrapa Acre, Rodovia BR 364, km 14, CP 321, 69900-970, Rio Branco, Acre, Brasil. rodrigo.s.santos@embrapa.br; ²Instituto Biológico, Laboratório de Acarologia, Rodovia Heitor Penteado, km 3, 13092-541, Campinas, São Paulo, Brasil. jefmin@hotmail.com; ³Universidade Federal do Amapá (Unifap), Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical, Rodovia Juscelino Kubitschek, km 02, 68903-419, Macapá, Amapá, Brasil. socorro-ap@homail.com; ⁴Instituto Federal do Amapá (Ifap), Rua Nilo Peçanha, n° 1.263, 68920-000, Laranjal do Jari, Amapá, Brasil. egd\_bio@hotmail.com; ⁵Embrapa Amapá, Rodovia Juscelino Kubitscheck, km 5, n° 2600, CP 10, 68903-419, Macapá, Amapá, Brasil. ricardo.adaime@embrapa.br

No estado do Amapá, integrante da Amazônia Legal, até o momento os estudos na área de Acarologia Agrícola foram pontuais embora tenham indicado rica diversidade de espécies. Neste trabalho apresentamos o estado da arte da Acarologia Agrícola no Amapá, com o intuito de atrair e estimular a fixação de acarologistas no Estado, assegurando a produção de conhecimento científico sobre este importante grupo biológico.

Palavras-chave: Acari, Arachnida, diversidade, praga, Amazônia.

## Agricultural acarology in the state of Amapá, Brazil: historical overview and

**future challenges.** In the state of Amapá, Brazil, part of the Legal Amazon, so far studies in the area of Agricultural Acarology have been punctual, although they have indicated rich species diversity. In this paper we present the state of the art of Agricultural Acarology in Amapá state, in order to attract and stimulate the establishment of acarologists in the state, ensuring the production of scientific knowledge about this important biological group.

**Key words:** Acari, Arachnida, diversity, pest, Amazon.

52 Santos et al.

### Introdução

O estado do Amapá faz parte da Amazônia Legal, possui área física de 142.817 Km² distribuídos em 16 municípios e fronteira com a Guiana Francesa ao norte e o Suriname a noroeste. O Estado possui a maior parte do seu território situado no Hemisfério Norte, sendo que a Linha do Equador passa pela capital, Macapá, no sudeste do Estado (Jordão e Silva, 2006; Só Geografia, 2019).

Os ecossistemas do Estado são diversos, existindo florestas de terra firme, campos e florestas de várzea, cerrados, florestas de transição e mangues (Costa Neto e Silva, 2004). Predominam pequenas propriedades agrícolas providas de mão-de-obra familiar, raramente com área superior a quatro hectares. Os sistemas agrícolas são dependentes da diversidade dos ecossistemas, mas a agricultura é praticada majoritariamente em ambientes de terra firme ou na parte alta das superfícies, frequentemente alagadas (Jordão e Silva, 2006).

Quanto mais distante da capital do Estado, maior a influência da agricultura como fonte de renda. A incidência de pragas e doenças, no entanto, é muito alta. As condições climáticas, aliadas às precárias condições socioeconômicas, propiciam a ocorrência de insetos, patógenos, nematoides e ácaros, resultando na redução da produção agrícola e, consequentemente, na qualidade de vida de seus agricultores (Jordão e Silva, 2006). Segundo Morais et al. (2016), os Estados da Amazônia Legal tem sido uma importante porta de entrada de pragas exóticas no Brasil, principalmente de países vizinhos. Assim, a detecção precoce de pragas é uma ferramenta chave para a adoção de medidas de contenção, as quais evitarão ou retardarão sua disseminação para novas áreas.

Os ácaros são organismos diminutos, que habitam os mais diferentes ambientes e correspondem ao segundo maior grupo de artrópodes, depois dos insetos. São comuns no meio aquático, sobre plantas e animais, assim como nos depósitos de alimentos, abrigos de animais e residências humanas. No Brasil, entre 20 a 30 espécies de ácaros causam sérios danos a plantas cultivadas, justificando o interesse e a necessidade de se conhecer essas espécies (Moraes e Flechtmann, 2008).

O conhecimento sobre as espécies de ácaros que ocorrem em cada região brasileira, seus hábitos, biologia e inter-relações ecológicas é de fundamental importância para detectar espécies potencialmente danosas aos cultivos regionais e, assim, evitar ou minimizar perdas agrícolas. Ademais, estudos de levantamento faunístico podem resultar no registro de espécies promissoras como inimigas naturais de pragas, com potencial para serem utilizadas em programas de controle biológico aplicado (Aguiar-Menezes et al., 2007; Moraes e Flechtmann, 2008; Nuvoloni et al., 2014; Barbosa et al., 2017), assim como indicar plantas hospedeiras que funcionem como reservatório dessas espécies e que podem ter importância em programas de controle biológico conservativo (Moraes et al., 2001; Lofego, Moraes e Castro, 2004; Lofego et al., 2017).

A Acarologia Agrícola, ciência que se ocupa do estudo dos ácaros que mantém interação com as plantas cultivadas, ainda é pouco desenvolvida no estado do Amapá. Não há acarologistas de formação atuando profissionalmente no Estado. Tampouco, existem cursos de pós-graduação que ofertem a disciplina de Acarologia. Em consequência, são escassos os trabalhos envolvendo ácaros plantícolas e predadores no estado do Amapá, tendo sido realizados apenas trabalhos pontuais, de curta duração e, em grande parte, publicados na forma de resumos (Gazel Filho, Silva e Lima, 2002; Gazel Filho e Silva, 2003; Silva e Jordão, 2005; Jordão e Silva, 2006; Mineiro, Silva e Silva, 2009; Jordão, Noronha e Funi, 2011; Deus et al., 2012; Sousa et al., 2013; Mineiro et al., 2014; Demite et al., 2015).

Nesse sentido, este trabalho reúne informações sobre as pesquisas na área da Acarologia Agrícola realizadas no estado do Amapá, com informações sobre as espécies plantícolas e predadoras registradas até o momento, bem como visa discutir os principais desafios de pesquisa nessa área no Estado.

As bases de dados consultadas foram: Plataforma Scielo, Portal de Periódicos Capes e Ainfo – Sistema de Gestão do Acervo Documental e Digital da Embrapa. Foram consultados capítulos de livros, artigos/notas científicas publicadas em periódicos indexados, boletins de pesquisa, circulares e comunicados técnicos, documentos da série Embrapa, bem como resumos publicados em Anais de eventos científicos.

## Estudos acarológicos preliminares no estado do Amapá

Nesse trabalho de revisão, verificou-se um total de 51 espécies de ácaros (fitófagos e predadores), distribuídos entre 18 famílias (Eriophyidae, Tenuipalpidae, Tetranychidae, Tarsonemidae, Phytoseiidae, Ascidae, Cunaxidae, Stigmaeidae, Tydeidae, Wintershmidtiidae, Blattisociidae, Melicharidae, Oripodidae, Acaridae, Diptilomiopidae, Echimyopodidae, Eupodidae e Iolinidae) em 13 espécies de plantas hospedeiras no estado do Amapá. Os ácaros plantícolas mais importantes registrados até o momento no estado ao Amapá estão relacionados na Tabela 1. Considerando a amplitude de ocorrência e danos causados, destacam-se: Brevipalpus yothersi Baker (Acari: Tetranychidae) e *Plyllocoptrutra oleivora* (Ashmead) (Acari:Eriophyidae) em Citrus sinensis (L.) Osbeck (Rutaceae). Embora Tetranychus abacae Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) seja muito frequente em Musa sp. (Musaceae), não foram observados danos significativos à cultura até o momento.

Os trabalhos pioneiros de Mineiro, Silva e Silva (2009), Deus et al. (2012), Sousa et al. (2013) indicaram significativa riqueza de espécies de ácaros predadores, que por sua vez, são potenciais agentes no controle biológico natural dos ácaros-praga.

Os primeiros relatos de ácaros de importância agrícola no estado do Amapá foram realizados por Gazel Filho, Silva e Lima (2002). Os autores relataram o ácaro-da-necrose, *Aceria (Eriophyes) guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae), em coqueiros (*Cocos nucifera* L., Arecaceae) no município de Macapá. A espécie é considerada praga-chave do coqueiro no Brasil, especialmente na região Nordeste (Ferreira et al., 1998). No Amapá, onde a produção é voltada exclusivamente para o consumo de água, essa praga pode comprometer seriamente o cultivo do coco, visto que os frutos atacados por *A. guerreronis* podem ter uma redução de 50% no tamanho, quando comparados a frutos sadios (Moura e Leite, 2000).

Posteriormente, Gazel Filho e Silva (2003) relataram o ácaro-da-mancha-anelar-do-coqueiro, *Amrineus cocofolius* Flechtmann (Acari: Eriophyidae), em plantio comercial de coco no estado do Amapá. Tal espécie forma uma banda necrótica transversal no fruto, superficialmente, sem formar rachaduras (Navia et al., 2005).

Silva e Jordão (2005) relataram a ocorrência do ácaro-da-falsa-ferrugem, *P. oleivora*, e do ácaro-da-leprose, *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) em *C. sinensis*, informando que possuem ocorrência generalizada e causam danos significativos. Mineiro et al. (2009) reportaram o ácaro-mexicano, *Tetranychus mexicanus* (McGregor) (Acari:

Tabela 1. Principais espécies de ácaros plantícolas registradas no estado do Amapá e suas respectivas plantas hospedeiras

Espécies de ácaros	Famílias	Espécies vegetais	Referências
Brevipalpus yothersi Baker* Tenuipalpus heveae Baker Tenuipalpus uvae De Leon	Tenuipalpidae	Citrus sinensis (Rutaceae) Hevea brasiliensis (Euphorbiaceae) Spondias mombin (Anacardiaceae)	Silva e Jordão (2005) Jordão e Silva (2006)** Mineiro et al. (2009) Deus et al. (2012) Mineiro et al. (2014)
Mononychellus tanajoa (Bondar) Tetranychus abacae Baker & Pritchard Tetranychus mexicanus (McGregor)	Tetranychidae	Manihot esculenta (Euphorbiaceae) Musa sp. (Musaceae) Citrus sinensis (Rutaceae)	Mineiro et al. (2009) Jordão e Silva (2006) Mineiro et al. (2009)
Polyphagotarsonemus latus (Banks)	Tarsonemidae	Carica papaya (Caricacae)	Jordão e Silva (2006)
Davisella spondias Reis & Navia	Diptilomiopidae	Spondias mombin (Anacardiaceae)	Sousa et al. (2013)
Phyllocoptruta oleivora (Ashmead)	Eriophyidae	Citrus sinensis (Rutaceae)	Silva e Jordão (2005) Mineiro et al. (2009)

<sup>\*</sup>Originalmente reportado como Brevipalpus phoenicis (Geijskes).

<sup>\*\*</sup>Os espécimes identificados como B. phoenicis provavelmente sejam B. yothersi, uma vez que em citros predomina essa espécie.

Santos et al.

Tetranychidae), associado ao cultivo de *C. sinensis* no estado do Amapá.

Phyllocoptruta oleivora é reportado como a principal praga dos citros no mundo (Yamamoto e Bassanezi, 2003). No Brasil, é a segunda espécie de ácaro-praga mais relevante, sendo *B. phoenicis* o principal ácaro-praga dos citros no Brasil, por ser o transmissor do vírus-da-leprose e também do vírus-da-clorose-zonada (Moraes e Flechtmann, 2008).

Jordão e Silva (2006), após levantamento de pragas em alguns municípios do Amapá, relataram a ocorrência das seguintes espécies de ácaros: o ácaro-vermelho, *T. abacae* em bananeira, além do ácaro-branco, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae) e do ácaro-de-teia, *Tetranychus* sp. (Acari: Tetranychidae), em mamoeiro (*Carica papaya* L., Caricaceae).

Mineiro, Silva e Silva (2009) realizaram um levantamento de espécies de ácaros que ocorrem em fruteiras e outras plantas de importância econômica nos municípios de Macapá e Calçoene. Os autores registraram espécimes das famílias Ascidae, Phytoseiidae, Cunaxidae, Eriophyidae, Stigmaeidae, Tarsonemidae, Tenuipalpidae, Tetranychidae e Tydeidae, das quais a família Tetranychidae apresentou a maior riqueza (cinco espécies). Dentre as espécies coletadas por Mineiro, Silva e Silva (2009), destacouse *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae), apontada por Moraes e Flechtmann (2008) como importante praga da cultura da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae).

Jordão, Noronha e Funi (2011) fizeram levantamento de ácaros em mandioca nos municípios de Macapá, Calçoene e Oiapoque. Foram obtidos espécimes pertencentes às famílias Acaridae, Cheyletidae, Phytoseiidae, Tarsonemidae e Tetranychidae. Embora em todas as amostras tenham sido coletados espécimes de *Mononychellus* sp. (Acari: Tetranychidae), os autores não observaram danos significativos às plantas.

## Considerações sobre *Brevipalpus* phoenicis (Geijskes)

Ochoa et al. (2011) observaram a existência de diferentes morfoespécies do ácaro-plano, *B. phoenicis*, até então consideradas como uma única espécie. A partir disso foram iniciados alguns estudos

morfológicos evidenciando essas diferenças (Ferreira et al., 2013; Mineiro et al., 2013a, 2013b, 2014, 2015a, 2015b; Ochoa et al., 2015; Sinico et al., 2015), ficando caracterizado o chamado "complexo *B. phoenicis*". Posteriormente, Beard et al. (2013) separaram essas morfoespécies em distintas espécies.

Assim, durante mais de 70 anos de estudos do ácaroplano no Brasil, houve um aumento expressivo de trabalhos científicos envolvendo essa espécie desde a década de 90, principalmente devido à sua importância econômica e às novas descobertas sobre essas espécies de ácaros atuarem como transmissores de vírus para plantas. Quatro espécies novas foram descritas, incluindo muitas espécies crípticas dentro do grupo *B. phoenicis*. Duas sinonímias de *B. phoenicis lato sensu*, *B. yothersi* e *Brevipalpus papayensis* Baker (Acari: Tenuipalpidae), foram ressuscitadas e redescritas (Beard et al., 2015). Para isso, foram utilizados outros caracteres morfológicos que foram observados e adicionados para a separação das espécies pelo uso de modernas técnicas de microscopia (Bolton et al., 2014).

Dessa forma, a maioria das espécies relatadas e consideradas como *B. phoenicis* no Brasil até então, estão equivocadas. As espécies *B. phoenicis*, *B. papayensis* e *B. yothersi* ocorrem em citros, porém, *B. yothersi* é a mais amplamente disseminada (Beard et al., 2015). Novos estudos com relação à transmissão de vírus, biologia, ecologia, sensibilidade a produtos químicos, biologia molecular, entre outros, estão sendo realizados por pesquisadores, tanto no Brasil quanto em outros países, para tentar elucidar diferentes aspectos dessa espécie de ácaro.

Diante do exposto acima, no que tange aos trabalhos realizados no Amapá, deve-se fazer as seguintes considerações:

- 1) Em trabalho sobre ácaros conduzidos em espécies frutíferas, Mineiro, Silva e Silva (2009) registraram *B. phoenicis* em citros nos municípios de Macapá e Calçoene. Entretanto, deve-se considerálo como *B. yothersi*.
- 2) Sousa et al. (2013) amostraram *B. phoenicis* em taperebazeiro. Porém, ao examinarem o exemplar mais detalhadamente, foi possível verificar que se tratava de outra espécie. No entanto, como foi encontrado apenas um indivíduo, não é possível confirmar a sua identificação com segurança ao nível específico ou mesmo a possibilidade de ser um táxon ainda não descrito.

### Ácaros em seringueira [Hevea brasiliensis (Willd. ex Adr. de Juss.) Müell. Arg., Euphorbiaceae]

Deus et al. (2012) realizaram o primeiro estudo sistematizado sobre os ácaros associadas à seringueira, *Hevea brasiliensis* (Willd. *ex* Adr. de Juss.) Müell. Arg., Euphorbiaceae, no estado do Amapá. O trabalho foi realizado em um seringal implantado entre os anos 1980 e 1982, no município de Santana. As coletas foram realizadas no clone Fx 2261, plantado em 1982 em área correspondente a dois hectares.

Os autores amostraram 1.722 ácaros distribuídos nas famílias Acaridae, Cunaxidae, Eriophyidae, Iolinidae, Phytoseiidae, Stigmaeidae, Tarsonemidae, Tenuipalpidae, Tydeidae e Winterschmidtiidae, além de espécies não identificadas das subordens Oribatida e Astigmata. A família Tenuipalpidae, embora representada apenas pelo ácaro-plano-vermelho-daseringueira, Tenuipalpus heveae Baker, apresentou o maior número de indivíduos capturados (81,1%), com média de 3,1 ácaros/folíolo. Este foi o primeiro registro de T. heveae para o estado do Amapá (Deus et al., 2012). Essa espécie habita principalmente a face abaxial das folhas, causando um bronzeamento das folhas pela perda de área fotossintética, seguido de queda prematura das mesmas (Moraes e Flechtmann, 2008). Essa espécie passou a ser reportada como praga potencial da seringueira no Brasil a partir do ano 2000 (Vieira et al., 2009).

Os autores verificaram que o principal ácaro-praga no seringal estudado foi *T. heveae*, com elevado nível populacional nas duas amostragens (Deus et al., 2012). Foi verificado ainda o ataque do fungo *Hirsutella* sp. (Ophiocordycipitaceae) infectando espécimes de *T. heveae*, atuando como um potencial agente de controle biológico natural desta espécie no ambiente. A espécie *Hirsutella thompsonii* (Fisher) (Deuteromycotina: Hyphomycetes) já havia sido registrada por Tanzini et al. (2000), atacando *Calacarus heveae* Feres (Acari: Eriophyidae) em seringueira, em Itiquira, MT.

Calacarus heveae, importante espécie-praga da seringueira no Brasil, não foi amostrada no levantamento realizado por Deus et al. (2012). Entretanto, para confirmar a ausência da espécie no Amapá, será necessário a realização de novos levantamentos em outras áreas de seringais do estado.

## Ácaros em taperebazeiro (*Spondias* mombin L., Anacardiaceae)

Sousa et al. (2013) realizaram o primeiro levantamento de ácaros associados ao taperebazeiro, através de amostragens quinzenais, em duas áreas experimentais estabelecidas em cultivos no município de Porto Grande.

Foram obtidos exemplares de 17 famílias nas duas áreas amostradas (Melicharidae, Phytoseiidae, Ascidae, Blattisociidae, Galumnidae, Oripodidae, Phthiracaridae, Eupodidae, Acaridae, Histiosmotidae, Cunaxidae, Diptilomiopidae, Echimyopodidae, Iolinidae, Stigmaeidae, Tarsonemidae e Tenuipalpidae). A espécie mais abundante foi *Davisella spondias* Reis & Navia (Diptilomiopidae), representando mais de 90% do total de ácaros capturados nas duas áreas. Essa espécie foi descrita por Reis et al. (2010), associada a *S. mombin* em Recife, PE. Não foram detectadas injúrias causadas por estes ácaros à planta hospedeira (Souza et al., 2013).

Exemplares de *Tenuipalpus uvae* De Leon (Acari: Tenuipalpidae) foram obtidos nas duas áreas. Verificou-se que se tratava do primeiro registro dessa espécie no Brasil, juntamente com espécimes obtidos também em Pernambuco (Mineiro et al., 2014). Essa espécie causa finas rachaduras na epiderme de frutos de taperebá e amarelecimento uniforme nas folhas terminais, o que afeta a qualidade e a comercialização dos frutos (Salas e Ochoa, 1986).

Considerando a diversidade de espécies associadas ao taperebazeiro neste levantamento preliminar realizado no estado do Amapá por Souza et al. (2013), com destaque para a ocorrência de *D. spondias* e a presença da espécie nociva *T. uvae*, sugere-se a realização de levantamentos mais sistematizados, tanto em áreas de ocorrência espontânea dessa espécie vegetal quanto em áreas cultivadas.

### Ácaros predadores

As principais famílias de ácaros plantícolas predadores, são Anystidae, Bdellidae, Cheyletidae, Cunaxidae, Phytoseiidae e Stigmaeidae (Yaninek & Moraes, 1991; Gerson, Smiley & Ochoa, 2003). Dentre os estudos acarológicos realizados no estado do Amapá, foi verificada a presença de diversas espécies de ácaros predadores, em várias espécies vegetais.

Santos et al.

No levantamento de ácaros realizado em cultivo de mandioca por Jordão, Noronha e Funi (2011), os fitoseídeos representaram 94% dos espécimes predadores. As espécies amostradas foram Amblyseius aerialis (Muma), Amblydromalus sp. e Typhlodromalus aripo De Leon (Acari: Phytoseiidae). Os ácaros pertencentes à família Phytoseiidae são conhecidos principalmente por seu hábito predador, embora muitos se alimentem também de pólen, fungos, substâncias açucaradas produzidas por insetos, exsudatos de plantas etc. Ocorrem principalmente sobre plantas, ainda que também encontrados no solo (Moraes e Flechtmann, 2008). Atualmente são conhecidas mais de 2.250 espécies de fitoseídeos em todo o mundo, das quais cerca de 140 já foram reportadas no Brasil (Moraes et al. 2004). Os fitoseídeos são amplamente reconhecidos como eficientes agentes utilizados em programas de controle biológico de pragas no Brasil e no mundo (Moraes, 1991; Moraes e Flechtmann, 2008; Praslièka et al., 2009).

O estudo conduzido por Demite et al. (2015) nos municípios de Amapá, Calçoene, Macapá, Oiapoque e Santana, registrou 23 espécies de fitoseídeos, sendo as espécies A. aerialis, Amblyseius largoensis (Muma) e Amblyseius tamatavensis Blommers (Acari: Phytoseiidae) as mais representativas nas amostras. Os autores verificaram que as plantas que abrigaram a maior riqueza de fitoseídeos foram Musa sp., C. nucifera e Euterpe oleracea Mart. (Arecaceae).

Deus et al. (2012) também amostraram famílias de ácaros que apresentam espécies predadoras, tais como Phytoseiidae, Stigmaeidae e Cunaxidae. Entre os Phytoseiidae coletados, os autores amostraram representantes dos gêneros *Amblyseius*, *Euseius*, *Galendromus* e *Typhlodromips*.

Souza et al. (2013) verificaram que a família Phytoseiidae apresentou a maior riqueza de espécies, com relação aos demais ácaros predadores amostrados, em levantamento conduzido em cultivos de taperebazeiros no município de Porto Grande. Os autores também coletaram espécimes de ácaros predadores pertencentes às famílias Cunaxidae e Stigmaeidae. Espécimes de fitoseídeos dos gêneros Amblyseius, Amblydromalus, Iphiseiodes, Phytoscutus e Proprioseiopsis foram as mais abundantes nesse levantamento. Ademais, foram

amostradas duas novas espécies ainda não descritas formalmente, pertencentes aos gêneros *Iphiseius* e *Phytoscutus* (Souza et al. 2013).

Demite et al. (2015) destacaram que, devido à grande diversidade florística presente no estado do Amapá, as espécies de fitoseídeos até o momento conhecidas representam uma fração muito pequena da diversidade dessa família no Estado, reforçando a necessidade de estudos mais abrangentes e duradouros que contemplem vários municípios e tipos de vegetação (silvestre e agrícola) ainda não amostrados.

### Considerações Finais

O conhecimento sobre os ácaros e as plantas a que estão associados ainda é muito limitado no estado do Amapá, sendo representado por uma escassa literatura publicada até o momento: três artigos científicos, duas notas científicas, um comunicado técnico, três resumos em eventos e algumas informações presentes nos livros publicados por Jordão e Silva (2006) e Silva, Adaime e Zucchi (2016). Esse conhecimento é resultante de estudos preliminares, porém pioneiros, realizados por pesquisadores que atuam ou atuaram no Estado, em geral com formação na área de Entomologia Agrícola. Ressalta-se que, para a geração do conhecimento até então disponível, foi crucial o apoio de experientes acarologistas radicados em outras unidades da federação.

Em condições de campo verifica-se danos causados por ácaros em algumas culturas agrícolas. No entanto, estudos específicos sobre ácaros nos cultivos mais expressivos para a população local, tais como mandioca, feijão-caupi, olerícolas e frutíferas em geral ainda não foram realizados. Esses estudos devem, inclusive, contemplar os Sistemas Agroflorestais (SAFs), modalidade de produção bastante adotada pelos agricultores no Estado. Considerando a recente expansão das áreas agrícolas no Amapá é de se esperar que os prejuízos econômicos causados por ácaros sejam intensificados. Por outro lado, identifica-se claramente fértil terreno para jovens acarologistas que desejem iniciar sua trajetória profissional no Estado.

Os poucos estudos realizados indicam significativa riqueza de espécies, especialmente de Phytoseiidae, importante família de ácaros predadores. Portanto, levantamentos de ácaros nos diversos ecossistemas amapaenses são prioritários. Além de estudos focados em catalogar a diversidade da acarofauna no Estado, outros, referentes à ecologia, etologia, dinâmica populacional e controle de espécies de importância econômica são também necessários.

Adicionalmente, não há corpo técnico preparado para identificar ácaros de expressão quarentenária para o Brasil, já introduzidos ou na iminência de introdução. Há que se considerar que, nos anos recentes, duas espécies de ácaros foram introduzidas no país, pela Amazônia, mais especificamente via estado de Roraima: 1) o ácaro-hindustânico-dos-citros, Schizotetranychus hindustanicus (Hirst) (Acari: Tetranychidae), em 2008 (Navia e Marsaro Júnior, 2010) e 2) o ácaro-vermelhodas-palmeiras, Raoiella indica Hirst (Acari: Tenuipalpidae), em 2009 (Navia et al., 2011). Há ainda um sério risco de introdução, também por esta região, de Steneotarsonemus spinki (Acari: Tarsonemidae), importante praga de arrozais na Ásia e América Central, e que já se encontra reportado na Colômbia (Navia, Mendonça & Ochoa, 2010; Toro e Mesa, 2015).

Urge, pois, atrair e fixar acarologistas para atuar no conhecimento básico e aplicado sobre as espécies de ácaros que causam prejuízos econômicos aos cultivos locais e sobre os ácaros predadores que atuam no controle biológico natural das espécies nocivas.

### Literatura Citada

- AGUIAR-MENEZES, E. L. et al. 2007. Ácaros: taxonomia, bioecologia e sua importância agrícola. Seropédica, RJ, Embrapa Agrobiologia. Documentos, 240. 28p.
- BARBOSA, M. F. de C. et al. 2017. Controle biológico com ácaros predadores e seu papel no manejo integrado de pragas. Engenheiro Coelho: PROMIP. 69p.
- BEARD, J. J. et al. 2013. Flat mites of the world. 2<sup>nd</sup> edition. Disponível em: < http://idtools.org/id/mites/key.php?key=Brevipalpus\_of\_the\_world\_2013> Acesso em: 26 mar. 2020.
- BEARD, J. J. et al. 2015. *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) species complex (Acari: Tenuipalpidae) a closer look. Zootaxa 3944(1):1-67.
- BOLTON, S. J. et al. 2014. A new genus and species for Nematalycidae (Acari: Endeostigmata). Journal of Natural History 48:1359-1373.
- COSTA NETO, S. V.; SILVA, M. S. 2004. Vegetação. In: Santos, V. F.; Figueira, Z. R. (Orgs.). Diagnóstico sócio-ambiental participativo do setor costeiro estuarino do Estado do Amapá. Macapá, Amapá, MMA/GEA/IEPA. CD-ROM. pp.84-114.

- DEUS, E. G. et al. 2012. Mites (Arachnida: Acari) collected on rubber trees *Hevea brasiliensis* (Willd. *ex* A. Juss.) Müell. Arg. in Santana, Amapá state, Brazil. Brazilian Journal of Biology (Brasil) 72(4):915-918.
- DEMITE, P. R. et al. 2015. Ácaros fitoseídeos (Acari: Phytoseiidae) plantícolas do estado do Amapá, Brasil. In: Simpósio Brasileiro de Acarologia, 5. São José do Rio Preto. Resumos. São José do Rio Preto, SP, SIBAC.
- FERREIRA, J. M. S. et al. 1998. Pragas do coqueiro. In: Ferreira, J. M. S.; Warwick, D. R. N.; Siqueira, L. A. (eds.). A cultura do coqueiro no Brasil. 2ª ed. Brasília, Embrapa SPI; Aracaju, SE, Embrapa CPATC. pp. 189-267.
- FERREIRA, P. R. et al. 2013. Distribuição de morfoespécies de *Brevipalpus phoenicis* do grupo C (Acari: Tenuipalpidae) em cafeeiros em diferentes localidades no Estado de São Paulo. In: Reunião Anual do Instituto Biológico, 26. São Paulo. Resumos. São Paulo, SP, RAIB.
- GAZEL FILHO, A. B.; SILVA, R. A. 2003. Artrópodes prejudiciais ao cultivo do coqueiro (*Cocos nucifera* L. Arecaceae) no Estado do Amapá, Brasil. In:Reunião Anual do Instituto Biológico, 16. São Paulo. Resumos... São Paulo, SP, Arquivos do Instituto Biológico. pp. 48-49.
- GAZEL FILHO, A. B.; SILVA, R. A.; LIMA, J. A. de S. 2002. Pragas do coqueiro (*Cocos nucifera* L.) no Amapá. Macapá, Embrapa Amapá. Comunicado Técnico, 79. 9p.
- GERSON, U.; SMILEY, R. L.; OCHOA, R. 2003. Mites (Acari) for pest control. Oxford: Blackwell Science. 539p.
- JORDÃO, A. L.; NORONHA, A. C. S.; FUNI, C. 2011. Ácaros em folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) no estado do Amapá. In: Congresso Brasileiro de Mandioca, 14; 1ª Feira Brasileira da Mandioca, Maceió. Resumos. Maceió, AL, SBM. 5p.
- JORDÃO, A. L.; SILVA, R. A. 2006. Guia de pragas agrícolas para o manejo integrado no Estado do Amapá. Ribeirão Preto, SP, Holos Editora. 182p.
- LOFEGO, A. C.; MORAES, G. J. de; CASTRO, L. A. S. 2004. Phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) on Myrtaceae in the State of São Paulo, Brazil. Zootaxa 516:1-18.
- LOFEGO, A. C. et al. 2017. Mite fauna associated with *Cecropia pachystachya* Trec. (Urticaceae) the importance of the plant as reservoir and dissemination means for predatory mites. Systematic & Applied Acarology 22(10):1780-1794.
- MINEIRO, J. L. C. et al. 2014. First record of *Tenuipalpus uvae* De Leon, 1962 (Acari: Tenuipalpidae) in Brazil. Check List (Brasil) 10(1):151-152.
- MINEIRO, J. L. C. et al. 2013a. Caracterização morfológica de diferentes morfoespécies de *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae). In: Simpósio Brasileiro de Acarologia, 4. Bento Gonçalves. Resumos. Bento Gonçalves, RS, SIBAC.
- MINEIRO, J. L. C. et al. 2013b. Distribuição de diferentes morfoespécies de *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) em diferentes localidades e plantas no Estado de São Paulo. In: Simpósio Brasileiro de Acarologia, 4. Bento Gonçalves. Resumos. Bento Gonçalves, RS, SIBAC.

58 Santos et al.

MINEIRO, J. L. C. et al. 2015a. *Brevipalpus phoenicis* no Brasil: de 2011 a 2015, o que aconteceu? In: Simpósio Brasileiro de Acarologia, 5. São José do Rio Preto. Resumos... São José do Rio Preto, SP. SIBAC.

- MINEIRO, J. L. C. et al. 2015b. *Brevipalpus yothersi* em *Citrus* spp. no Brasil: Resultados preliminares. In: Simpósio Brasileiro de Acarologia, 5. São José do Rio Preto. Resumos... São José do Rio Preto: SIBAC.
- MINEIRO, J. L. C. et al. 2014. Brevipalpus phoenicis (group species B) on Citrus spp. and Coffea arabica, State of São Paulo, Brazil. In: International Congress of Acarology, 14. Kyoto, Japan. Proceedings. Kyoto, Acarology Society of Japan.
- MINEIRO, J. L. C.; SILVA, W. R.; SILVA, R. A. 2009. Ácaros em fruteiras e outras plantas no Estado de Amapá. Biota Neotropica (Brasil) 9(2):103-106.
- MORAES, G. J. de. 1991. Controle biológico de ácaros fitófagos. Informe Agropecuário (Brasil) 15(167):56-62.
- MORAES, G. J. de et al. 2001. Papel da vegetação natural como reservatório de ácaros predadores. In: Simpósio de Controle Biológico, 7. Poços de Caldas. Resumos... Poços de Caldas: Microservice Tecnologia Digital S.A. pp. 492-497.
- MORAES, G. J. de; FLECHTMANN, C. H. W. 2008. Manual de Acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto, Holos Editora. 308p.
- MORAES, G. J. de et al. 2004. A revised catalog of the mite family Phytoseiidae. Zootaxa 434:494p.
- MORAIS, E. G. F. de et al. 2016. Pragas de expressão quarentenária na Amazônia. pp. 521-559. In: Silva, N. M. da; Adaime, R.; Zucchi, R. A. (eds.). Pragas agrícolas e florestais na Amazônia. Brasília, Embrapa. 608p.
- MOURA, J. I. L.; LEITE, J. B. 2000. Ocorrência de pragas no coqueiro (*Cocos nucifera* L.) cultivado em sistema agroflorestal no sul da Bahia. In: Congresso Brasileiro de Sistemas Agroflorestais, 3. Manaus. Resumos... Manaus, AM, Embrapa Amazônia Ocidental. pp. 238-241.
- NAVIA, D.; MARSARO JÚNIOR, A. L. 2010. First report of the citrus hindu mite, *Schizotetranychus hindustanicus* (Hirst) (Prostigmata: Tetranychidae), in Brazil. Neotropical Entomology (Brasil) 39(1):140-143.
- NAVIA, D. et al. 2005. Acarofauna associada a frutos de coqueiro (*Cocos nucifera* L.) de algumas Localidades das Américas. Neotropical Entomology (Brasil) 34(2):349-354.
- NAVIA, D.; MENDONÇA, R. S.; OCHOA, R. 2010. The rice mite Steneotarsonemus spinki, an invasive species in the Americas. In: Sabelis, M. W; Bruin, J. (eds.). Trends in acarology: proceedings. International Congress, 12. Dordrecht: Springer Science+Business Media B.V. 265p.
- NAVIA, D. et al. 2011. First report of the red palm mite, *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae), in Brazil. Neotropical Entomology (Brasil) 40(3):409-411.
- NUVOLONI, F. M. et al. 2014. Phytoseiidae mites associated with *Hevea* spp. from the Amazon region: a hidden diversity under the canopy of native trees. Systematics and Biodiversity 13(2):182-206.

- OCHOA, R. et al. 2011. *Brevipalpus phoenicis* in Brazil. Who is it? In: Simpósio Brasileiro de Acarologia, 3. Campinas. Resumos... Campinas, SP, SIBAC.
- OCHOA, R. et al. 2015. *Brevipalpus* mites in Brazil: a big challenge! In: Simpósio Brasileiro de Acarologia, 5. São José do Rio Preto. Resumos. São José do Rio Preto, SP. SIBAC.
- PRASLIÈKA, J. et al. 2009. Predatory mites of the Phytoseiidae family in integrated and ecological pest management systems in orchards in Slovania. Biologia 64(5):959-961.
- REIS, A. C. et al. 2010. Eriophyoid mites (Acari: Prostigmata: Eriophyoidea) from fruit trees in Northeastern Brazil a new genus, three new species and a redescription. Zootaxa 2694:43-56.
- SALAS, L. A.; OCHOA, R. 1986. El género *Tenuipalpus* Donn. en Costa Rica (Acari: Tenuipalpidae). Agronomía Costarricense 10(1-2):207-210.
- SILVA, N. M. da; ADAIME, R.; ZUCCHI, R. A. (eds.). 2016. Pragas agrícolas e florestais na Amazônia. Brasília, Embrapa. 608p.
- SILVA, R. A.; JORDÃO, A. L. 2005. Pragas dos citros no Estado do Amapá. Revista Científica Eletrônica de Agronomia (Brasil) 7:277-280.
- SINICO, T. E. et al. 2015. Marcadores moleculares para identificação e estudo de diversidade de *Brevipalpus* spp. (Acari: Tenuipalpidae): informações preliminares. In: Simpósio Brasileiro de Acarologia, 5. São José do Rio Preto. Resumos... São José do Rio Preto, SP, SIBAC.
- SÓ GEOGRAFIA. VIRTUOUS TECNOLOGIA DA INFORMAÇÃO. 2019. Amapá. Disponível em: <a href="http://www.sogeografia.com.br/Conteudos/Estados/Amapa/">http://www.sogeografia.com.br/Conteudos/Estados/Amapa/</a> Acesso em: 26 mar. 2020.
- SOUSA, M. S. M. et al. 2013. Mites (Arachnida: Acari) associated with hog plum trees (*Spondias mombin* L.) in the Brazilian Amazon. Biota Amazônia (Brasil) 3(1):177-180.
- TANZINI, M. R. et al. 2000. An epizootic of *Calacarus heveae* (Acari: Eriophyidae) caused by *Hirsutella thompsoni* on rubber trees. Experimental and Applied Acarology 24(2):141-144.
- TORO, S. S.; MESA, N. C. C. 2015. Parámetros poblacionales y comportamiento de *Steneotarsonemus spinki* Smiley (Acari: Tarsonemidae) en el cultivo de arroz. Protectio Acta Agronómica. 64:183-193.
- VIEIRA, M. R. et al. 2009. Progênies de seringueira com potencial para conferir resistência a ácaros (*Calacarus heveae* Feres e *Tenuipalpus heveae* Baker). Ciência Rural (Brasil) 39(7):1953-1959,
- YAMAMOTO, P. T.; BASSANEZI, R. B. 2003. Seletividade de produtos fitossanitários aos inimigos naturais de pragas dos citros. Laranja (Brasil) 24(2):353-382.
- YANINEK, J. S.; MORAES, G. J. de. 1991. Mites in biological and integrated control of pests in agriculture. pp. 133-149. In: Dusbabek, F.; Bukva, V. (Eds.). Modern acarology. proceedings. International Congress of Acarology, 8. Prague: SPB Academic Publishing. 680p.

## MATURAÇÃO FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE BERINJELA

Ximena Maira de Souza Vilela<sup>1</sup>, Douglas Correa de Souza<sup>1\*</sup>, Luis Felipe Lima e Silva<sup>2</sup>, Édila Vilela de Resende Von Pinho<sup>1</sup>, Luciane Vilela Resende<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura, Campus Universitário, 37200-000. Lavras/MG, Brasil. <sup>2</sup>Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS), Setor de Agronomia, Campus Alfenas, 37130-000, Alfenas/MG, Brasil

\*Autor para correspondência: \*douglascorrea@ymail.com.

A demanda por berinjela tem aumentado nos últimos anos, incentivada principalmente pelas pesquisas comprovando o potencial nutracêutico desse alimento. Todavia, ainda são limitadas as informações e tecnologias disponíveis para a produção de sementes com qualidade elevada. Diante disso, objetivou-se com este trabalho definir o período de maturidade fisiológica das sementes de berinjela cv. Embu e o ponto ideal para colheita de frutos para extração de sementes, baseando-se na qualidade fisiológica das mesmas. Os frutos foram colhidos em diferentes dias após a antese (40, 47, 54, 61, 68, 75 e 82 DAA), e as sementes foram extraídas e divididas em dois lotes: frescas e secas até 8% de teor de água. Foram realizados testes de determinações de umidade, matéria seca, peso de mil sementes, condutividade elétrica, germinação, índice de velocidade de germinação, protrusão de raiz primária, índice de velocidade de protrusão de raiz primária, emergência e índice de velocidade de emergência. A maturidade fisiológica das sementes encontra-se no intervalo de 68 a 82 DAA e o ponto de máxima qualidade fisiológica foi aos 82 DAA, quando as mesmas apresentaram maior germinação e vigor (em média 80% e 4% respectivamente), considerando, principalmente a capacidade de gerar plântulas normais, tanto para sementes frescas quanto para sementes secas.

Palavras-chave: colheita de sementes, qualidade de sementes, produção de sementes, Solanum melongena

**Physiological maturation of eggplant seeds.** The demand for eggplant has increased in the last years, stimulated mainly by the researches proving the nutraceutical potential of this food, however, the information and technologies for the production of seeds with high quality are limited. The objective of this work was to define the period of physiological maturity of eggplant cv. Embu and the ideal point for fruit harvesting for seed extraction, based on their physiological quality. The fruits were harvested on different days after the anthesis (40, 47, 54, 61, 68, 75 and 82 DAA), and the seeds were extracted and divided into two batches: fresh and dried to 8% water content. Tests of moisture, dry matter, weight of one thousand seeds, electric conductivity, germination, germination speed index, primary root protrusion, primary root protrusion velocity index, emergence and emergency speed index were performed. The physiological maturity of the seeds was in the range of 68 to 82 DAA and the point of maximum physiological quality was 82 DAA, when they presented higher germination and vigor (on average 80% and 4% respectively), mainly considering the ability to generate normal seedlings, both for fresh seeds and for dry seeds.

Key works: harvesting seeds, seed production, seed quality, Solanum melongena

Recebido para publicação em 7 de março de 2019. Aceito em 02 de abril de 2020. DOI: 10.21757/0103-3816.2020v32n1p59-66

Vilela et al.

### Introdução

A demanda por berinjela tem aumentado nos últimos anos, incentivado principalmente pelas pesquisas comprovando o potencial nutracêutico desse alimento (Gonçalves et al., 2006; Scorsatto et al., 2017). Isto tem impulsionado o mercado consumidor, que por sua vez tem exigido cada vez mais produtos de melhor qualidade e consequente aprimoramento do sistema de produção da cultura.

Uma preocupação eminente dos agricultores com a produção de berinjela, está relacionado com o fato da cultura ser propagada exclusivamente por sementes, aumentando a demanda por esse insumo de alta qualidade. É amplamente sabido que o uso de sementes com alto nível de qualidade fisiológica e sanitária é um elemento básico para obtenção de mudas sadias (Nakada et al., 2011) e, consequentemente, essencial, para maior produtividade e melhor qualidade do produto colhido (Lopes et al., 2014).

A falta de informações sobre tecnologias de produção de sementes de berinjela demonstra a necessidade de pesquisas em busca de padrões viáveis de produção. Nesse sentido o estudo da maturação fisiológica das sementes de berinjela e o estabelecimento do ponto ideal de colheita dos frutos para extração de semente têm grande importância, visto que em campos brasileiros, as informações provêm de conhecimento ainda empírico. Isto tem culminado em perdas significativas de produtividade, uma vez que o ponto de colheita dos frutos para a produção de sementes é um fator determinante e ainda não totalmente estabelecido, e que está associado a maiores potenciais fisiológicos como maior poder de germinação, vigor e tolerância à dessecação.

O estudo do estádio de maturação dos frutos para a obtenção de sementes visa principalmente determinar o ponto ideal de colheita, sendo importante observar que a maturidade fisiológica varia em função da espécie, cultivar e condições ambientais. Em berinjela, o intervalo entre 50 a 80 dias após a antese tem sido citado como o ponto de maturidade fisiológica. Em adição, em espécies de frutos carnosos, como solanáceas e cucurbitáceas, as sementes de melhor qualidade podem ser obtidas quando os frutos são colhidos maduros, e em muitos casos, as sementes continuam o processo de maturação mesmo após a

colheita do fruto (Nascimento, Liana e Nascimento 2000). No caso da berinjela, definir um ponto ideal para colheita de sementes torna-se um estudo ainda mais delicado devido à desuniformidade das sementes dessa espécie para alcançarem a maturidade fisiológica dentro de um mesmo fruto (Marcos Filho, 2015).

A definição do ponto ideal de colheita para os frutos de berinjela pode contribuir para diminuir perdas causadas pela antecipação ou pelo atraso na colheita (Bewley et al., 2012). Tais perdas tornam-se ainda mais significativas quando se referem ao mercado de produção de sementes híbridas, onde as sementes apresentam um alto valor de mercado. Diante o exposto, objetivou-se com esse trabalho definir o período de maturidade fisiológica das sementes e o ponto ideal para colheita de frutos visando à obtenção de sementes de berinjela com elevada qualidade fisiológica.

### Material e Métodos

Para a produção de frutos, o experimento foi conduzido no ano de 2011, durante os meses de fevereiro a maio, o experimento foi conduzido em casa de vegetação na estação experimental de hortaliças da Hortiagro Sementes Ltda., Fazenda Palmital, município de Ijaci, MG (altitude 920 m, 21°14'S e 45°00'W). O clima da região segundo a classificação climática de Köppen é Cwa (mesotérmico) com inverno seco e verão chuvoso (Álvares et al., 2013). Utilizou-se a cultivar Embu, cujas mudas foram produzidas em bandejas de isopor com 128 células, contendo substrato comercial Biomix® para hortaliças e 5 mL de solução de 2.000 ppm de sulfato de amônio por célula. Quarenta dias após semeadura, foi realizado o transplantio das mudas para a estufa.

O solo foi preparado convencionalmente e as correções foram feitas de acordo com a análise química do mesmo. O ensaio foi instalado em delineamento de blocos casualizados (DBC) com quatro repetições e cada bloco foi composto de 1 linha de 10 m de comprimento com 14 plantas, espaçadas 0,7 m.

A adubação de cobertura, assim como os demais tratos culturais foi realizada de acordo com os recomendados para a cultura (Ribeiro, Guimarães e Alvarez, 1999; Filgueira, 2013). Quando as plantas atingiram altura média de 2 m, fez-se a capação (operação que consiste na eliminação do broto terminal

das hastes, realizada exclusivamente em materiais de hábito de crescimento indeterminado) das mesmas para que cessassem o crescimento. A capação inibiu também a produção de flores, consequentemente determinando um limite para produção de frutos, visto que a planta já estava no final de ciclo (Filgueira, 2013).

Durante a fase de florescimento, as flores foram etiquetadas diariamente, considerando a antese. Foram feitas dez marcações de flores em dias diferentes da antese (período de 16 dias). Quinze dias após a última marcação fez-se a contagem da quantidade de frutos que se formaram do total das flores de cada marcação. Diante dessa contagem, escolheu-se uma única marcação que possibilitaria a coleta de todos os frutos para todos os pontos de colheita visando à extração de sementes suficientes para os testes do experimento, ou seja, escolheu-se a marcação com maior número de frutos.

Os frutos foram qualificados de acordo com o tamanho PP, P, M, G e GG, tendo os frutos de tamanho M recebido uma marcação diferenciada para que fossem eles os colhidos nos pontos de colheita, de modo a eliminar ao máximo as variações.

Foram colhidos frutos aos 40, 47, 54, 61, 68, 75 e 82 dias após a antese (DAA). Coletaram-se dois frutos de berinjela por bloco, totalizando oito frutos por ponto de colheita. As sementes foram extraídas manualmente em água corrente, sem misturar as sementes dos blocos e divididas em dois lotes: aquele em que os testes foram instalados logo após a coleta das sementes e aquele no qual as sementes passaram por processo de secagem natural à sombra, até atingir a umidade de 8%, antes de efetuar as análises, sempre mantendo a separação das sementes em relação aos blocos oriundos do campo. No laboratório, para cada teste, foram utilizadas duas repetições de cada bloco, portanto, com oito repetições e 14 tratamentos (épocas de coleta de frutos x procedimentos de secagem das sementes).

Antes da instalação dos testes, as sementes foram homogeneizadas dentro de um saco plástico, com critério de homogeneização semelhante para todos os blocos. Em seguida, as sementes foram aleatoriamente amostradas.

Em laboratório foi determinada a qualidade das sementes por meio dos testes de teor de água (%); germinação e protrusão da raiz primária com oito repetições de 50 sementes conforme as Regras para Análise de Sementes – RAS (Brasil 2009) e as contagens foram efetuadas aos 7 e 14 dias após a

semeadura. Para emergência de plântulas foram utilizadas oito repetições de 50 sementes e calculouse a porcentagem de plântulas normais aos 14 dias (Brasil, 2009); o índice de velocidade de germinação, protrusão de raiz primária e emergência de plântulas foram determinados segundo Maguire (1962).

O peso de mil sementes foi calculado por meio da pesagem de oito repetições de 100 sementes secas (8% de umidade) de cada ponto de colheita (Brasil, 2009), em balança analítica com resolução de três casas decimais.

Para determinar a matéria seca pesou-se uma quantidade conhecida de sementes secas a 8%, que foram colocadas na estufa, por 24 horas, a 70 ° C. O cálculo da porcentagem de matéria seca das sementes foi feito de acordo com a relação do peso de matéria seca final e o peso inicial das sementes com 8% de umidade.

O teste de condutividade elétrica foi conduzido no sistema de massa com oito repetições de 50 sementes com resultados expressos em µS cm<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>, de acordo com o método descrito por Panobianco e Marcos Filho (1998).

Os resultados foram submetidos à análise de variância. Para os efeitos quantitativos os dados foram ajustados a um modelo de regressão. A análise estatística foi realizada com auxílio do software SISVAR® (Ferreira, 2011).

### Resultados e Discussão

A análise de variância para umidade na semente fresca (Tabela 1) indicou que os níveis de umidade nos diferentes pontos de colheita dos frutos diferiram entre si, sendo descrita pela equação quadrática U= 203,6002 – 4,0110x + 0,0251x² (R² = 0,99). Dos 40 até 68 DAA, a redução na umidade das sementes foi acentuada, porém, a partir dos 68 até aos 82 DAA, a redução tendeu a estabiliza-se, diferindo apenas 1 a 2%. À medida que a época de colheita dos frutos para extração das sementes se distanciava da antese, estas sementes apresentaram redução do teor de água, indicando também um aumento no teor de matéria seca.

Dias et al. (2006) explicam que o teor de água continua alto nas sementes até que elas acumulem a máxima massa de matéria seca. No final do processo de maturação, as sementes dentro do fruto perderam água lentamente, até que o equilíbrio osmótico fosse alcançado, o que explica o menor teor de água das

Vilela et al.

sementes. Neste caso, a umidade das sementes extraídas de frutos colhidos aos 82 DAA, foi em torno de 40%.

Com relação à protrusão da raiz primária houve diferença significativa para contagem de sete dias (PR7) nos diferentes pontos de colheita, sendo ajustado à equação PR7= - 1316,4170 + 69, 5088x - 1,1673x² + 0, 0064x³ (R²=0,59) (Tabela 1). A protrusão da raiz primária das sementes frescas aos sete dias (PR7) foi baixa nos frutos colhidos até os 75 dias após a antese aumentando aos 82 DAA. Conforme comprovado pelo teste de umidade (Tabela 1) e pelos teores de matéria seca, peso de 1.000 sementes (Tabela 2) e condutividade elétrica das sementes secas (Figura 1C), as sementes ainda estavam muito imaturas até os 75 DAA, não devendo ser extraídas dos frutos neste período.

A partir dessa data, quando a sementes já se apresentavam maior estádio de maturação, estas passaram a protrundir raiz primária mais vigorosa, capazes de dar origem a plântulas normais. O ponto de colheita aos 82 DAA foi o que apresentou maior número de raízes primárias protrundidas.

Na contagem aos 14 dias também houve diferença estatística para porcentagem de protrusão da raiz

primária (PR14) das sementes frescas nos diferentes pontos de colheita (p<0,05), explicado pela equação PR14 = -63,5651 + 1,8202x (R²=78,98%), conforme Tabela 1. Houve incremento na porcentagem de protrusão da raiz primária a cada ponto de colheita. Todavia vale observar que, entre os dois últimos pontos, 75 e 82 DAA, o incremento em porcentagem nas médias observadas foi pequeno, apenas 1%, indicando que, a partir de 75 DAA, em termos de PR14 das sementes frescas, há indícios de estabilização até o último ponto de colheita avaliado.

O índice de velocidade de protrusão da raiz primária (IVPR) das sementes frescas diferiu entre os pontos de colheita (p<0,05), conforme Tabela 1 e Figura 1A. Consequentemente, a rápida protrusão de raízes imaturas nos pontos de colheita dos 47 e 54 DAA fez com que o IVPR nestes pontos também se apresentasse alto. Este resultado também pode estar relacionado à existência de um tegumento ainda pouco estruturado nos pontos de colheitas iniciais, além de tais pontos estarem possivelmente situados antes da descarga de ácido abscísico (ABA), fazendo com que haja uma protrusão prematura da raiz primária mal

Tabela 1. Valor estimado, segundo as equações de regressão para as variáveis da qualidade das sementes frescas (umidade, protrusão da raiz primária, germinação e emergência) em função dos dias após a antese (DAA).

Semente fresca									
DAA	Umidade	Protrusã	ío da raiz prim	nária (%)	(	Germinação (9	%)	Emergên	cia (%)
	(%)	PR7	PR14	IVPR	G7	G14	IVG	E14	IVE
40	83,32	5,85	9,24	3,05	0,25	0,78	0,08	0,00	0,00
47	70,52	36,39	21,98	8,41	1,00	-0,68	-0,04	0,00	0,00
54	60,19	40,98	34,72	10,62	1,00	3,83	0,13	0,75	0,04
61	52,32	32,77	47,46	11,32	2,75	14,33	0,61	18,25	0,96
68	46,91	24,95	60,21	12,16	0,5	30,82	1,39	16,25	0,64
75	43,96	30,68	72,95	14,79	0	53,30	2,48	17,25	0,87
82	43,47	63,13	85,69	20,84	3,5	81,77	3,87	3,75	0,15

Tabela 2. Valor estimado, segundo a equação de regressão para as variáveis da qualidade da semente seca (matéria seca, peso de 1.000 sementes, protrusão da raiz primária, germinação e emergência) em função dos dias após a antese (DAA)

						Se	mentes secas			
DAA	Matéria	Peso	Protrusã	o da raiz prim	iária (%)	G	erminação (%	Emergên	Emergência (%)	
	Seca	(g)	PR7	PR14	IVPR	G7	G14	IVG	E14	IVE
40	17,94	0,52	-	-	-	-	-	-	-	-
47	30,17	0,54	-	-	-	-	-	-	-	-
54	40,12	0,56	-	-	-	-	-	-	-	-
61	47,80	0,58	7,86	23,82	1,46	0,25	18,22	0,67	4,75	0,31
68	53,21	0,60	17,46	46,27	3,00	0,25	38,95	1,92	18,00	0,79
75	56,34	0,62	30,68	68,72	4,54	0,25	59,67	3,17	7,25	0,09
82	57,19	0,64	47,48	91,17	6,08	15,75	80,40	4,41	1,00	0,05

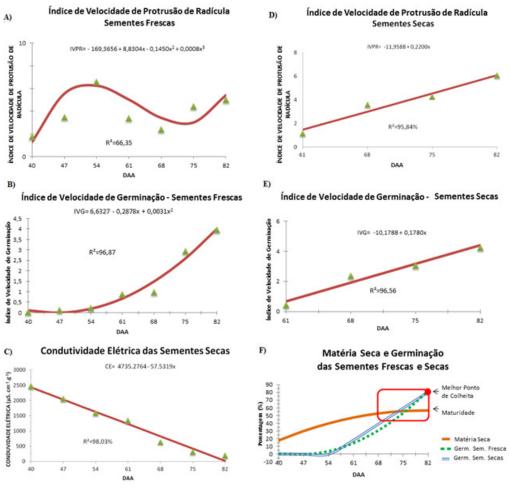


Figura 1. Gráficos de regressão do por período de colheita, em dias após a antese (DAA).

formada, culminado com um aumento brusco do IVPR nos pontos de colheita de 47 e 54 DAA (Figura 1A). No entanto, a informação de que o IVPR, aos 82 DAA, é a maior após as sementes atingirem a maturidade fisiológica indica que, neste ponto, as sementes têm potencial suficiente para protrundir rapidamente raízes primárias sadias, fato que incrementa significativamente as chances de darem origem a plântulas normais com porcentagem de protrusão radicular acima de 80%.

A diferença na porcentagem de germinação para sementes frescas entre os diferentes pontos de colheita não foi significativa (p<0,05) em relação à primeira avaliação aos sete dias (G7), conforme Tabela 1. A avaliação de germinação requer uma contagem de plântulas normais. Sendo assim, a simples protrusão radicular das sementes por si só não garante a evolução das mesmas para plântulas normais. Daí a opção por

fazer distinção quanto a avaliações de protrusão de raiz primária e germinação (Marcos Filho, 2015). Em se tratando da G7, a quantidade de plântulas normais foi baixa, as médias de cada ponto de colheita encontram-se na Tabela 1.

Em relação à última contagem do teste de germinação das sementes frescas, aos 14 dias (G14), houve diferença significativa entre os pontos de colheita (p<0,05). Na análise de regressão, a equação G14= 124,0666 - $5,5260x + 0,0611x^2$  foi a que melhor explicou a distribuição das médias com um ajuste de 94,22% (Tabela 1). A germinação das

sementes frescas foi crescente à medida que os pontos de colheitas se distanciam da antese, exceto nos dois primeiros pontos, 40 e 47 DAA, em que a germinação para ambos foi praticamente zero. O ganho mais expressivo em germinação ocorreu dos 68 aos 75 DAA, coincidindo também com o período de redução acentuada na umidade dessas sementes, assim como aumento brusco de matéria seca e massa de 1.000 sementes, o que reflete o avanço na maturidade e qualidade das sementes ao longo do desenvolvimento.

Para a maioria das espécies vegetais, o ponto de colheita depende da ocorrência da maturidade fisiológica da semente, o que, em muitos casos, coincide com a máxima acumulação de matéria seca e, quando as sementes alcançam essa fase, geralmente, seu potencial para germinação e vigor se eleva (Duarte e Carneiro, 2009). Passam et al. (2010) encontraram maiores incrementos na germinação de sementes de berinjela

Vilela et al.

no período 55-65 DAA. Segundo os autores, os baixos índices de germinação das sementes de berinjela até esse período refletem a imaturidade das mesmas.

Houve diferença significativa (p<0,05) no índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes frescas entre os pontos de colheita, conforme Tabela 1 e Figura 1B. Esse índice de velocidade ligado à germinação é um indicador importante para inferir sobre a capacidade das sementes em produzir plântulas normais o mais rápido possível, desde que sejam fornecidas as condições ideais para germinação das mesmas. A germinação rápida das sementes originando plântulas normais num curto espaço de tempo é o resultado das condições ideais fornecidas para a germinação das mesmas, agregado ao vigor da semente, definido durante a fase de cultivo e culminando na maturidade fisiológica (Marcos Filho, 2015).

Como se pode observar na Figura 1B, o IVG é tanto maior quanto se aumenta o número de DAA dos pontos de colheita. No teste de germinação houve um acréscimo acentuado no número de sementes germinadas a partir de 68 DAA. De acordo com os resultados de IVG, não só o número de sementes germinadas aumentou significativamente a partir desse período, como também a velocidade com que essas sementes passaram a germinar.

Os resultados do índice de velocidade de emergência (IVE) das sementes frescas não apresentam diferenças estatisticamente entre si (p<0,05) (Tabela 1). Dentre todos os fatores que afetam a germinação das sementes e a emergência das plântulas, o substrato e a maneira como é disposto e mantido durante o ensaio tem fundamental importância nos resultados dos testes de emergência, pois determina, dentre outros, a luminosidade, a temperatura e a disponibilidade de água e oxigênio às quais as sementes estão submetidas (Brasil 2009).

A análise de variância na matéria seca diferiu entre si (p<0,05), sendo explicado pela equação MS=-95,5440 + 3,7651x - 0,0232x² (R²= 99,45%) (Tabela 2). A curva de matéria seca é inversamente proporcional à da umidade em relação ao DAA nos pontos de colheita. Houve um incremento brusco na porcentagem de matéria seca das sementes até o ponto de colheita de 68 DAA, tendendo a uma estabilização nos próximos pontos de colheita, indicando que, nesse período, as sementes já havia atingindo a maturidade fisiológica e cessado o ganho de peso por meio da

recepção de fotoassimilados, devido ao desligamento entre semente e planta mãe. Mendonça, Luz e Garcia (2008), trabalhando com qualidade de sementes de tomate colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento, afirmam que, além da matéria seca das sementes imaturas ser menor, a desuniformidade de sementes dentro de um mesmo fruto carnoso é tanto maior quanto menor for o estágio de desenvolvimento da mesma.

A massa de 1.000 sementes é crescente entre os pontos de colheita (Tabela 2). A massa aumentou 23 % até os 68 DAA em relação ao primeiro ponto de colheita. A partir dos 68 DAA, nota-se que o incremento na massa das sementes passou a ser menor, o que indica, possivelmente, que as sementes já haviam atingido a maturidade fisiológica nesse período. Isto vai de encontro ao relato de Carvalho e Nakagawa (2000), os quais afirmam que quanto mais distante da antese for à retirada das sementes dos frutos colhidos, mais pesadas são essas sementes até a maturidade fisiológica. Miranda et al. (1992), estudando maturação de frutos de berinjela, concluíram que não houve mais diferença no ganho de peso seco entre sementes colhidas aos 50 DAA em relação às sementes colhidas aos 60 DAA.

Neste caso, o início do desenvolvimento da semente foi caracterizado pelo acúmulo relativamente lento de massa seca, pois é nesta fase que predominam a divisão e a expansão celulares, responsáveis pela constituição da estrutura adequada para receber as substâncias transferidas da planta mãe (Marcos Filho, 2015).

A condutividade elétrica indicou que as sementes secas nos diferentes pontos de colheita diferiram entre si em relação à maturidade fisiológica, conforme Figura 1C. Os valores médios obtidos da medição de condutividade elétrica das 50 sementes secas a 8%, colocadas em cada repetição, diminuíram bruscamente do primeiro (40 DAA) até o último (82 DAA) ponto de colheita. A medida que a semente amadurece, ela chega mais próximo do seu ponto máximo de vigor. Isso explica os menores valores de condutividade elétrica neste período, quando suas membranas estão com níveis máximos de organização, lixiviando menos exsudatos para o meio externo. Chen & Li (2011), estudando condutividade elétrica para sementes de berinjela, encontraram menores valores de condutividade elétrica para sementes com repouso póscolheita em relação às sementes sem repouso e menores valores de condutividade quanto mais distante da antese foram colhidas essas sementes.

Nas avaliações dos testes de protrusão de raiz primária, germinação e emergência envolvendo as sementes que já haviam passado pelo processo de secagem até 8%, nos primeiros pontos de colheita (40, 47 e 54 DAA) para todos os testes em questão, obteve-se zero nas contagens (Tabela 2). Essa informação vai exatamente ao encontro dos testes de umidade, matéria seca, peso de 1.000 sementes e condutividade elétrica, em que, notadamente, as sementes apresentaram-se imaturas, mal formadas e, principalmente, compostas por alto teor de água, indicando que a quantidade de matéria seca para formar completamente um embrião viável, absolutamente, ainda não havia sido adquirida. Outro fator que interferiu diretamente nessas avaliações zeradas é que, mesmo ainda imaturas, algumas sementes protrundiram, logo após o contato com a água utilizada para a extração das sementes dos frutos, como pode ser visto no teste PR7 para sementes frescas (Tabela 1). O mesmo ocorreu durante a extração das sementes que foram extraídas para a instalação dos testes com sementes secas. O que também corrobora o fato é que, após a protrusão radicular, para a maioria das espécies, as sementes perdem a tolerância à dessecação (Marcos Filho, 2015).

Sementes imaturas possuem mecanismos de tolerância à dessecação menos desenvolvidos que sementes mais maduras ou que já tenham atingido a maturidade fisiológica. Sendo assim, como em estatística não se comparam médias com valores zero, foram extraídas as médias dos pontos de colheita de 40, 47 e 54 DAA e fez-se o estudo estatístico para os pontos 61, 68, 75 e 82 DAA (Tabela 2). O percentual de raízes primárias com protrusão visual nos diferentes pontos de colheita apresentou diferença significativa (p<0,05), tanto na primeira contagem quanto na última contagem, sendo descrita pelas equações PR7= 76,3160 - 3.3610x + 0,0367x² (87,78%) e PR14 = -171,8107 + 3,2071x (91,72%).

O comportamento das sementes secas em relação à protrusão da raiz primária aos 7 dias foi de aumento conforme os pontos de colheita se distanciavam da antese. No entanto, aos 82 DAA, quando se deu o máximo da raiz primária protrundidas na primeira contagem, apenas cerca de 50% das raízes primária havia protrundido (Tabela 2). Na segunda contagem, aos 14 dias, o número de raiz primária protrundidas aumentou de acordo com que se distanciava da antese o ponto de colheita. Os percentuais de protrusão

radicular para sementes frescas são maiores que para sementes secas.

O índice de velocidade de protrusão da raiz primária (IVPR) das sementes secas foi semelhante ao comportamento da porcentagem de protrusão radicular, não houve protrusão nos três primeiros pontos de colheita, esse valor aumentou gradativamente após o 61 DAA, atingindo seu valor máximo aos 82 DAA (Tabela 2 e Figura 1D).

Na primeira contagem de germinação das sementes secas não houve diferença significativa, porém para segunda contagem houve diferença, explicado pela equação G14 = -162,3786 + 2,9607x (R<sup>2</sup>=88,12%) (Tabela 2). A germinação de sementes secas de berinjela comporta-se de maneira semelhante à de sementes frescas, no entanto, algumas poucas diferenças foram observadas para as variáveis da qualidade da semente seca (matéria seca, peso de 1.000 sementes, protrusão da raiz primária, germinação e emergência) em função dos dias após a antese (DAA) (Tabela 2). Bevilaqua et al. (1997) averiguaram também o efeito da secagem em semente de cenoura e atestaram que, dentre os métodos testados, nenhum deles afeta o vigor das sementes e que, embora a secagem cause uma desaceleração no metabolismo da semente, este método prepara melhor as sementes para enfrentar fatores adversos na fase de estabelecimento no campo.

O índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes secas apresentou diferença entre os DAA (Tabela 2 e Figura 1E), assim como em todas as avaliações para as sementes secas (PR7, PR14, IVPR, G7, e G14) que crescem de acordo com os dias do ponto de colheita (Tabela 2).

Lopes, Dias e Pereira (2005) encontraram correlações semelhantes para sementes de quaresmeira tendo, na determinação da maturidade fisiológica, os resultados avaliados para umidade e peso seco divergido dos resultados apresentados pelo teste de germinação. Trata-se de outro exemplo em que o máximo potencial germinativo das sementes é atingido um pouco depois da semente atingir a maturidade.

Os resultados para os testes de emergência e de índice de velocidade de emergência não forneceram dados significativos e nem estatisticamente diferentes entre si (p<0,05) (Tabela 2). Assim como para os demais testes envolvendo sementes secas, as poucas plântulas que emergiram o fizeram após o 61 DAA. Portanto,

Vilela et al.

torna-se inconsistente a correlação entre os testes de emergência e índice de velocidade de emergência com os demais testes na avaliação de germinação e do vigor para estimativa de colheita em sementes de berinjela.

Na Figura 1F, estão compiladas as informações de germinação aos 14 dias após a semeadura das sementes frescas e das sementes secas junto à matéria seca das sementes secas a 8% de umidade. A maturidade fisiológica das sementes inicia-se no ponto de colheita de 68 DAA, quando, possivelmente, ocorreu o interrompimento de transferência de fotoassimilados da planta mãe para as sementes, devido à estabilização da matéria seca a partir desse ponto.

A definição do melhor ponto de colheita baseou-se na qualidade fisiológica das mesmas, segundos os testes de germinação e vigor. A germinação para sementes frescas e secas apresentadas nas Tabelas 1 e 2 referente à última contagem do teste, e representa bem todos os testes, indicando maior germinação no ponto de colheita aos 82 DAA.

#### Conclusões

A maturidade fisiológica das sementes de berinjela Embu encontra-se no intervalo de 68 a 82 dias após a antese e o ponto de colheita ideal visando à produção de sementes foi aos 82 dias após a antese, quando as sementes apresentam maior germinação e vigor, considerando, principalmente, a capacidade de gerar plântulas normais.

### Literatura Citada

- ALVARES, C. A. et al. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. Meteorol Z 22:711-728.
- BEVILAQUA, G.A. P. et al. 1997. Efeito da embebição-secagem de sementes de cenoura no vigor e potencial armazenamento. Revista Brasileira de Agrociência 3:131-138.
- BEWLEY, J. D. et al. 2012. Physiology of Development, Germination and Dormancy. Springer Science & Business Media, 3rd Edition. 392p.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DA REFORMA AGRÁRIA. 2009. Regras para análise de sementes. Brasília: Secretaria Nacional de Agropecuária/Departamento Nacional de Defesa Vegetal. 399p.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. 2000. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4. ed. Jaboticabal, SP, FUNEP. 588p.
- CHEN, N.; LI, H. M. 2011. Cultivation and seed production of eggplant. Disponível em: <a href="http://pt.scribd.com/doc/2297037/Eggplant-Seed">http://pt.scribd.com/doc/2297037/Eggplant-Seed</a>>. Acesso em: 18 jul. 2011.
- DIAS, D. C. F. S. et al. 2006. Tomato seed quality in relation to

- fruit maturation and post-harvest storage. Seed Science and Technology 34:691-699.
- DUARTE, E. F.; CARNEIRO, I. F. 2009. Qualidade fisiológica de sementes de *Dyckia goehringi*i gross & rauh (bromeliaceae) em função do estádio de maturação dos frutos. Bioscience Journal 25:161-171.
- FERREIRA, D. F. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia 35:1039-1042.
- FILGUEIRA, F. A. R. 2013. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3 ed. Viçosa, MG, UFV. 421p.
- GONÇALVES, M. C. et al. 2006. Berinjela (*Solanum melongena* L.) mito ou realidade no combate as dislipidemias? Revista Brasileira de Farmacognosia 16(2):252-7.
- LOPES, J. C.; DIAS, P. C.; PEREIRA, M. D. 2005. Maturação fisiológica de sementes de quaresmeira. Pesquisa Agropecuária Brasileira 40:811-816.
- LOPES, K. P. et al. 2014. Salinidade na qualidade fisiológica em sementes de *Brassica oleracea* L. Semina: Ciências Agrárias 35:2251-2260.
- MAGUIRE, J. D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. Crop Science, 2:176-177.
- MARCOS FILHO, J. 2015. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Londrina, ABRATES. 659p.
- MENDONÇA, R. M.; LUZ, J. M. Q.; GARCIA, C. C. 2008. Qualidade de sementes de tomate colhidas em diferentes estádios de maturação, produzidas no sistema hidropônico e convencional. Revista Fazu 5:39-45.
- MIRANDA, Z. F. S. et al. 1992. Avaliação da qualidade de sementes de berinjela (*Solanum melongena* L.). Revista Brasileira de Sementes 14:125-129.
- NAKADA, P. G. et al. 2011. Desempenho fisiológico e bioquímico de sementes de pepino nos diferentes estádios de maturação. Revista Brasileira de Sementes 33:113-122.
- NASCIMENTO, W. M.; LIANA, B. L.; ALVARES, M. C. 2000. Maturação de sementes híbridas de berinjela. Horticultura brasileira 18:1040-1041.
- PANOBIANCO, M.; MARCOS-FILHO, J. 1998. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pimentão. Revista Brasileira de Semente 20:306-310
- PASSAM, H. C. et al. 2010. Influence of harvest time and afterripening on the seed quality of eggplant. Scientia Horticulturae 125:518-520.
- RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ, V. H. 1999 Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação. Comissão de fertilidade do solo do estado de Minas Gerais.
- SCORSATTO, M. et al. 2017. Assessment of bioactive compounds, physicochemical composition, and in vitro antioxidant activity of eggplant flour. International Journal of Cardiovascular Sciences 30:235-242.

# EFEITOS DE BIOFERTILIZANTE SOBRE O CRESCIMENTO E A BIOMASSA DO MILHO AGROECOLÓGICO NO PIAUÍ

Kleiton Rocha Saraiva<sup>1</sup>, Mario de Oliveira Rebouças Neto<sup>2</sup>, Carlos Newdmar Vieira Fernandes<sup>3</sup>, Francisco Marques Filho<sup>1</sup>, Fábio de Sousa Silva<sup>1</sup>, Jonnathan Richeds da Silva Sales<sup>4</sup>

¹Instituto Federal do Piauí – IFPI, Campus Campo Maior. Localidade Fazendinha S/N. 64.280-000. Campo Maior, Piauí, Brasil. kleiton.rocha@ifpi.edu.br; marquesmm28911@gmail.com; fabiosousasilva01@ifpi.edu.br. ²Instituto Federal do Ceará – IFCE, Campus Ubajara. R. Luís Cunha - Monte Castelo. 62350-000. Ubajara, Ceará, Brasil. agromario@gmail.com. ³Instituto Federal do Ceará – IFCE, Campus Iguatu. Estrada Iguatu - Várzea Alegre, km 5, s/n - Cajazeiras. 63500-000. Iguatu, Ceará, Brasil. newdmar@gmail.com. ⁴Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira - UNILAB, Avenida da abolição, 3 – Centro. 62790-000. Redenção, Ceará, Brasil. jnnathanagro@gmail.com

Objetivou-se analisar os efeitos de um biofertilizante bovino líquido, sobre o crescimento e a biomassa do milho variedade "BRS 4103", sob cultivo agroecológico participativo. Para tanto, o solo e o biofertilizante foram analisados física e quimicamente. O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados, com cinco tratamentos e seis repetições. Quatro tratamentos resultaram da combinação de solo + biofertilizante bovino: 50% da recomendação ótima, 75%, 100% e 125 %, e a testemunha absoluta. Analisou-se: Altura das plantas de milho; Diâmetro do caule; Produção de matéria seca da parte aérea e do sistema radicular; Produção de matéria verde da parte aérea e do sistema radicular. Os resultados foram submetidos à análise de variância. Posteriormente, quando significativos pelo teste F foram submetidos ao teste de médias de Tukey, a 1% e 5% de probabilidade. Também, foram realizadas regressões a fim de analisar as doses crescentes do biofertilizante. As plantas de milho que receberam o biofertilizante demonstraram melhor desempenho, quando comparadas às plantas que não receberam o insumo orgânico líquido; e, em geral, quanto maior a quantidade aplicada de biofertilizante bovino líquido, melhores foram os desempenhos.

Palavras-chave: insumo orgânico, fertilizante líquido, agricultura familiar.

### Effects of biofertilizer on growth and biomass of agroecological maize in Piauí,

**Brazil.** The objective of this study was to analyze the effects of a liquid bovine biofertilizer, on the growth and biomass of maize variety "BRS 4103", under participatory agroecological cultivation. For this, the soil and the biofertilizer were analyzed physically and chemically. The experimental design was completely randomized blocks, with five treatments and six replicates. Four treatments resulted from the combination of soil + bovine biofertilizer: 50% of the optimal recommendation, 75%, 100% and 125%, and the absolute control. It was analyzed: Height of corn plants; Stem diameter; Dry matter production of shoot and root system; Production of green matter of the aerial part and of the root system. The results were submitted to analysis of variance. Subsequently, when significant by the F test were submitted to Tukey's test, at 1% and 5% of probability. Also, regressions were performed to analyze the increasing doses of the biofertilizer. The corn plants that received the biofertilizer showed better performance, when compared to the plants that did not receive the liquid organic input; and, in general, the higher the applied amount of liquid bovine biofertilizer, the better the performances.

**Key words:** organic input, liquid fertilizer, family farming.

Recebido para publicação em 18 de junho de 2019. Aceito em 02 de abril de 2020. DOI: 10.21757/0103-3816.2020v32n1p67-74

68 Saraiva et al.

### Introdução

Segundo Galvão et al. (2014) a cultura do milho (*Zea mays* L.) tem grande importância econômica e social. Econômica, pelo valor nutricional de seus grãos e por seu uso intenso, nas alimentações humana e animal e como matéria-prima para a indústria. Social, por ser um alimento de baixo custo, pela viabilidade de cultivo tanto em grande quanto em pequena escala.

Sabe-se que a maioria dos solos nordestinos são fisicamente inadequados e de fertilidade baixa, incluindo os teores de matéria orgânica que são bastante baixos. Inclusive, segundo Hanisch, Fonseca e Vogt (2012) nas últimas décadas o solo tem perdido sua capacidade natural de suporte para a produção agrícola, sobretudo pela perda da matéria orgânica, bem como pela perda das condições físicas naturais, devido ao mau uso e manejo dos mesmos. Dessa forma, para manter produtividades adequadas, os produtores rurais precisam fazer uso intenso de insumos externos às propriedades, o que leva a um ciclo vicioso de compra de insumos para a produção, deixando de lado os recursos disponíveis na propriedade.

Um contraponto a esse cenário tem sido o sistema de produção de base agroecológica, que tem levado diversos produtores rurais a fazer uso de técnicas que proporcionem a manutenção ou a melhoria do potencial produtivo dos sistemas agrícolas. Diversas estratégicas têm sido incorporadas ao processo produtivo dos sistemas de base agroecológica, destacando-se, entre elas, o uso de caldas e biofertilizantes (Hanisch, Fonseca e Vogt, 2012). Inclusive pesquisas e utilização de biofertilizantes na agricultura piauiense têm acontecido, como exemplo do trabalho realizado por Machado et al. (2017).

O biofertilizante é um adubo orgânico líquido produzido em meio aeróbico ou anaeróbico a partir de uma mistura de material orgânico (esterco fresco) e água (Penteado, 2007). Em análise do potencial de uso do biofertilizante bovino na agropecuária, Matos et al. (2017) concluíram que o biofertilizante apresenta maior potencial de uso como adubo orgânico das culturas, visto que, possui menor condutividade elétrica, menor teor de sódio e todos os demais elementos químicos avaliados na pesquisa se encontram dentro dos níveis permitidos pela legislação.

Inclusive, fertilizantes orgânicos, como o biofertilizante bovino, têm sido utilizados em diversos cultivos por proporcionar aumento na produtividade de culturas como batata-doce (*Ipomoea batatas*) (Leonardo et al., 2014) e maxixe (*Cucumis anguria L.*) (Oliveira et al., 2014). Esse comportamento parece demonstrar que o uso de biofertilizante, além das vantagens nutricionais, pode ser uma boa ferramenta a ser utilizada como estratégia, durante possíveis estresses hídricos, ocasionados, principalmente, em épocas secas no semiárido nordestino.

Objetivou-se analisar os efeitos de um biofertilizante bovino líquido, sobre o crescimento e a biomassa verde e seca da parte aérea e do sistema radicular do milho variedade "BRS 4103", sob cultivo agroecológico participativo.

#### Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do IFPI – Campus Campo Maior. Este município localiza-se a uma latitude 04°49' sul e a uma longitude 42°10' oeste, a uma altitude de 125 m. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, enquadra-se no tropical subúmido (C<sub>1</sub>WA'<sub>4a'</sub>), com temperaturas entre o máximo de 35°C e o mínimo de 23°C nos meses secos.

O solo utilizado no experimento foi coletado na camada de 0-30 cm de profundidade, e analisado. Fisicamente, o solo foi classificado como Franco argilo arenoso, por possuir 18,7% de areia grossa, 45,2% de areia fina, 26,8% de argila e 9,3% de silte. Quanto aos macronutrientes os resultados foram: Ca = 0,2 cmol $_c$  dm<sup>-3</sup>; Mg = 0,2 cmol $_c$  dm<sup>-3</sup>; Al = 0,8 cmol $_c$  dm<sup>-3</sup>; K = 0,2 cmolc dm<sup>-3</sup>; P = 1,0 mg dm<sup>-3</sup>; pH = 4,6 e 1,9% de matéria orgânica. Já os teores de micronutrientes foram os seguintes: S = 9,0 mg dm<sup>-3</sup>; Na = 2,0 mg dm<sup>-3</sup>; B = 0,4 mg dm<sup>-3</sup>; Fe = 290,0 mg dm<sup>-3</sup>; Mn = 1,2 mg dm<sup>-3</sup>; Cu = 0,5 mg dm<sup>-3</sup> e Zn = 1,0 mg dm<sup>-3</sup>.

O biofertilizante bovino foi preparado a partir de uma mistura de partes iguais de esterco fresco bovino e água não salina (CEa = 0,7 dS m<sup>-1</sup>) sob fermentação anaeróbia, durante 30 dias, em recipiente plástico. Para se obter o sistema anaeróbio, a mistura foi colocada em uma bombona plástica de 200 L deixando-se um espaço vazio de 15 a 20 cm no seu interior e fechada hermeticamente. Na tampa foi adaptada uma mangueira com a outra extremidade mergulhada num recipiente com água na altura de 20 cm, para a saída de gases (Penteado, 2007).

A composição química obtida da matéria seca do biofertilizante bovino líquido foi a seguinte: N = 0.53 %; P = 0.25 %; K = 640.0 ppm; Ca = 147.0 ppm; Mg = 178.0 ppm; S = 45.0 ppm; Fe = 135.0 ppm; Mn = 4.0 ppm; Cu = 2.0 ppm; Zn = 8.0 ppm; B = 15.0 ppm; Cu = 2.0 p

A partir do resultado dessa análise e da recomendação literária, quanto à necessidade de nutrientes para o crescimento ótimo do milho variedade "BRS 4103" foram determinadas, em volume, as quantidades a serem aplicadas do biofertilizante bovino líquido. Ademais, a quantidade a ser aplicada em cada tratamento orgânico, levou em conta as porcentagens pré-determinadas para este experimento (50%, 75%, 100% e 125%).

Foi usado o milho como planta indicadora, sendo escolhida a variedade "BRS 4103", pois segundo Guimarães et al. (2007) a mesma apresenta bom potencial de produção, ampla adaptação e estabilidade de produção, ciclo precoce, baixa altura de planta e espiga, baixa porcentagem de plantas acamadas e quebradas, espigas bem empalhadas e sadias e uniformidade de altura de plantas e espiga. A "BRS 4103" apresenta bom potencial de adoção para agricultura familiar.

O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados, com cinco tratamentos e seis repetições, totalizando 30 unidades experimentais. Após serem conhecidas as características nutricionais do solo e do biofertilizante a ser utilizado no experimento, quatro tratamentos resultaram da combinação de solo + biofertilizante bovino (BB), aplicados em quatro níveis distintos: 50% da recomendação ótima, 75%, 100% (porcentagem baseada na necessidade de nutrientes para o crescimento ótimo do milho) e 125 %, que serão acrescidos à água de irrigação, e aplicados a partir do desbaste; e 1 tratamento adicional que consistiu na testemunha absoluta. Após o resultado da análise do solo, todas as unidades experimentais receberam calcário dolomítico (5g por vaso), 30 dias antes da semeadura.

Foram utilizados vasos plásticos, com capacidade para 8 litros. Por ocasião do plantio, foram semeadas 3 sementes da variedade "BRS 4103" por vaso, a uma profundidade de 3 a 5cm. Após a emergência das duas primeiras folhas, ocorreu o desbaste, mantendo-se em

cada vaso 2 plantas de milho, conservando-se as que apresentavam o melhor desenvolvimento.

A germinação ou emergência das plantas, referidas neste trabalho foi considerada quando os primeiros sinais do coleóptilo do milho surgirem à superfície do solo. Esta ocorrência foi tomada como data referencial (dia zero) para contagem dos dias e registros dos eventos biológicos das plantas. Para as análises das variáveis, as plantas foram investigadas até 70 dias após a emergência, quando estavam em processo fisiológico de amadurecimento.

Foram avaliados: a altura das plantas de milho, medida com trena métrica; diâmetro do caule, medido com o auxílio de um paquímetro digital; produção de matéria seca da parte aérea: determinada por pesagem da parte aérea das plantas, secas a 65°C em estufa com circulação de ar forçada, até atingirem peso constante; produção de matéria verde da parte aérea: determinada por pesagem da parte aérea, após o corte; produção de matéria seca do sistema radicular será determinada por pesagem do sistema radicular das plantas, secas a 65°C em estufa com circulação de ar forçada, até atingirem peso constante; e, produção de matéria verde do sistema radicular: determinada por pesagem do sistema radicular: determinada por pesagem do sistema radicular; após a retirada do vaso.

Os dados resultantes das características referentes à biomassa verde e seca foram submetidos à análise de variância (Anova). Posteriormente, quando significativos pelo teste F, os dados foram submetidos ao teste de médias de Tukey, a 1% (\*\*) e 5% (\*) de probabilidade, para a comparação das médias. Também, foram realizadas regressões a fim de analisar as doses crescentes do biofertilizante, nos tratamentos. As análises foram realizadas com o programa computacional ASSISTAT 7.7 BETA (Silva & Azevedo, 2016).

### Resultados e Discussão

Na Tabela 1 encontram-se os resultados estatísticos, onde estão apresentadas as análises de variância das características de desenvolvimento do milho (altura de plantas, diâmetro do caule, massa verde da parte aérea, massa verde do sistema radicular, massa seca da parte aérea e massa seca do sistema radicular).

Verifica-se que houve influência significativa das concentrações de biofertilizante bovino sobre todas as variáveis analisadas. A partir da análise de regressão 70 Saraiva et al.

Tabela 1 - Resumo da análise de variância e médias para a altura da planta (AP), diâmetro do caule (DC), massa verde da parte aérea (MVPA), massa verde do sistema radicular (MVSR), matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria seca do sistema radicular (MSSR) em plantas de milho em função de diferentes concentrações do biofertilizante bovino líquido

		Quadrado Médio					
FV	GL	AP	DC	MVPA	MVSR	MSPA	MSSR
Tratamentos	4	304,533**	8,056**	118,258**	138,408**	19,833*	10,401**
Resíduo	25	59,366	0,705	24,368	5,808	7,146	1,180
Total	29	-	-	-	-	-	-
CV (%)	-	20,66	7,88	38,92	25,96	53,47	31,74

FV= Fonte de variação; GL = Grau de liberdade; CV= Coeficiente de variação; \*\*, \*= Significativo a 1% e 5%, respectivamente.

verificou-se que a variável altura de plantas – AP, em função das concentrações de biofertilizante bovino se ajustou em um modelo polinomial quadrático com R<sup>2</sup> de 0,82 (Figura 1).

Ao analisar a Figura 1, verifica-se a influência positiva do biofertilizante sobre a altura das plantas de milho, pois as plantas que não receberam biofertilizantes, alcançaram menores alturas, quando comparadas às demais que receberam diferentes dosagens. Pessuti et al. (2015) pesquisando os efeitos de diferentes doses de biofertilizante na cultura da soja, também observaram resultados semelhantes a desse estudo. Da mesma forma Sousa et al. (2014) e Weckner et al. (2018) concluíram em suas análises que a presença do biofertilizante bovino proporciona a maior altura das plantas de gergelim e pimenta de cheiro, respectivamente.

Entre os tratamentos que receberam o insumo orgânico, as plantas que receberam as maiores dosagens do biofertilizante (125%) alcançaram maiores alturas, quando comparadas às demais plantas de milho, que receberam menores dosagens (iguais

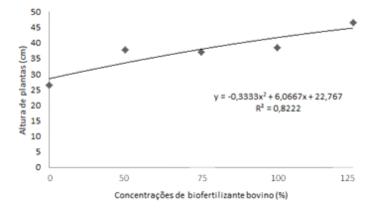


Figura 1 - Altura de plantas sob diferentes concentrações de biofertilizante bovino líquido.

estatisticamente). Foi possível observar que há uma relação direta entre o teor de biofertilizante aplicado e a altura da planta. Corroborando, Sousa et al. (2013) estudando o crescimento da cultura do pinhão-manso sob fertirrigação com biofertilizante bovino, constataram que esse insumo orgânico estimula a altura e o diâmetro do caule.

Em função das concentrações de biofertilizante bovino, para a variável diâmetro do caule – DC, a equação gerada a partir da análise de regressão se ajustou em um modelo polinomial quadrático com R<sup>2</sup> de 0,62 (Figura 2).

Em relação ao diâmetro do caule, não houve diferença estatística entre os tratamentos que receberam doses do biofertilizante, mas as plantas de milho desses tratamentos demonstraram maiores diâmetros, quando comparadas às plantas de milho que não receberam biofertilizante. É notório que com a presença de compostos orgânicos no solo, disponíveis para absorção da planta, proporcionam maior vigor das plantas, inclusive no que se trata de aspectos relacionados ao crescimento, como exemplo do diâmetro.

Inclusive, Sousa et al. (2013) avaliando diferentes concentrações de biofertilizante bovino, verificaram que o insumo orgânico aumentou linearmente o diâmetro do caule de plantas de pinhão-manso. Ademais, Martins et al. (2015) ao verificarem o efeito do biofertilizante no desempenho produtivo do feijão, concluíram que o biofertilizante pode substituir o adubo mineral na produção de feijão comum.

A partir da análise de regressão verificouse que a massa verde da parte aérea – MVPA, em função das concentrações de biofertilizante bovino se ajustou em um modelo polinomial quadrático com R<sup>2</sup> de 0,85 (Figura 3).

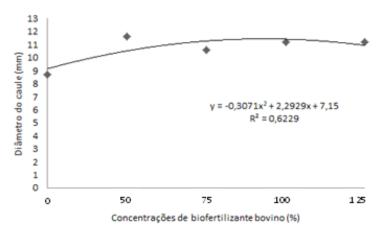


Figura 2 - Diâmetro do caule sob diferentes concentrações de biofertilizante bovino líquido.

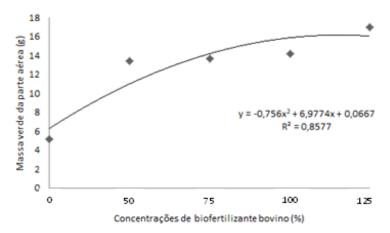


Figura 3 - Massa verde da parte aérea sob diferentes concentrações de biofertilizante bovino líquido.

Para essa variável, constatou-se que não houve diferença estatística entre os tratamentos que resultaram nos maiores valores de MVPA (75%, 100% e 125% de biofertilizante). Já as plantas de milho que receberam 50% de biofertilizante, demonstraram menores valores de MVPA, quando comparadas às que receberam maiores dosagens. Todavia, todos os tratamentos com biofertilizante resultaram, estatisticamente, em maiores valores de MVPA, em comparação ao tratamento com ausência de biofertilizante. Esse comportamento pode ser explicado pelo fato, já conhecido, de o insumo orgânico possuir diversas características beneficiadoras para o ideal desenvolvimento da planta, pois segundo Cavalcante et al. (2010) além dos efeitos promovidos na estruturação física do solo, o esterco bovino líquido aplicado na

superfície do substrato forma uma camada de impedimento às perdas elevadas de água por evaporação, o que possibilita às células vegetais permanecerem túrgidas por mais tempo em relação às plantas que não receberam o insumo.

Também torna-se justificável o fato de as plantas de milho que não receberam biofertilizante terem demonstrado menores registros de MVPA, pois para que a planta produza biomassa, a mesma deve estar bem nutrida, para que suas funções fisiológicas funcionem a contento, principalmente a fotossíntese. Para Epstein e Bloom (2006) a ausência de nutrientes essenciais às plantas causa estresse nutricional, podendo antecipar a senescência das folhas, prejudicar a absorção de CO<sub>2</sub>, ocasionando o fechamento dos estômatos no intuito de diminuir a transpiração e, consequentemente, afetar as taxas fotossintéticas.

A partir da Figura 4, após a análise de regressão verificou-se que a massa verde do sistema radicular – MVSR, em função das concentrações de biofertilizante bovino se ajustou em um modelo polinomial quadrático com R<sup>2</sup> de 0,98.

Para essa variável, todos os tratamentos diferiram estatisticamente entre si. Todavia, as plantas de milho que receberam as maiores dosagens de biofertilizante (125%), demonstraram maiores números de MVSR.

Houve uma relação estatística direta e positiva, quanto à dosagem aplicada de biofertilizante e a MVSR resultante, pois os maiores registros de MVSR verificados seguiram a seguinte ordem decrescente: 125% de bio; 100% de bio; 75% de bio; 50% de bio; e, tratamento sem biofertilizante, respectivamente.

Como explicitado anteriormente, para que as plantas desenvolvam e cresçam, as mesmas necessitam de nutrição adequada durante seu ciclo. Para tanto, o biofertilizante líquido torna-se bastante vantajoso, pois além de diversas vantagens físicas e químicas, esse insumo fica mais facilmente disponível às plantas, devido ao seu estado líquido e mineralizado. Pois Maghanaki et al. (2013) explicam que o biofertilizante líquido é absorvido com maior facilidade pelo solo do que o sólido, pois este penetra diretamente na raiz da

72 Saraiva et al.

planta, sendo que o sólido necessita de água da chuva ou irrigação para dissolver-se e fornecer os nutrientes necessários à planta.

Em função das concentrações de biofertilizante bovino, para a massa seca da parte aérea – MSPA, a equação gerada a partir da análise de regressão se ajustou em um modelo polinomial quadrático com R<sup>2</sup> de 0,70 (Figura 5).

Para a variável massa seca da parte aérea – MSPA verificou-se efeito significativo das aplicações de biofertilizante na MSPA das plantas de milho. Não houve diferença estatística entre os tratamentos que receberam doses de biofertilizante, mas as plantas desses tratamentos demonstraram maiores registros de MSPA quando comparadas às plantas que não receberam o insumo orgânico. Avaliando a cultura milho sob diferentes frequências de biofertilizante, Rodrigues et al. (2019) verificaram que a aplicação de biofertilizante afeta significativamente a produção de matéria seca da folha e da raiz.

Ao longo do crescimento da planta do milho foi possível observar a diferença positiva, no desenvolvimento das plantas que receberam biofertilizante, em relação ao milho que não recebeu insumo orgânico, pois pela possível desnutrição dessas, houve um prejuízo na produção de biomassa. Também, Silva et al. (2011) estudando a MSPA em plantas de feijãode-corda em solo com concentração de 50% de biofertilizante bovino, obtiveram uma maior MSPA em relação às plantas que não receberam o insumo orgânico. Corroborando, Dantas et al. (2014), investigando os efeitos de diferentes doses de biofertilizante bovino na produção de mudas de aceroleira, concluíram que a adubação orgânica com biofertilizante, independentemente dos substratos utilizados, influencia positivamente o crescimento e acúmulo de matéria seca.

A partir da análise de regressão verificouse que a massa seca do sistema radicular – MSSR, em função das concentrações de biofertilizante bovino se ajustou em um modelo polinomial quadrático com R<sup>2</sup> de 0,79 (Figura 6).

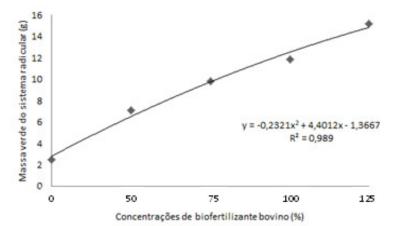


Figura 4 - Massa verde do sistema radicular sob diferentes concentrações de biofertilizante bovino líquido.

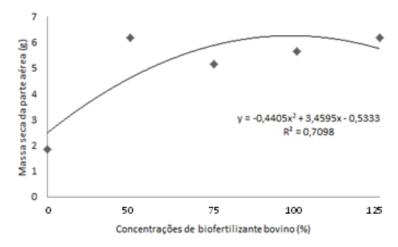


Figura 5 - Massa seca da parte aérea sob diferentes concentrações de biofertilizante bovino líquido.

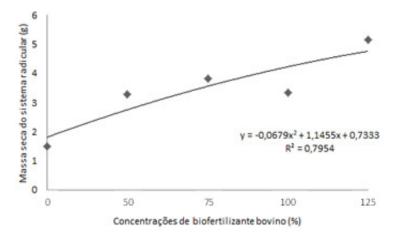


Figura 6 - Massa seca do sistema radicular sob diferentes concentrações de biofertilizante bovino líquido.

Para a variável MSSR, todos os tratamentos foram diferentes estatisticamente. Porém, as plantas de milho que receberam 125% de biofertilizante demonstraram maiores resultados de MSSR. Em seguida, os tratamentos que receberam 100% e 75% de biofertilizante bovino líquido; e, dentre as plantas que receberam dosagens de bio, as que resultaram que menores valores de MSSR foram as pertencentes ao tratamento 2 (50% de bio). Em experimento com aplicações de diferentes doses de biofertilizante em milho, Rebouças Neto et al. (2016) verificaram comportamento semelhante. Corroborando o supracitado, Rodrigues (2014) ao investigar o efeito das dosagens de biofertilizante nas plântulas de milho, verificou que a aplicação de biofertilizante foi o fator promotor no aumento da matéria seca da raiz do milho aos 15 dias após a semeadura.

Todavia, assim como o verificado em todas as variáveis analisadas, quando comparados às plantas que não receberam biofertilizante, os tratamentos que receberam o insumo orgânico líquido geraram melhores resultados quanto às variáveis representativas do crescimento e desenvolvimento das plantas de milho, comprovando influência positiva sobre os aspectos analisados no experimento. Esses resultados positivos ocorrem em razão do efeito do biofertilizante sobre a fisiologia das plantas, elevando as taxas de fotossíntese, transpiração e a condutância estomática, bem como na nutrição mineral das plantas (Silva et al., 2011).

### Conclusões

Em resposta conclusiva, as duas hipóteses seguintes foram aceitas, pois quanto às variáveis analisadas, as plantas de milho que receberam o biofertilizante demonstraram melhor desempenho, quando comparadas às plantas que não receberam o insumo orgânico líquido; ademais, em geral, quanto maior a quantidade aplicada de biofertilizante bovino líquido, melhores foram os desempenhos.

# Literatura Citada

CAVALCANTE, L. F. et al. 2010. Água salina e esterco bovino líquido na formação de mudas de goiabeira cultivar paluma. Revista Brasileira de Fruticultura 32(1):251-261.

- DANTAS, K. A. et al. 2014. Substratos e doses de biofertilizante bovino na produção de mudas de aceroleira. Revista Verde (Brasil) 9(1):157-162.
- EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. 2006. Nutrição mineral de plantas. Londrina, PR, Planta. 401p.
- GALVÃO, J. C. C. et al. 2014. Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho. Revista Ceres (Supl.) 61:819-828.
- GUIMARÃES, P. E. O. et al. 2007. Variedade de milho BRS 4103. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG. Comunicado Técnico, n.153. 9p.
- HANISCH, A. L.; FONSECA, J. A.; VOGT, G. A. 2012. Adubação do milho em um sistema de produção de base agroecológica: desempenho da cultura e fertilidade do solo. Revista Brasileira de Agroecologia 7(1):176-186.
- LEONARDO, F. D. A. P. et al. 2014. Rendimento da batata-doce adubada com nitrogênio e esterco bovino. Revista Caatinga 27(2):18-23.
- MACHADO, M. S. et al. 2017. Utilização de Compostagem e biofertilizante como práticas agroecológicas para estudantes do Curso Técnico em Agricultura: relato de experiência realizado na Unidade Experimental em Agroecologia do IFPI. In: Congresso Latinoamericano de Agroecologia, 6. Brasília, DF. Anais.
- MAGHANAKI, M. et al. 2013. Potential of biogas production in Iran. Bioresource Technology 101:1153-1158.
- MARTINS, J. D. L. et al. 2015. Esterco bovino, biofertilizante, inoculante e combinações no desempenho produtivo do feijão comum. Revista Agro@mbiente (online) 9(4):369-376.
- MATOS, C. F. et al. 2017. Avaliação do potencial de uso de biofertilizante de esterco bovino resultante do sistema de manejo orgânico e convencional da produção de leite. Revista Virtual de Química 9(5).
- OLIVEIRA, A. P. de, et al. 2014. Rendimento de maxixe em solo arenoso em função de doses de esterco bovino e biofertilizante. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental 18(11):1130-1135.

74 Saraiva et al.

PENTEADO, S. R. 2007. Adubação Orgânica: Compostos orgânicos e biofertilizantes. 2. ed. Campinas, SP. 162 p.

- PESSUTI, C. A. A. et al. 2015. Diferentes doses de biofertilizante proveniente da digestão anaeróbia de efluente de processamento de mandioca no cultivo de soja. Revista Gestão e Sustentabilidade Ambiental (Brasil) número especial: 556-564.
- REBOUÇAS NETO, R. O. et al. 2016. Crescimento inicial do milho sob diferentes concentrações de biofertilizante bovino. Cadernos Cajuína 1(3):4-14.
- RODRIGUES, J. S. 2014. Frequência e doses de biofertilizante na fertirrigação da cultura do milho (*zea mays* L.) no Vale do São Francisco. Dissertação de Mestrado. Juazeiro-BA. 72p.
- RODRIGUES, J. S. et al. 2019. Growth and nutritional status of maize plants in response to different doses and application frequencies of biofertilizer. Científica (Brasil) 47(1):123-131.

- SILVA, F. de A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. 2016. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. African Journal Agricultural Research 11(39):3733-3740.
- SILVA, F. L. B. et al. 2011. Interação entre salinidade e biofertilizante bovino na cultura do feijão-decorda. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental 15(4):383-389.
- SOUSA, G. G. et al. 2013. Fertirrigação com biofertilizante bovino: Efeitos no crescimento, trocas gasosas e na produtividade do pinhão-manso. Revista Brasileira de Ciências Agrárias 8(3):503-509.
- SOUSA, G. G. et al. 2014. Lâminas de irrigação para a cultura do gergelim com biofertilizante bovino. Magistra (Brasil) 26(3):347-356.
- WECKNER, F. C. et al. 2018. Efeito da aplicação de biofertilizantes à base de esterco bovino fresco no crescimento de pimenta de cheiro (*Capsicum Chinense* Jacq.). Revista da Universidade Vale do Rio Verde 16(1):1-9.

#### SCIENTIFIC NOTE

### INHIBITORY ACTIVITY OF YEASTS AGAINST SOYBEAN PATHOGENIC FUNGI

Nelson Menolli Junior<sup>1,2</sup>, Viviani Vieira Marques<sup>3</sup>, Luzia Doretto Paccola-Meirelles<sup>4</sup>, Gisele Maria de Andrade-Nóbrega<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de São Paulo (IFSP), Câmpus São Paulo, Departamento de Ciências da Natureza e Matemática (DCM), Subárea de Biologia (SAB), Rua Pedro Vicente 625, 01109-010, São Paulo, SP, Brasil. menollijr@yahoo.com.br. <sup>2</sup>Instituto de Botanica (IBt), Núcleo de Pesquisa em Micologia (NPM). Av. Miguel Stefano, 3687, Agua Funda, 04301-012, São Paulo, SP, Brasil. <sup>3</sup>Fundecitrus, Fundo de Defesa da Citricultura, Araraquara, SP, Brasil. viviani.marques@fundecitrus.com.br. <sup>4</sup>Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Biologia Geral, Londrina, PR, Brasil. paccola@uel.br, giselenobrega@uel.br

The objective of this study was to evaluate the inhibitory activity of yeasts (Saccharomyces cerevisiae and Pichia fermentans) against soybean pathogenic fungi. The inhibitory activity of Pichia fermentans was previously confirmed against Candida spp. and a sensitive strain of S. cerevisiae to confirm its killer activity. Simple competition plate bioassays were performed using five soybean pathogenic fungi (Alternaria sp., Cercospora kikuchi, Colletotrichum dematium var. truncata, Fusarium oxysporum, and Macrophomina sp.) with a killer isolate of P. fermentans and a non-killer strain of S. cerevisiae. The yeasts tested inhibited 52 to 65% the growth of at least Alternaria sp., Cercospora kikuchi and Colletotrichum dematium var. truncata. This is the first record of the inhibition of Cercospora kikuchi and Colletotrichum dematium var. truncata using yeast strains.

**Key words:** Biocontrol, Glycine max, killer yeasts, Pichia fermentans, Saccharomyces cerevisiae.

Atividade inibitória de leveduras contra fungos patogênicos da soja. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade inibitória de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae* e *Pichia fermentans*) contra fungos patogênicos da soja. A atividade inibitória de *Pichia fermentans* foi primeiramente confirmada contra linhagens de *Candida* spp. e uma linhagem sensível de *S. cerevisiae* para confirmar sua atividade *killer*. Um bioensaio de competição simples em placa foi conduzido usando cinco fungos patogênicos da soja (*Alternaria* sp., *Cercospora kikuchi* and *Colletotrichum dematium* var. *truncata*, *Fusarium oxysporum* e *Macrophomina* sp.) com um isolado *killer* de *P. fermentans* e um isolado não-*killer* de *S. cerevisiae*. As leveduras testadas inibiram de 52 a 65% o crescimento de pelo menos *Alternaria* sp., *Cercospora kikuchi* e *Colletotrichum dematium* var. *truncata*. Esse é o primeiro registro da inibição de *Cercospora kikuchi* e *Colletotrichum dematium* var. *truncata* usando linhagens de leveduras.

Palavras-chave: Biocontrole, Glycine max, leveduras killer, Pichia fermentans, Saccharomyces cerevisiae.

Recebido para publicação em 30 de outubro de 2018. Aceito em 02 de abril de 2020. DOI: 10.21757/0103-3816.2020v32n1p75-80

Yeasts and their toxins have had several applications for the fungal control in areas of medical (Walker, McLeod and Hodgson, 1995; Conti et al., 2000, 2002; Guyard et al., 2002; Buzzini et al., 2004; Magliani et al., 2014; Travassos et al., 2004) and agronomical sciences (Polonelli and Morace, 1986; Walker, McLeod and Hodgson, 1995; Santos and Marquina, 2004), as well as in the food and fermentation industries for the control of fungal contaminating during the production of wine (Boone et al., 1990; Hara, Imura and Otsuka, 1990; Musmanno, Di Maggio and Coratza, 1999), beer (Young, 1981) and bread (Bortol et al., 1986), or also for biocontrol of plant diseases in field (El-Tarabily, 2004).

A wide range of antimicrobial substances or hydrolytic enzymes has been characterized from yeasts, so that the inhibition of other microorganisms by yeasts could be related to a variety of metabolic products (Polonelli and Morace, 1986; Masih and Paul, 2002; Urquhart and Punja, 2002) and also due to simple competition for space and nutrients (Valdebenito-Sanhueza, 2000). The killer phenomenon represents one of these various mechanisms and corresponds to the ability of certain yeast strains to inhibit by exotoxins the growth of sensitive strains (Bevan and Makower, 1963) and to control antagonistic microorganisms in the same environment, generating a selective advantage (Gill, 1974).

The Brazilian soybean production has a global importance because since 2013 it is the world's largest supplier of soybean and their exports represent 26% of

agricultural export earnings of the country (OECD-FAO, 2015). Estimative data also suggest the culture of oilseeds, mainly soybean, will continue to dominate the land use in Brazil, taking up almost half of the additional crop area until 2024 (OECD-FAO, 2015).

Among the many factors could decrease the soybean production and affect the culture are the infections caused by various phytopathogenic fungi that can colonize and infect seeds, pods, or

flowers prior to harvesting (Roy, Baird and Abney, 2001), including species of *Alternaria*, *Aspergillus*, *Boeremia*, *Cercospora*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Diaporthe*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Gibberella*, *Hannaella*, *Macrophomina*, *Penicillium*, *Periconia*, and *Verticillium* (Peshney, Mahant and Ninawe, 1994; Villarroel et al., 2004; Navi, Rajasab and Yang, 2016; Liu et al., 2017).

Thus, the objective of this study was to evaluate the activity of two yeast strains (*Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia fermentans*) in the inhibition of five phytopathogenic fungi with importance for the soybean cultivation (*Alternaria* sp., *Cercospora kikuchi*, Colletotrichum *dematium* var. *truncata*, *Fusarium oxysporum* and *Macrophomina* sp.). The reference strain *S. cerevisiae* NCYC1006 and a wild isolate of *P. fermentans* Y11-E were tested. *Pichia fermentans* Y11-E was previously studied regarding its inhibitory activity against *Trichoderma* sp. from mushroom cultivation (Marques-Marçal, 2005).

The killer activity of *P. fermentans* Y11-E was previously confirmed according to the protocol described by Rosini (1983). An additional pilot experiment was performed using *P. fermentans* Y11-E against *Candida* species according to the methods carried by Polonelli et al. (1983) and Buzzini and Martini (2001) and with the killer strain *S. cerevisiae* NCYC738 for comparison.

The yeast strains utilized as inhibitors and the other fungal strains tested for growth susceptibility or as control are presented in Table 1.

Table 1 - Fungal strains used for inhibitory tests, including the pilote testing

Table 1 - Pungai strains used for inhibitory tests, including the phote testing		
Fungal species tested regarding the inhibition by yeasts		
Candida strains (Pilot testing)	Origin	
C. albicans Mg06 C. lusitaniae 80D C. tropicalis 32D	Laboratory of Molecular Biology of Microorganisms, State University of Londrina (Londrina, PR, Brazil)	
Soybean pathogenic fungi (Main testing)	Origin	
Alternaria sp. Cercospora kikuchi Colletotrichum dematium var. truncata Fusarium oxysporum Macrophomina sp.	Laboratory of Phytopathology, Embrapa Soybean (Londrina, PR, Brazil)	

Yeast strains tested as inhibitors	
Non-killer strain (susceptible to killer toxin)	Origin
Saccharomyces cerevisiae NCYC1006	André Tosello Foundation (Campinas, SP, Brazil)
Killer strains	Origin
Saccharomyces cerevisiae NCYC738 Pichia fermentans Y11-E	André Tosello Foundation (Campinas, SP, Brazil) Laboratory of Molecular Biology of Microorganisms, State University of Londrina (Londrina, PR, Brazil)

For the inhibitory test against soybean pathogenic fungi, simple competition plate bioassays were performed using PDA (Potato Dextrose Agar) medium with the killer isolate P. fermentans Y11-E and the non-killer strain S. cerevisiae NCYC1006 as potential inhibitors. On one half of the Petri plate, a small mycelium disc of the phytopathogen was placed whilst on the other half of the plate the both yeast strains were streaked in separated treatments. All plates were incubated at 25°C for 14 days. The assessment was carried out in three repetitions and the inhibition was considered positive when clear zones of inhibitory were apparent between the yeast colony and the filamentous fungal biomass. The percentage of inhibition was calculated by comparing the radial mycelium growth of the phytopathogens when in contact with the yeasts and based on the control plates that lacked yeast inoculum.

In the pilot experiment we verified that the three *Candida* strains had their growth inhibited from 80 to 90% by the action of both killer yeasts, with values of inhibition lower and significantly different (two-way ANOVA, F = 7.7020 > 3.2389, p < 0.05; Tukey-Kramer test p < 0.05) from those verified to the sensitive strain *S. cerevisiae* NCYC1006, which was inhibited from 96 to 100% by *S. cerevisiae* NCYC738

S. cerevisiae (NCYC738)

P. fermentans (Y11-E)

100

75

100

25

25

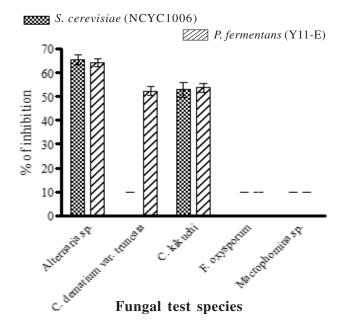
Yeast test strain

**Figure 1** - Inhibition of *S. cerevisiae* NCYC1006 (control) and *Candida* species by the killer strains *S. cerevisiae* NCYC 738 and *P. fermentans* Y11-E.

and *P. fermentans* Y11-E, respectively (Figure 1). No significative difference of inhibition was verified by the action of the same killer yeast among different *Candida* strains (Tukey-Kramer test p < 0.05). The inhibition of each *Candida* strains was not significantly different in function of the killer strain tested (two-way ANOVA, F = 0.9532 < 4.4940, p < 0.05).

On the main testing using yeasts against soybean pathogenic fungi, the yeasts tested inhibited 52 to 65% the growth of at least *Alternaria* sp., *Cercospora kikuchi* and *Colletotrichum dematium* var. *truncata* (Figure 2). The inhibition of each phytopathogen was not significantly different (T test, p < 0.05) regarding the yeast tested, except for *C. dematium* var. *truncata*, which was inhibited only by *P. fermentans* Y11-E. Among the three phytopathogens inhibited by the yeast strains, *Alternaria* sp. was the most susceptible to the inhibitory activity, with inhibition values significantly higher (T test, p < 0.05; one-way ANOVA, F = 13.26, p < 0.01) than those verified for *C. dematium* var. *truncata* (Tukey-Kramer test, p < 0.05) and *C. kikuchi* (Tukey-Kramer test, p < 0.01).

In the competition plate bioassays including *Alternaria* sp. and *Cercospora kikuchi* it was possible to observe a zone of inhibition between the yeasts and



**Figure 2** - Inhibition of soybean pathogenic fungi by the yeast strains *S. cerevisiae* (NCYC1006) and *P. fermentans* Y11-E. (-) negative inhibition.

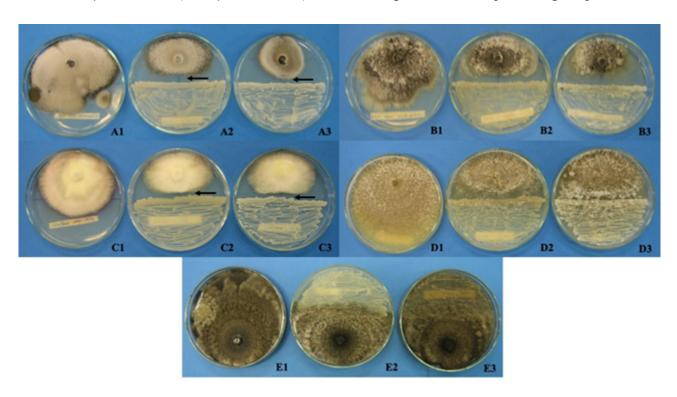
the pathogenic fungi (Figure 3), which could be an indicative of inhibition by antibiosis. However, different action modes could be occurring because living cells were used to demonstrate this inhibitory activity and the non-killer strain *S. cerevisiae* NCYC1006 also have had inhibitory activity under two of the five soybean pathogenic fungi tested. In the inhibition of *Colletotrichum dematium* var. *truncata* by *P. fermentans* Y11-E it was not observed a zone of inhibition and the mycelium of the phytopathogenic fungi grew weakly until to the limit of contact with the yeasts, most likely representing a kind of competition for space between both fungal species.

Although *S. cerevisiae* NCYC1006 has been described as sensitive to the killer toxin, variations in external factors such as temperature, nutritional conditions and mainly pH could affect the expression of the killer toxins or the sensitivity to the strains exposed to the factor (Polonelli et al., 1983). Furthermore, the

inhibition of phytopathogens by a non-killer strain most likely is not because the killer toxins but to a variety of different metabolic products that have antagonistic activity on the growth of other fungi, as suggested by Polonelli and Morace (1986), or also by competition for space and nutrients between the fungal species, which has been the most common investigated way for biocontrol (Valdebenito-Sanhueza, 2000).

The same range of mechanisms could be applied for the inhibition by the killer isolate *P. fermentans* Y11-E, because, in this method, living cells were used to demonstrate the inhibitory activity. However, the applicability of this method was previously demonstrated by Walker, McLeod and Hodgson (1995) that showed the activity of *S. cerevisiae* killer strains and other *Pichia* yeasts against phytopathogenic fungi with activity varying up to 100 % inhibition in some cases.

The activity of yeast and its toxins in the control of microorganisms could represent a great potential for



**Figure 3** – Competition plate bioassays in PDA (Potato Dextrose Agar) medium on day 14 of incubation at 25°C. Black arrows indicate the zone of inhibition between the yeast and the pathogenic fungi. A1. *Alternaria* sp. (control). A2. *Alternaria* sp. and *P. fermentans* Y11-E. A3. *Alternaria* sp. and *S. cerevisiae* NCYC1006. B1. *Colletotrichum dematium* var. *truncata* (control). B2. *C. dematium* var. *truncata* and *P. fermentans* Y11-E. B3. *C. dematium* var. *truncata* and *S. cerevisiae* NCYC1006. C1. *Cercospora kikuchi* (control). C2. *C. kikuchi* and *P. fermentans* Y11-E. C3. *C. kikuchi* and *S. cerevisiae* NCYC1006. D1. *Fusarium oxysporum* (control). D2. *F. oxysporum* and *P. fermentans* Y11-E. D3. *F. oxysporum* and *S. cerevisiae* NCYC1006. E1. *Macrophomina* sp. (control). E2. *Macrophomina* sp. and *P. fermentans* Y11-E. E3. *Macrophomina* sp. and *S. cerevisiae* NCYC1006.

use as a natural antimycotic in the control of plant fungal infections as showed by many authors (Walker, McLeod and Hodgson 1995; Cabral et al., 2009; Rosa-Magri, Tauk-Tornisielo and Ceccato-Antonini, 2011; Mekbib, Thierry and Regnier, 2011; Portes et al., 2013).

The use of *Pichia* strains as promisor biocontrol agents has been frequently studied and reported (Masih and Paul, 2002; Santos and Marquina, 2004; Santos, Sanchez and Marquina, 2004; Comitini et al., 2004; Druverfors, Passoth and Schnurer, 2005; Portes et al. 2013). The growth inhibiting of *Alternaria* and *Colletrotrichum* species also has been reported using yeast strains (Koomen and Jeffries, 1993; Wang et al., 2008, 2010; Chaisemsaeng, Mongkolthanaruk and Bunyatratchata, 2013). However, the discovery of yeast strains capable of inhibiting the growth of *Cercospora kikuchi* and *Colletotrichum dematium* var. *truncata* is apparently new and no previous reports were found on the literature.

The in vitro inhibitory tests are promising for the utilization of yeasts in biocontrol against these pathogenic fungi as an alternative to traditional treatment methods that utilize chemical compounds and can result in eventual toxicity consequences to the cultivars. The study of the inhibitory mechanisms of the tested yeasts is also encouraged in order to identify the action mode and the means by which the yeast controls the mold growth.

#### Literature Cited

- BEVAN, E. A.; MAKOVER, M. 1963. The physiological basis of the killer character in yeast. Geerts, S.J. (ed.). Genetics Today. In: International Conference on Genetics, 11. The Hague, Netherlands. Proceedings. Oxford, Pergamon Press. p.20.
- BOONE, C. et al. 1990. Integration of the yeast KI killer toxin gene into the genome of marked wine yeasts and its effect on vinification. American Journal of Enology and Viticulture 41(1):37-42.
- BORTOL, A. et al. 1986. Isolation of yeast with killer activity and its breeding with and industrial baking strain by protoplast fusion. Applied Microbiology and Biotechnology (Berlin) 24(5):414-416.
- BUZZINI, P. et al. 2004. Characterization of the in vitro antimycotic activity of a novel killer protein from *Williopsis saturnus* DBVPG 4561 against emerging pathogenic yeasts. FEMS Microbiology Letters (Amsterdam) 238(2):359-365.

- BUZZINI, P.; MARTINI, A. 2001. Discrimination between *Candida albicans* and other pathogenic species of the genus *Candida* by their differential sensitivities to toxins of a panel of killer yeasts. Journal of Clinical Microbiology 39(9): 3362-3364.
- CABRAL; A. S. et al. 2009. Killer yeasts inhibit the growth of the phytopathogen *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease. Brazilian Journal of Microbiology 40(1):108-110.
- CHAISEMSAENG, P.; MONGKOLTHANARUK, W.; BUNYATRATCHATA, W. 2013. Screening and potential for biological control of anthracnose disease (*Colletotrichum capsici*) on chili fruits by yeast isolates. Journal of Life Sciences and Technologies 1(4):201-214.
- COMITINI, F. et al. 2004. *Pichia anomala* and *Kluyveromyces* wickerhamii killer toxins as new tools against Dekkera/ Brettanomyces spoilage yeasts. FEMS Microbiology Letters (Amsterdam) 238(1):235-240.
- CONTI, S. et al. 2000. In vitro activity of monoclonal and recombinant yeast killer toxin-like antibodies against antibiotic-resistant gram-positive cocci. Molecular Medicine 6(7):613-619.
- CONTI, S. et al. 2002. Inhibition by yeast killer toxin-like antibodies of oral *Streptococci* adhesion to tooth surfaces in an ex vivo model. Molecular Medicine 8(6):313-317.
- DRUVERFORS, U. A.; PASSOTH, V.; SCHNURER, J. 2005. Nutrient effects on biocontrol of *Penicillium roqueforti* by *Pichia anomala* J121 during airtight storage of wheat. Applied and Environmental Microbiology 71(4):1865-1869.
- EL-TARABILY, K. A. 2004. Suppression of *Rhizoctonia* solani diseases of sugar beet by antagonistic and plant growth-promoting yeast. Journal of Applied Microbiology 96(1) 69-75.
- GILL, D. E. 1974. Intrinsic rate of increase, saturation density and competitive ability. The American Naturalist 108(959): 103-116.
- GUYARD, G. et al. 2002. Characterization of a *Williopsis* saturnus var. mrakii high molecular weight secreted killer toxin with broad-spectrum antimicrobial activity. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 49(6):961-971.
- HARA, S.; IMURA, Y.; OTSUKA, K. 1990. Breeding of useful killer wine yeasts. American Journal of Enology and Viticulture 41(1):37-42.
- KOOMEN, I; JEFFRIES, P. 1993. Effects of antagonistic microorganisms on the postharvest development of *Colletotrichum gloeosporioides* on mango. Plant Pathology 42(2):230-237.

- LIU, J. et al. 2017. Fungal diversity in field mold-damaged soybean fruits and pathogenicity identification based on high-throughput rDNA sequencing. Frontiers in Microbiology (Lausanne) 8:779.
- MAGLIANI, W. S. et al. 2014. Therapeutic potential of yeast killer toxin-like antibodies and mimotopes. FEMS Yeast Research 5(1):11-18.
- MARQUES-MARÇAL, V. V. 2005. Isolamento e Caracterizac'aPo Morfogeneitica de Leveduras com Fenoitipo Killer e seu Potencial no Antagonismo de Fitopatoigenos. Dissertação Mestrado. Londrina, PR, Universidade Estadual de Londrina. 88p.
- MASIH, E. I.; PAUL, B. 2002. Secretion of beta-1,3-glucanase by the yeast *Pichia membranifaciens* and its possible role in the biocontrol of *Botrytis cinerea* causing mold disease of the grapevine. Current Microbiology 44(4):391-395.
- MEKBIB, S. B.; THIERRY, J. C.; REGNIER, L. K. 2011. Efficacy and mode of action of yeast antagonists for control of *Penicillium digitatum* in oranges. Tropical Plant Pathology 36(4):233-240.
- MUSMANNO, R. A.; Di MAGGIO, T.; CORATZA, G. 1999. Studies on strong and weak killer phenotypes of wine yeasts: production, activity of toxin in must, and its effect in mixed culture fermentation. Journal of Applied Microbiology 87(6):932-938.
- NAVI, S. S.; RAJASAB, A. H.; YANG, X. B. 2016. In vitro evaluation of commercial fungicides against some of the major soil borne pathogens of soybean. Journal of Plant Pathology & Microbiology 7(3):1000340.
- OECD-FAO. 2015. Agricultural Outlook 2015-2024. Paris, OECD Publishing. 143p.
- PESHNEY, N. L; MAHANT, S. F.; NINAWE, B. N. 1994. Detection and chemical control of seed-borne fungal pathogens of soybean. Journal of Soils and Crops 4(2):131-135.
- POLONELLI, L. et al. 1983. Killer system: a simple method for differentiating *Candida albicans* strains. Journal of Clinical Microbiology 17(5):774-780.
- POLONELLI, L.; MORACE, G. 1986. Reevaluation of the yeast killer phenomenon. Journal of Clinical Microbiology (Washington) 24(5):866-869.
- PORTES, C. S. et al. 2013. Role of killer factors in the inhibitory activity of bio-control yeasts against *Penicillium expansum* and *Aspergillus ochraceus*. Brazilian Archives of Biology and Technology 56(4):619-627.
- ROY, K. W.; BAIRD, R. E.; ABNEY, T. S. 2001. A review of soybean (*Glycine max*) seed, pod, and flower mycofloras

- in North America, with methods and a key for identification of selected fungi. Mycopathologia 150(1):15-27.
- ROSA-MAGRI, M. M.; TAUK-TORNISIELO, S. M.; CECCATO-ANTONINI, S. R. 2011. Bioprospection of yeasts as biocontrol agents against phytopathogenic molds. Brazilian Archives of Biology and Technology 54(1):1-5.
- ROSINI, G. 1983. The occurrence of killer characters in yeasts. Canadian Journal of Microbiology (Ottawa) 29(10):1462-1464.
- SANTOS, A.; MARQUINA, D. 2004. Killer toxin of *Pichia membranifaciens* and its possible use as a biocontrol agent against grey mold disease of grapevine. Microbiology 150(7):2527-2534.
- SANTOS, A.; SANCHEZ, A.; MARQUINA, D. 2004. Yeasts as biological agents to control *Botrytis cinerea*. Microbiological Research 159(4):331-338.
- TRAVASSOS, L. R. et al. 2004. Therapeutic activity of a killer peptide against experimental paracoccidioidomycosis. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 54(4):956-958.
- URQUHART, E. J.; PUNJA, Z. K. 2002. Hydrolytic enzymes and antifungal compounds produced by *Tilletiopsis* species, phyllosphere yeasts that are antagonists of powdery mildew fungi. Canadian Journal of Microbiology 48(3):219-229.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.V. 2000. Leveduras para o controle de fitopatoìgenos. In: Melo, I.S.; Azevedo, J.L. eds. Controle bioloìgico. v. 2, Jaguariuìna, Embrapa Meio Ambiente. pp.41-56.
- VILLARROEL, D. A. et al. 2004. Pod and seed mycoflora on transgenic and conventional soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. Mycopathologia 157(2):201-215.
- WALKER, G. M.; McLEOD, A. H.; HODGSON, V. J. 1995. Interactions between killer yeasts and pathogenic fungi. FEMS Microbiology Letters (Amsterdam) 127(3):213-222.
- WANG, Y. et al. 2010. Control of postharvest decay on cherry tomatoes by marine yeast *Rhodosporidium* paludigenum and calcium chloride. Journal of Applied Microbiology 109(2):651-656.
- WANG, Y. et al. 2008. Biocontrol of *Alternaria alternata* on cherry tomato fruit by use of marine yeast *Rhodosporidium paludigenum* Fell & Tallman. International Journal of Food and Microbiology 123(3): 234-239.
- YOUNG, T. W. 1981. The genetic manipulation of killer character into brewing yeast. Journal of the Institute of Brewing (London) 87(5):292-295.

# **POLÍTICA EDITORIAL**

A Revista Agrotrópica foi criada em 1971, sendo originalmente conhecida como Revista Theobroma. Por ter um caráter interdisciplinar, constitui-se num veículo para comunicação científica em várias áreas como: Biodiversidade, Ciências Agrárias, Ambientais, Veterinária, Zootecnia, Tecnologia de Alimentos, Geografia, Geociências, Socioeconomia, etc. A revista é publicada quadrimestralmente e está destinada a divulgação de trabalhos originais que têm contribuição real para o desenvolvimento agroecológico, ambiental e socioeconômico das Regiões Tropicais Úmidas.

A Revista Agrotrópica publica não apenas artigos científicos, como também notas científicas, revisões bibliográficas relevantes e de natureza crítica, todos em três idiomas: Português, Inglês e Espanhol. Publica também cartas enderecadas ao Editor sobre trabalhos publicados.

Os Autores são os responsáveis exclusivos pelo conteúdo do trabalho, todavia, o Editor, com a assessoria científica do Conselho Editorial da Revista, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações que considerarem necessárias.

**Editor Chefe** 

# **EDITORIAL POLICY**

The Agrotrópica Journal was created in 1971, being formerly known as Theobroma Journal. As having an interdisciplinary character, it constitutes in a vehicle for scientific communication in various areas as: Biodiversity, Agricultural Sciences, Environmental Science, Veterinary, Animal Science, Food Technology, Geography, Geosciences, Socioeconomics, etc. The journal is published every four months and is destined to dissemination of original scientific works that have real contributions to the development agroecological, environmental and socioeconomic of the tropical rain regions.

The Agrotrópica Journal publishes not only scientific papers, but also scientific notes, relevant bibliographical reviews and of critical nature, all in three idioms: Portuguese, English and Spanish. It also publishes letters to the editor about published works.

The authors are solely responsible for the content of the work, however, the Editor, with the scientific accessory of the Editorial Board, reserves the right of suggesting or requesting the changes that seem to be necessary.

Editor-in-Chief

