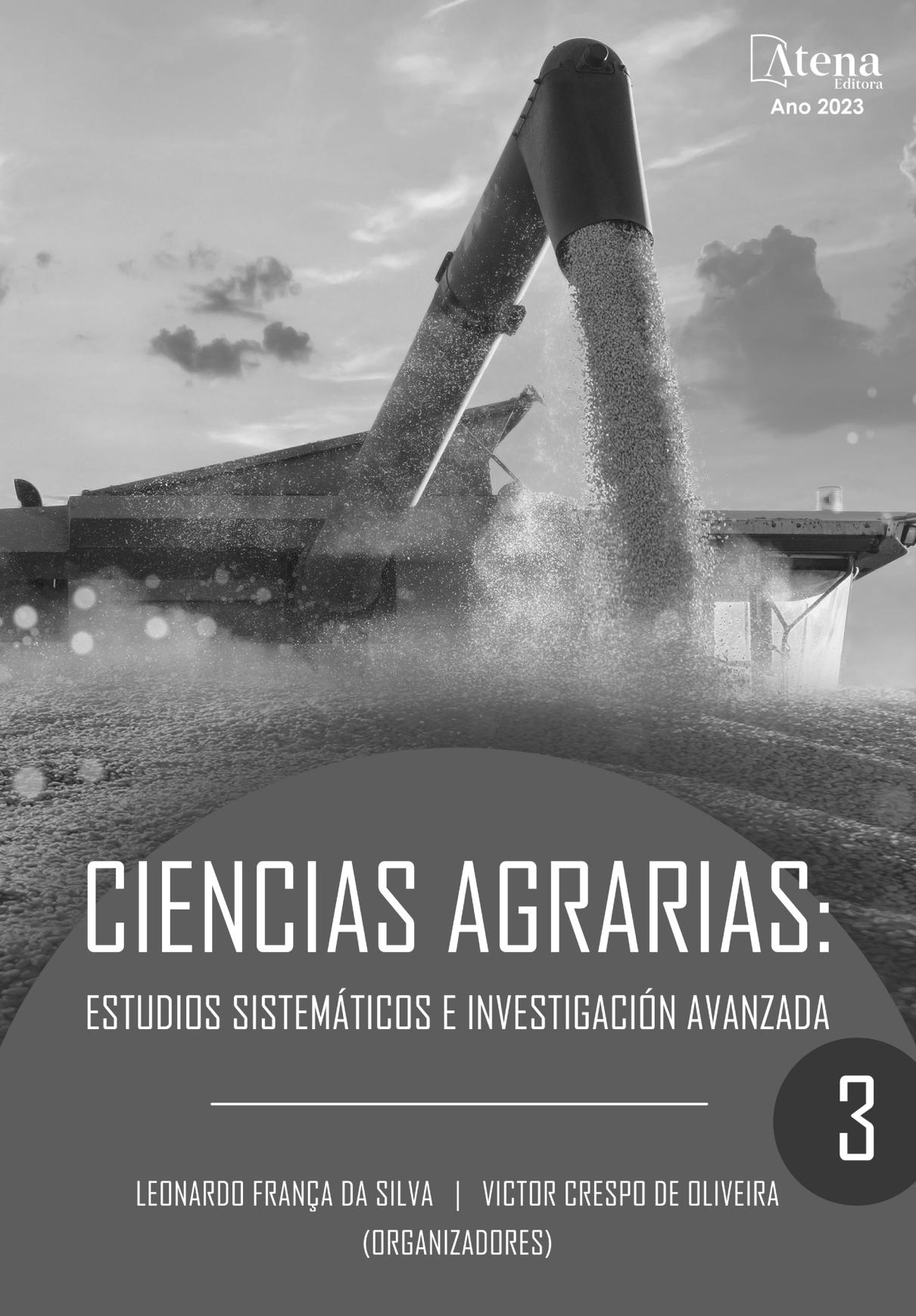




CIENCIAS AGRARIAS: ESTUDIOS SISTEMÁTICOS E INVESTIGACIÓN AVANZADA

LEONARDO FRANÇA DA SILVA | VÍCTOR CRESPO DE OLIVEIRA
(ORGANIZADORES)

3



CIENCIAS AGRARIAS: ESTUDIOS SISTEMÁTICOS E INVESTIGACIÓN AVANZADA

LEONARDO FRANÇA DA SILVA | VÍCTOR CRESPO DE OLIVEIRA
(ORGANIZADORES)

3

Editora chefe	
Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira	
Editora executiva	
Natalia Oliveira	
Assistente editorial	
Flávia Roberta Barão	
Bibliotecária	
Janaina Ramos	2023 by Atena Editora
Projeto gráfico	Copyright © Atena Editora
Camila Alves de Cremo	Copyright do texto © 2023 Os autores
Luiza Alves Batista	Copyright da edição © 2023 Atena
Nataly Evilin Gayde	Editora
Imagens da capa	Direitos para esta edição cedidos à
iStock	Atena Editora pelos autores.
Edição de arte	Open access publication by Atena
Luiza Alves Batista	Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano

Profª Drª Amanda Vasconcelos Guimarães – Universidade Federal de Lavras

Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Universidade do Estado de Mato Grosso

Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria

- Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^a Dr^a Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Edevaldo de Castro Monteiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Prof^a Dr^a Gílrene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof^a Dr^a Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Prof^a Dr^a Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Renato Jaqueto Goes – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof^a Dr^a Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciencias agrarias: estudios sistemáticos e investigación avanzada 3

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Maiara Ferreira
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizadores: Leonardo França da Silva
Víctor Crespo de Oliveira

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)	
C569	Ciencias agrarias: estudios sistemáticos e investigación avanzada 3 / Organizadores Leonardo França da Silva, Víctor Crespo de Oliveira. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2023.
	Formato: PDF
	Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
	Modo de acesso: World Wide Web
	Inclui bibliografia
	ISBN 978-65-258-1158-1
	DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.581230604
	1. Ciencias agrarias. I. Silva, Leonardo França da (Organizador). II. Oliveira, Víctor Crespo de (Organizador). III. Título.
	CDD 630
Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166	

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, desta forma não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de e-commerce, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

La colección “Ciências Agrárias: “Estudios sistemáticos e investigación avanzada 3” es una obra cuyo eje principal es la discusión científica a través de las diversas obras que componen sus capítulos. El volumen abordará, de forma categorizada e interdisciplinaria, trabajos, encuestas, relatos de casos y/o revisiones que transitan en las diversas áreas de las Ciencias Agrícolas. Los temas tratados en este libro electrónico se presentan de forma clara y accesible.

Este trabajo responde a la necesidad de las Ciencias Agrícolas de atender demandas transdisciplinares en la construcción del conocimiento a través de una mirada menos fraccionada. De esta forma, el objetivo principal fue presentar, de forma categorizada y clara, los estudios desarrollados en varias Instituciones de Enseñanza e Investigación del país.

Los contenidos fueron elaborados por varios especialistas de diferentes áreas e incluyen conocimientos: Microbiología, Fruticultura, Edafología, Fitopatología, Entomología, Ingeniería Agrícola, Zootecnia, Medicina Veterinaria y áreas afines. De esta forma, aquí se abordan varios temas interesantes, con la propuesta de apoyar el conocimiento de académicos, maestros y todos aquellos que de alguna manera estén interesados en el universo de las Ciencias Agrícolas.

De esta forma, los organizadores y Atena Editora agradecen a los autores vinculados a las diferentes Instituciones de Enseñanza, Investigación y Extensión de Brasil y del exterior, por compartir sus estudios, haciendo posible la elaboración de este libro virtual. Esperamos que este trabajo pueda estimular la intercomunicación de las más diversas áreas de las Ciencias Agrícolas en pro de la ciencia y la investigación, supliendo las más variadas demandas de conocimiento.

Sabemos lo importante que es la divulgación científica, por eso también destacamos la estructura de Atena Editora capaz de ofrecer una plataforma consolidada y confiable para que estos investigadores expongan y difundan sus resultados.

¡Buena lectura!

Leonardo França da Silva
Víctor Crespo de Oliveira

CAPÍTULO 1	1
A CULTURA DO MIRTILEIRO: UMA REVISÃO SOBRE ASPECTOS DA PROPAGAÇÃO ASSEXUADA	
Bruna Eduarda Kreling	
Thaís Aline Dierings	
Cristiano Tonet	
Fabiel André Cossul	
Fábio Daniel Rohr Tiemann	
Jankelly Dickel Moreira	
Bruna Dalcin Pimenta	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.5812306041	
CAPÍTULO 2	14
A CULTURA DA PITANGUEIRA (<i>Eugenia uniflora</i>): UMA REVISÃO SOBRE ASPECTOS DA PROPAGAÇÃO SEXUADA E ASSEXUADA	
Bruna Eduarda Kreling	
Cristiano Tonet	
Fabiel André Cossul	
Jankelly Dickel Moreira	
Thaís Aline Dierings	
Bruna Dalcin Pimenta	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.5812306042	
CAPÍTULO 3	27
A ESSENCIALIDADE DO BORO NA NUTRIÇÃO DO GIRASSOL E DE ANIMAIS	
Níbia Sales Damasceno Corioletti	
José Henrique da Silva Taveira	
Luciane Cristina Roswalka	
Patrick Bezerra Fernandes	
Sidinei Corioletti	
Robson Lopes Cardoso	
Claudia Peixoto Bueno	
Pedro Rogério Giongo	
Danilo Corrêa Baião	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.5812306043	
CAPÍTULO 4	51
ANÁLISE E CARACTERIZAÇÃO DA IMPLEMENTAÇÃO DO PROGRAMA DE ALIMENTAÇÃO ESCOLAR - PNAE NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU- SP ENTRE OS ANOS DE 2010 A 2017	
Leonardo França da Silva	
Victor Crespo de Oliveira	
Ana Isabel de Freitas Soares Oliveira	
Letícia Duron Cury	
Érika Manuela Gonçalves Lopes	
João Victor Barroso Gonçalves	
Rodrigo Sebastião Machado de Freitas	

Kamila Cristina de Credo Assis
Marcos Antônio Pereira da Fonseca Maltez
Rafaella Resende Andrade
Irene Menegali
Ariadna Faria Vieira

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5812306044>

CAPÍTULO 5 70

APLICACIÓN DE UNA PRUEBA DE PCR-RFLP EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR *Babesia spp* EN BOVINOS. ESTUDIO RETROSPETIVO

Pedro Julián Soberanis Bernal
Roberto O. Castañeda Arriola
Julio Vicente Figueroa Millán
Carmen Rojas Martínez
José Juan Lira Amaya
Jesús Antonio Álvarez Martínez
Rebeca Montserrat Santamaría Espinosa
Grecia Martínez García

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5812306045>

CAPÍTULO 6 90

DISPONIBILIDAD DEL HIERRO DE LOS SUELOS DE LA VEGA MEDIA DEL RÍO SEGURA (MURCIA, SURESTE DE ESPAÑA)

Pura Marín Sanleandro
Ana María Gómez García
Juana Mª Gil Vázquez
Arantzazu Blanco Bernardeau
Mª Asunción Alías Linares

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5812306046>

CAPÍTULO 7 101

PRUEBAS DE ANTAGONISMO *IN VITRO* CON HONGOS ASOCIADOS AL SÍNTOMA DE MARCHITEZ EN AGUACATE EN HUERTO ORGÁNICO Y CONVENCIONAL EN MICHOACÁN

José Luciano Morales García
Héctor Daniel Hurtado Chávez
Karina Lizeth Morales Montelongo
Edna Esquivel Miguel

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5812306047>

CAPÍTULO 8 114

DESENVOLVIMENTO DE *Bactrocera carambolae* EM MUNICÍPIOS DO AMAPÁ CONSIDERANDO DEMANDAS TÉRMICAS E DIETAS FRUTÍFERAS E ARTIFICIAL

Maria Conceição Peres Young Pessoa
Cristiane Ramos de Jesus
Rafael Mingoti

SUMÁRIO

Beatriz de Aguiar Giordano Paranhos Ricardo Adaime da Silva José Victor Torres Alves Costa Maria Clara Huttembergue  https://doi.org/10.22533/at.ed.5812306048	
CAPÍTULO 9	132
ZEÓLITO NA FERTILIZAÇÃO DE CULTURAS AGRÍCOLAS DE SEQUEIRO. POLÍTICA PÚBLICA PARA O ESTADO DE TLAXCALA Andrés María Ramírez Víctor Volke Haller Gerardo Juárez Hernández  https://doi.org/10.22533/at.ed.5812306049	
CAPÍTULO 10.....	141
DESENVOLVIMENTO DE <i>Bactrocera carambolae</i> POR DEMANDAS TÉRMICAS EM DIFERENTES ALIMENTOS EM CONDIÇÕES TÉRMICAS DO PARÁ E RORAIMA Maria Conceição Peres Young Pessoa Ricardo Adaime da Silva Rafael Mingoti Beatriz de Aguiar Giordano Paranhos Maria Clara Huttembergue Cristiane Ramos de Jesus José Victor Torres Alves Costa  https://doi.org/10.22533/at.ed.58123060410	
CAPÍTULO 11	179
<i>Trichoderma</i> COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO DE MUDAS DE <i>Eucalyptus urophylla</i> , <i>Eucalyptus brassiana</i> E <i>Corymbia citriodora</i> Alexandre Ribeiro da Mota Patrícia Aparecida de Souza Aloisio Freitas Chagas Junior Priscila Bezerra de Souza Lillian França Borges Chagas André Ferreira dos Santos Rubens Ribeiro da Silva Mayanne Alves Pereira Jacinto Pereira Santos Evânia Galvão Mendonça Glauçiana da Mata Ataíde Bianca Machado Campos Trindade  https://doi.org/10.22533/at.ed.58123060411	
SOBRE OS ORGANIZADORES	204
ÍNDICE REMISSIVO	205

CAPÍTULO 1

A CULTURA DO MIRTILEIRO: UMA REVISÃO SOBRE ASPECTOS DA PROPAGAÇÃO ASSEXUADA

Data de aceite: 03/04/2023

Bruna Eduarda Kreling

Thaís Aline Dierings

Cristiano Tonet

Fábel André Cossul

Fábio Daniel Rohr Tiemann

Jankelly Dickel Moreira

Bruna Dalcin Pimenta

disponibilidade e o alto custo das mudas. Uma alternativa para a produção de mudas com características idênticas à planta matriz é através da propagação assexuada, tornando possível a formação de pomares homogêneos. Dessa forma, o presente trabalho caracteriza-se como uma revisão bibliográfica sobre a cultura do mirtileiro, suas características botânicas e os métodos de propagação assexuada, bem como o uso de indutores de enraizamento. Assim, tornando-se de grande relevância aos acadêmicos e viveiristas que trabalham com o ramo da Fruticultura, por fornecer informações importantes sobre a cultura do mirtileiro.

PALAVRAS-CHAVE: Fruticultura, enxertia, estaqueia, micropropagação, *Vaccinium spp.*, indutores de enraizamento, ácido indol-butírico.

1 | INTRODUÇÃO

O mirtileiro é uma frutífera de clima temperado, nativa da América do Norte e Europa que pertence ao gênero *Vaccinium*, o qual consiste em aproximadamente 450 espécies. É uma planta caducifólia, de porte arbustivo ou rasteiro. Seus frutos são

RESUMO: O mirtilo (*Vaccinium spp.*) tornou-se como uma cultura economicamente importante e geograficamente bem distribuída em várias regiões temperadas, inclusive no Brasil. O aumento em seu cultivo está relacionado às características nutricionais promotoras da saúde associadas ao consumo de mirtilo, como as propriedades antioxidantes e antiinflamatórias. A cultura do mirtileiro vem sendo apontada como uma nova possibilidade na área de fruticultura nas regiões sul e sudeste do Brasil, devido à alta rentabilidade e baixa utilização de insumos. No entanto, alguns entraves dificultam sua expansão, como a pouca

bagas de cor azul-escura, de formato achatao, com aproximadamente 1 cm de diâmetro e 1,5 g de peso e com sabor doce-ácido a ácido (WESTWOOD, 1982). A maior parte das espécies é nativa da América do Norte e algumas são originárias do continente europeu (RANDUNZ et al., 2016).

Os Estados Unidos são o maior produtor e consumidor mundial dessa fruta, sendo a sua produção insuficiente para atender a demanda do mercado, especialmente durante a entressafra. Em 2019, o mirtilo foi certificado pela American Heart Association® como um dos alimentos considerados saudáveis, especialmente na prevenção de problemas cardiovasculares (U. S. Highbush Blueberry Council, 2022).

Os maiores produtores mundiais, no ano de 2020, foram os Estados Unidos, com quase 294 mil toneladas em 37 mil ha, seguido pelo Canadá (146 mil toneladas em 39,7 mil ha), México (50,3 mil toneladas e 4.610 ha), e Espanha (48,5 mil toneladas em 4.210 ha) (FAOSTAT, 2022).

O mirtilo possui grande teor nutricional, o que tem aumentado o interesse pela fruta no Brasil. Essa fruta é uma ótima fonte de vitaminas, minerais e de compostos benéficos que promovem a saúde. Por ser uma fruta com grande potencial antioxidante, o seu consumo regular pode auxiliar no combate ao estresse oxidativo das células. O estresse oxidativo é um fator que contribui para o envelhecimento dos tecidos e o surgimento de doenças de pele, dentre elas o câncer (MAYA-CANO et al., 2021). Vários estudos confirmaram suas propriedades anti-inflamatórias e anticancerígenas, bem como seus efeitos protetores cardiovasculares. Além disso, também apresentam efeitos anti-neurodegenerativos e têm propriedades antimicrobianas (GARZÓN et al., 2020).

O aumento da área cultivada e o bom preço alcançado na comercialização do mirtilo fazem com que aumente o interesse em produzi-la por produtores brasileiros, os quais podem comercializá-la na entressafra dos países tradicionalmente consumidores e produtores. No entanto, existem alguns problemas que impedem o desenvolvimento da cultura na região Sul do Brasil. Um dos entraves da produção de mirtilos refere-se ao fato de que o período máximo de conservação e as condições mais adequadas para a manutenção das características pós-colheita dos frutos são ainda pouco conhecidos, bem como as estratégias de propagação das plantas (BRACKMANN et al., 2010). Por este motivo, o presente trabalho visa descrever a cultura do mirtileiro, bem como critérios importantes para sua propagação e manutenção das plantas.

2 | A CULTURA DO MIRTILEIRO E SUA IMPORTÂNCIA

O mirtilo (*Vaccinium spp.*), pertencente à família Ericaceae e apesar de ser uma cultura com pouca expressão comercial no Brasil, o potencial de cultivo do mirtilo no Sul do País é significativo. Os mirtileiros são adaptados a solos ácidos, com boa drenagem, porém necessitam de moderada e permanente umidade (SANTOS; RASEIRA, 2002), pois

o sistema radicular das plantas é superficial, com raízes bastante finas (STRIK, 2015).

Os mirtileiros do grupo rabbiteye (*V. virgatum* sin. *V. Ashei*) são um dos principais grupos cultivados. Cultivares do tipo rabbiteye Bluegem e Clímax foram desenvolvidas em regiões com verões longos e quentes e, geralmente, os frutos dessa espécie possuem películas mais grossas, maior perceptibilidade nas sementes e textura mais arenosa, por serem menos resistentes ao frio (STRIK et al., 2014).

No Brasil, os primeiros registros dessa espécie datam de 1983, quando houve a introdução da primeira coleção de mirtileiros, do tipo rabbiteye, que são de menor exigência em frio, pela Embrapa Clima Temperado, em Pelotas, RS (ANTUNES; RASEIRA, 2006). Entretanto, a primeira plantação comercial foi estabelecida em Vacaria, RS, no ano de 1990, e foi de mirtileiros do tipo highbush (*V. corimbosum*), mais exigentes em frio do que rabbiteye, porém com melhor qualidade de frutas (FACHINELLO, 2008).

O mirtilo é uma fruta rica em polifenóis, antocianinas e apresenta alta atividade antioxidante (SU; SILVA, 2006). Essa atividade antioxidante pode ser impactada por vários fatores, como variedade, estágio de maturação dos frutos, condição de armazenamento e processamento (SU; CHIEN, 2007).

O pouco conhecimento técnico acerca da cultura, desde a obtenção de mudas, o manejo dos pomares, até a correta manipulação das frutas limitou a expansão do cultivo. Além desses, fatores como inserção e aceitação das frutas pelo mercado consumidor, uma vez que o mirtilo é uma fruta ainda pouco conhecida pelos brasileiros, e o pouco volume que chega ao mercado não possui preço convidativo para a maioria da população (CARPENEDO; RASEIRA; FRANZON, 2022).

Há uma dificuldade muito grande em se obter dados oficiais sobre área plantada no Brasil, bem como sobre a produção, pois a maioria dos plantios são realizados em pequenas áreas e por produtores familiares, sendo esses dados normalmente obtidos pelos escritórios regionais de extensão rural e assistência técnica aos produtores ou prefeituras, e são divulgados apenas localmente, sendo a produção, muitas vezes, vendida em mercados locais ou ainda a fruta é processada e vendida nos próprios estabelecimentos rurais, sem chegarem aos Centros Estaduais de Abastecimento (Ceasa) ou ao mercado formal, inexistindo, dessa forma, o cômputo da venda desse produto (CARPENEDO; RASEIRA; FRANZON, 2022).

A nível mundial, a produção do fruto concentra-se principalmente na América (80,2% da produção mundial), sendo o maior produtor do mundo os Estados Unidos, com volume produzido de 308 mil toneladas, seguido pelo Canadá (176 mil toneladas) e Peru (142 mil toneladas) (FAO, 2021). Apesar de não existirem estatísticas oficiais, estima-se que a produção brasileira seja de 300 toneladas em uma área de cultivo de aproximadamente 400 ha, principalmente em pequenas propriedades (CANTUÁRIAS- ALVILÉS et al., 2014; PAES, 2016).

O cultivo do mirtileiro no Brasil, assim como das pequenas frutas em geral, tem como

característica a produção em pequenas propriedades e em pequenas áreas, sendo esse o tipo de estabelecimento rural mais numeroso, com 77% do total de estabelecimentos agrícolas do País no ano de 2017, cuja produção é bastante diversificada e com mão de obra essencialmente familiar (IBGE, 2019).

O impacto social do cultivo de mirtileiros é relevante pois possibilita o desenvolvimento tanto da propriedade quanto de toda uma região, assim como a obtenção de uma boa renda em áreas relativamente pequenas, uma vez que o preço pago pela fruta é atrativo. Além disso, mantém a ocupação das pessoas da família, o que o torna uma excelente opção para esse tipo de estabelecimento rural. Paralelamente, por ser uma cultura ainda pouco difundida no Brasil, essa não apresenta pragas e doenças importantes, o que permite o seu cultivo no sistema orgânico (CARPENEDO; RASEIRA; FRANZON, 2022).

Dante do exposto, a fruticultura de modo geral tem um importante papel na fixação das pessoas no meio rural, por se tratar de culturas que demandam um grande número de operações em diferentes épocas do ano. No caso do mirtileiro, o manejo da cultura é totalmente manual, o que apesar de aumentar os custos de produção, tem como contrapartida a geração de empregos. O número de trabalhadores na fruticultura, no ano de 2021, correspondeu a 11,5% do total de postos de trabalho na agropecuária (FONSECA, 2022).

3 | CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS

O mirtileiro é uma frutífera de clima temperado, a planta é caducifólia, podendo apresentar crescimento arbustivo ou rasteiro (WHITE et al., 2015; HAO et al., 2019), adaptando-se às mais diferentes condições climáticas, como locais com 0 até mais de 1000 horas anuais de frio ($\leq 7^{\circ}\text{C}$) (LOBOS e HANCOCK, 2015). Apresenta grande diversidade de aspectos e tamanho, podendo ser de porte arbustivo com hábito ereto ou rasteiro. Seus ramos podem apresentar coloração amarelo dourado ou avermelhado (BOURNOUS, 2009; CANTUARIAS-ALVILÉS et al., 2014).

O sistema radicular da planta não é profundo, e está localizado majoritariamente nas camadas menores que 60 cm de profundidade. As raízes de mirtileiro possuem poucos pelos radiculares, fazendo com que a capacidade de absorção de água seja limitada e técnicas de manejo sejam condicionadas, como o uso de irrigação e simbiose com micorrizas (PRODORUTTI et al., 2007; SPINARDI e AYUB, 2013).

As folhas, inseridas nos nós do caule, podem apresentar formato lanceolado a oval, a superfície adaxial pode ter aparência sem brilho, glabra ou rugosa, as bordas podem ser lisas ou serreadas. O tamanho e o número de folhas são influenciados pelo ambiente, cultivar e espessura do ramo (GOUGH, 1993). A inflorescência do mirtileiro é um cacho composto por 6 a 14 flores, dependendo da posição da gema floral no ramo (VALDIVIESO et al., 2015).

Os frutos têm aproximadamente 1,0 cm de diâmetro e peso médio de 1,3g, sendo a casca azul-escura e a polpa com grande número de sementes e de pruína (cera natural que envolve a casca). Os frutos destinam-se ao consumo *in natura* e ao processamento, como congelamento, desidratação ou fabricação de geléias e licores (FACHINELLO, 2008).

4 | PROPAGAÇÃO ASSEXUADA DE MIRTILEIRO

Um dos fatores que dificultam a expansão e a viabilização do mirtilo como atividade econômica é a baixa disponibilidade de mudas. A obtenção de novas plantas de mirtileiro pode ocorrer por sementes e por propagação vegetativa, porém, pela baixa porcentagem de germinação e variabilidade genética utilizar as sementes para cultivo comercial é inviável, sendo restrito apenas para obtenção de novas cultivares (FACHINELLO, 2008; PASQUALINI et al., 2016).

Uma alternativa para a produção de mudas com características idênticas à planta matriz é através da propagação assexuada. Através desta técnica é possível a formação de pomares homogêneos quanto à produtividade, qualidade do fruto, precocidade e tolerância às pragas e doenças, além da antecipação do início da produção comercial, a partir da redução da fase juvenil da planta (LIRA JÚNIOR et al., 2007).

A propagação assexuada, também denominada de vegetativa ou clonal, consiste na multiplicação de indivíduos a partir de porções vegetativas das plantas, devido à capacidade de regeneração dos órgãos (HARTMANN et al., 1990). Dos meios disponíveis para se propagar mirtilo, a estaquia é a mais utilizada (ANTUNES et al., 2004).

Não são encontrados trabalhos na literatura que utilizam a propagação de mirtileiros via sexuada, através das sementes. Por este motivo, este trabalho irá descrever aspectos importantes da propagação assexuada de mirtileiros, por estaquia, enxertia e micropropagação.

4.1 Estaquia

Além de conservar as características genéticas da matriz, a estaquia permite a obtenção de muitas mudas a partir de uma única planta, em menor tempo, quando comparado com a reprodução sexuada (BERNARDO et al., 2020). Como consequência, a propagação vegetativa por estacas enraizadas reduz a fase juvenil da planta, antecipando a produção (FACHINELLO et al., 2005). Os tipos de estacas influenciam diretamente a qualidade das mudas, sendo que as estacas de plantas arbustivas podem ser classificadas como lenhosas, semilenhosas e herbáceas (COSTA et al., 2016).

O sucesso da estaquia depende de fatores endógenos e/ou exógenos, que interferem no método. Por exemplo, o estado fisiológico da planta-mãe, a espécie, a porção do corte do ramo, tipo e doses de hormônios, e condições ambientais, como luz, temperatura e umidade (SOUZA et al., 2020). Além disso, uma das vantagens de se utilizar essa técnica, é a facilidade de produzir enorme volume de mudas com o mesmo material genético,

possibilitando a padronização. Também ocorre a antecipação de maturidade, influenciando na padronização da produção (FACHINELLO et al., 2005; BERNARDO et al., 2020).

A técnica é relativamente barata, rápida e não requer métodos especiais para ser colocada em prática (COSTA et al., 2016). Entretanto, a fim de evitar a disseminação de doenças, principalmente virais e a susceptibilidade a pragas, que podem ser replicadas de acordo com a propagação das mudas, deve-se colocar em prática a propagação por meio de variedades tolerantes ou resistentes. Mesmo assim, toda técnica deve ser reproduzida com os devidos cuidados fitossanitários, como a limpeza das tesouras de poda e eliminação de materiais com sintomas de doenças e pragas (BROCH et al., 2021).

Além disso, é interessante o uso de substrato que forneça os aspectos químicos e físicos adequados, esses variando com a espécie. Geralmente para estaquia, utiliza-se substratos que não apresentem porosidade total elevada, uma vez que as estacas devem ficar bem fixas no substrato, apertando bem na base do substrato ao redor da estaca, visando favorecer a superfície de contato, e consequentemente o pegamento por meio do enraizamento. Outro ponto a ser destacado ocorre no processo de enterro da estaca, sendo necessário fazê-lo com muito cuidado, pois a gema geralmente é uma estrutura sensível e pode ser quebrada ou danificada, especialmente de espécies herbáceas como o mirtilo (MOURA, 2022).

As estacas herbáceas podem ser retiradas durante toda a fase vegetativa, porém, quando são coletadas das brotações primaveris, há maior percentagem de enraizamento. Plantas propagadas por estacas herbáceas, utilizando-se principalmente material da primeira brotação de primavera, poderão apresentar menores riscos de contaminação por doenças (principalmente cancro das hastes), tendo em vista que as brotações novas geralmente estão livres de doenças (KREWER; CLINE, 2003).

Comercialmente, o mirtilo é propagado principalmente por estacas (MAINLAND, 1966; ANTUNES et al., 2006), porém esta técnica proporciona resultados bastante variáveis conforme a espécie e a cultivar (INIA, 1988). No Brasil, Nachtigall et al. (1998), Faria et al. (1998) e Arruda et al. (1998), utilizando estacas semilenhosas de mirtilo, obtiveram até 73% de enraizamento na cultivar Delite; 62,4% na Powderblue, e 60,40% na cultivar Bluegem, respectivamente. De modo geral, na multiplicação por estacas, obtêm-se percentuais em torno de 50% de enraizamento (FRANÇA, 1991).

4.2 Indutores de enraizamento

A propagação vegetativa é uma excelente alternativa para várias espécies, principalmente para as frutíferas, onde a obtenção de clones é um fator importante para o estabelecimento uniforme do pomar (MEDEIROS, 2021). Por isso, para facilitar e obter melhores índices de pegamento das estacas a utilização produtos à base de hormônios sintéticos, que por sua vez são utilizados em pequenas quantidades, mas que produzem respostas fisiológicas específicas, exemplificado pela floração, crescimento,

amadurecimento de frutos e senescênciа de folhas (PETRI et al., 2016).

Dentre os produtos recomendados pela literatura destaca-se o ácido 3-indolbutírico (AIB), que é do grupo das auxinas, sendo utilizado para induzir a formação de raízes em estacas herbáceas e lenhosas e em cultura de tecidos, sendo utilizado na formulação de diversos compostos visando ao enraizamento de estacas (PEREIRA et al., 2022).

Considerando a fisiologia da planta, intensificaram-se estudos sobre os efeitos de substâncias orgânicas modificadoras do desenvolvimento vegetal, capazes de aumentar significativamente a produtividade vegetal. Esse emprego, na agricultura, vem se tornando prática viável com o objetivo de explorar o potencial produtivo das culturas (SILVA, 2012). A aplicação exógena de AIB vem sendo bem aproveitada para estimular o enraizamento de toletes em diversas espécies, além daquelas oriundas de espécies vegetais, como (AIB) presentes em suas folhas e tubérculos atuam como promotores de enraizamento (ALVES NETO; CRUZ-SILVA, 2008).

Portanto, os indutores de enraizamento mimetizam propriedades químicas de hormônios vegetais e auxiliam na emissão de raízes e brotos das estacas caulinares e/ou radiculares (VERNIER e CARDOSO, 2013). O AIB pode ser um indutor de raízes adventícias, dominância apical e diferenciação vascular. As concentrações podem variar de 0 a 8.000 mg.L⁻¹ dependendo do cultivar (BUENO, 2015; VILLA et al., 2003).

Em seu trabalho avaliando a viabilidade de miniestacas de mirtilo do cultivar Brite Blue com uso de AIB e inoculação com rizobactérias, Higuchi et al. (2022), verificaram efeito significativo da interação entre os fatores IBA e inoculação para a presença de calos. Em relação às doses de AIB, observou-se efeito significativo para número de raízes, sobrevivência e miniestacas enraizadas. De acordo com os autores, a dose ótima estimada para o enraizamento e aumento das variáveis qualitativas foi de 1.100 mg L⁻¹.

4.3 Enxertia

A enxertia consiste na união de duas partes de plantas, sendo de mesma espécie ou espécie diferente e consiste na regeneração de tecidos o que permite o desenvolvimento de uma nova planta. Na propagação por enxertia, a planta que contribui com o sistema radicular é chamada de porta-enxerto ou cavalo. A planta ou parte dela, que contribuirá com a parte aérea da nova planta é denominada de enxerto, planta essa que apresenta características superiores, as quais se quer reproduzir e dará origem a copa da nova planta (HARTMANN et al., 2002; FRANZON et al., 2010).

Esta técnica de propagação de plantas é utilizada com o objetivo de obter plantas resistentes a patógenos de solo, plantas tolerantes ao encarcamento do solo, reduzir o período de juvenilidade das plantas e aumentar a produção e qualidade dos frutos (PEIL, 2003). Entretanto, para que se tenha sucesso na enxertia, devem ser tomados alguns cuidados, tais como: época adequada de executá-la e características dos ramos a serem utilizados, métodos e técnicas a utilizar, e compatibilidade entre copa e porta-enxerto

(FRANZON, 2008).

Diferentes métodos de enxertia são conhecidos: a borbulhia, a garfagem e a encostia, existindo ainda variações desses três tipos. No Sul do Brasil, em espécies fruteiras propagadas comercialmente durante o período de repouso vegetativo, normalmente utiliza-se a enxertia de garfagem, a qual é realizada principalmente nos meses de julho e agosto (FACHINELLO et al., 2005).

A borbulhia caracteriza-se pelo destacamento de uma gema vegetativa da planta em que se deseja as características superiores e introduzindo-as em mudas da mesma espécie ou espécies semelhantes que formarão novas plantas. O método de enxertia através da garfagem consiste na retirada de um pedaço de ramo da planta em que se deseja reproduzir (cpa), podendo conter mais de uma gema e transferir este ramo para o porta-enxerto (Franzon et al., 2010). Já a encostia consiste na união lateral de plantas onde cada planta possui o seu sistema radicular próprio, ou seja, é a união do enxerto ao porta-enxerto sem destacá-los da planta-mãe, após a união das plantas, realiza-se a separação de uma das plantas do seu sistema radicular e a outra, da sua parte aérea (Fachinello et al., 2005).

4.4 Micropopragação

A cultura de tecidos é uma técnica de multiplicação de células, tecidos, órgãos ou partes de órgãos de uma planta (explante) sob um meio nutritivo em condições assépticas e em ambiente controlado. Esta técnica se baseia, principalmente, na capacidade de totipotência das células vegetais, ou seja, na capacidade de produzir órgãos, como brotos e/ou raízes (organogênese) ou embriões somáticos que regeneram uma planta completa (embriogênese somática) em um meio de cultivo favorável (MELO, 2020; GUPTA et al., 2020; ABDALLA et al., 2022).

Segundo Castro et al. (2016), o cultivo de materiais vegetais in vitro vem se tornando uma técnica de suma importância no melhoramento genético de plantas e na recuperação de genótipos livres de vírus e outros agentes. Dentro deste contexto, a técnica de cultivo in vitro mais utilizada tem sido a micropopragação, por ser uma das ferramentas mais importantes da cultura de tecidos, com importante impacto comercial, sendo largamente utilizada em diversas áreas, como em estudos da biologia, agricultura, horticultura e silvicultura (NEVES, 2020).

Esta técnica se inicia com coleta de um material vegetal, que compreende uma planta matriz, com características desejadas para serem reproduzidas em um pomar. Esse material passa por um processo de assepsia, utilizando soluções esterilizantes. As plantas estabelecidas são multiplicadas e enraizadas, cada qual em um meio específico, e por fim ocorre a aclimatização, para a adaptação das plantas novamente no ambiente natural (AHLOOWALIA et al., 2004; MURASHIGE, 1974).

Além das plantas de mirtileiro micropopragadas apresentarem qualidade fitossanitária

superior, podem apresentar melhor desempenho inicial no campo, quando comparadas com as plantas obtidas por estaquia. Marino et al. (2014) utilizando a micropropagação, obtiveram maior quantidade de brotações e rebentos para as cultivares Emerald, Jewel e Primadonna, bem como melhor peso seco das plantas das cultivares Emerald e Jewel. Já Souza et al. (2011), verificaram que as plantas das cultivares Woodard, Bluegem e Brite Blue tiveram maior número de brotações do que as plantas obtidas por estaquia, sendo que não afetou o desenvolvimento e qualidade de frutos. Esse melhor estabelecimento das plantas em campo é vantajoso, pois as plantas podem entrar em produção precocemente, resultando em um retorno econômico mais rápido (DEBNATH, 2012).

Na micropropagação de mirtilo o meio Woody Plant Medium (WPM) (LLOYD; MCCOWN, 1980) é o mais utilizado, sendo citado em muitos trabalhos (SILVA et al., 2006; PELIZZA et al., 2013; CUCE; SOKMEN, 2017) e a suplementação com reguladores de crescimento geralmente é necessária. Já no enraizamento de mirtilo tem-se verificado que o uso de AIB é mais benéfico que o AIA (FAN et al., 2017). Como observado em alguns trabalhos, onde a concentração de 0,5 mg L⁻¹ de AIB juntamente com 1,0 mg L⁻¹ de carvão ativado, utilizando meio WPM, trouxeram os melhores resultados para o enraizamento (CUCE et al., 2013; CUCE; SOKMEN, 2015; CUCE; SOKMEN, 2017).

5 | CUIDADOS NA PROPAGAÇÃO: ÉPOCA, NUTRIÇÃO E IRRIGAÇÃO

As estacas herbáceas podem ser retiradas durante toda a fase vegetativa, porém, quando são coletadas das brotações primaveris, há maior percentagem de enraizamento. Plantas propagadas por estacas herbáceas, utilizando-se principalmente material da primeira brotação de primavera, poderão apresentar menores riscos de contaminação por doenças (principalmente cancro das hastes), tendo em vista que as brotações novas geralmente estão livres de doenças (KREWER; CLINE, 2003).

O plantio deve ser executado de preferência após precipitações pluviométricas, em condições de solo com boa umidade. Recomenda-se o transplante de mudas com raiz de 1 ano. As mudas devem permanecer à sombra com irrigação frequente até serem transplantadas. A época de plantio pode ser no outono ou no final do inverno e início da primavera. É fundamental a irrigação do solo antes e após o plantio das mudas (ANTUNES et al., 2006).

A cultura do mirtilo necessita de elevada quantidade de água, sendo a mesma um fator determinante do desenvolvimento inicial da planta, bem como da produtividade. Recomenda-se a irrigação nas áreas mais secas da região Sul e em locais de solo raso e arenoso. A necessidade hídrica requerida pela planta durante o período de desenvolvimento das frutas chega até 50 mm de água, semanalmente (HERTER; WREGE, 2004). O método de irrigação pode ser tanto superficial, quanto localizado por gotejamento (JUNIOR; ANTUNES, 2006).

A nutrição mineral de plantas é essencial para aprimorar o cultivo, bem como atingir altas produtividades. Os nutrientes minerais são elementos obtidos pelas plantas da solução do solo, na forma de íons inorgânicos ou não, como é o caso do ácido bórico (TAIZ et al., 2017). Para o mirtilo, a nutrição mineral é dificultada quando comparadas com outras culturas devido à falta de pelos radiculares, sendo que a função de absorção ocorre preferencialmente pelas raízes finas (BABA et al., 2018).

Dessa forma, o manejo nutricional é um dos fatores mais importantes no cultivo de mirtilo. Para o manejo convencional, qualquer tipo de fertilizante químico pode ser aplicado em doses e épocas oportunas, com base nas exigências detectadas em campo. Ao contrário, para o manejo orgânico, devem ser aplicadas fontes de fertilização autorizadas, as quais devem ser aplicadas no momento oportuno de acordo com a velocidade de entrega dos nutrientes, uma vez que muitas dessas fontes, como compostagem e adubos verdes, necessitam da atividade biológica do solo, processo que leva muito tempo para entregar alguns de seus nutrientes, como o nitrogênio (N), fósforo (P) e enxofre (S). Outros nutrientes, como potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) são entregues mais rapidamente (UNDURRAGA; VARGAS, 2013).

Em caso de fertirrigação, para o seu correto manejo é importante conhecer as exigências nutricionais do mirtilo, que variam segundo o estado fenológico das plantas. Depois da saída do recesso hibernal, as plantas começam a mobilizar as reservas acumuladas nos tecidos de reserva nas raízes e no lenho, e inicia-se a absorção radicular de água e nutrientes do solo, permitindo sustentar a brotação e o florescimento na primavera. Durante as primeiras etapas de fixação dos frutos, há intensa absorção de água e nutrientes e translocação de fotoassimilados aos órgãos em crescimento ativo, sendo necessárias aplicações substanciais de N, P, B e Ca, de metade da dose anual recomendada. Próximo à colheita é realizada uma segunda adubação com os mesmos nutrientes, em torno de 10% da dose de N anual, e entre 30 a 40% das doses anuais de K, P e Ca. Depois da colheita se realiza uma terceira adubação, visando favorecer acumulo de reservas nos tecidos da planta antes do recesso, sendo aplicada 35% da dose de N anual e entre 10 a 20% das doses anuais de K, P e Ca (VIDAL, 2007).

Diante do exposto, é imprescindível que os manejos que envolvem a propagação, condução e nutrição das mudas de mirtilo sejam realizados de maneira correta, com base nas necessidades da planta. Assim, tais estratégias permitem elevar a produtividade e qualidade dos frutos de mirtilos. Vale ressaltar a importância da avaliação individual das condições de cada produtor, como o tipo de solo, qualidade da água de irrigação, espécie cultivada e nível produtivo, a fim de potencializar a produção, qualidade dos frutos e a rentabilidade.

6 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com informações da literatura e diante dos fatos supracitados, é possível concluir que o sucesso da propagação de mirtilo depende de diversos fatores, endógenos e exógenos. Os dados da literatura são bastante limitados, o que evidencia a necessidade de estudos sobre a propagação de mirtilo, tanto sexuada quanto assexuada. Portanto, a propagação vegetativa pode ser adotada por produtores para aumentar a área de plantio, desde que em ambiente controlado e com irrigações frequentes, permitindo ser uma boa fonte de renda alternativa, devido ao alto custo das mudas de mirtilo.

REFERÊNCIAS

- ANTUNES, L.E.C.; GONÇALVES, E.D.; TREVISAN, R. **Propagação**. In: RASEIRA, M. do C.B; ANTUNES, L.E.C. A cultura do mirtilo. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p.29-36. (Documento, 121).
- ANTUNES, L.E.C.; GONÇALVES, E.D.; TREVISAN, R.; RISTOW, N.C. **Propagação**. In: ANTUNES, L.E.C.; RASEIRA, M. do C. B. Cultivo do mirtilo (*Vaccinium spp*). Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. 99 p. (Embrapa Clima Temperado. Sistemas de produção, 8).
- ANTUNES, L.E.C.; JUNIOR, C. R. **Irrigação**. In: ANTUNES, L.E.C.; RASEIRA, M. do C. B. Cultivo do mirtilo (*Vaccinium spp*). Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. 99 p. (Embrapa Clima Temperado. Sistemas de produção, 8).
- ARRUDA, J.J.P. de.; CAMELATTO, D.; NACHTIGALL, G.R.; FARIA, J.T.C. **Propagação do mirtilo (*Vaccinium ashei* Read) cv. Bluegen através de estacas semilenhosas**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 15., 1998, Poços de Caldas. Resumos... Poço de Caldas, 1998. p. 261-262.
- BRACKMANN, A. et al. **Armazenamento de mirtilo ‘Bluegem’ em atmosfera controlada e refrigerada com absorção e inibição do etileno**. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Rev. Ceres. <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2010000100002>. 2010.
- CANTUARIAS-AVILÉS, T., SILVA, S. R. D., MEDINA, R. B., MORAES, A. F. G., ALBERTI, M. F. **Cultivo do mirtilo: atualizações e desempenho inicial de variedades de baixa exigência em frio no Estado de São Paulo**. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 36, n. 1, p. 139-147, 2014.
- CARPENEDO, S.; RASEIRA, M. C. B.; FRANZON, R. C. **Importância e perspectivas para a cultura do mirtilo no Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2022. 17 p. (Documentos /Embrapa Clima Temperado, ISSN 1806-9193 ; 526).
- FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E. **Propagação vegetativa por estacaia**. In: Fachinello J. C., Hoffmann, A., Nachtigal, J. C., 31 Kersten, E. Propagação de plantas frutíferas. Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica. p. 69-109, 2005.
- FACHINELLO, J. C. **Mirtilo**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 285-576, jun. 2008.
- FACHINELLO, J.C. et al. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2.ed. Pelotas: UFPel, 1995. 179p.

FARIA, J.T.C.; CAMELATTO, D.; NACHTIGALL, G.R.; ARRUDA, J.J.P. de. **Enraizamento de estacas semilenhosas de mirtilo (Vaccinium ashei Read) cv. Powderblue.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 15., 1998, Poços de Caldas. Resumos... Poço de Caldas, 1998. p. 612.

FONSECA, L. A. B. V. **Fruticultura Brasileira: diversidade e sustentabilidade para alimentar o Brasil e o Mundo.** Portal CNA, 2022.

FRANÇA, S. **Mirtilo: uma doce e rendosa novidade.** Manchete Rural, Rio de Janeiro, n. 46, p. 32-34, 1991.

FRANZON R. C, CARPENEDO S.; SILVA J. C. S. **Produção de mudas: principais técnicas utilizadas na propagação de fruteiras.** Documentos/ Embrapa Cerrados 283. Planaltina- DF: 54p. 2010.

FRANZON, R.C.; CARPENEDO, S.; SILVA, J.C.S. **Produção de mudas: principais técnicas utilizadas na propagação de fruteiras.** Brasília: Embrapa Cerrados, 2010.

GARZÓN, A. G.; SOTO, C. Y.; LÓPEZ-R, M.; RIEDL, K. M.; BROWMILLER, C. R.; HOWARD, L. **Phenolic profile, in vitro antimicrobial activity and antioxidant capacity of Vaccinium meridionale Swartz pomace.** Heliyon, v. 6, p. e03845, 2020.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JR., F.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: principles and practices,** Prentice-Hall, ed.7, p.880, 2002.

HERTER, F. G.; WREGE, M. S. **Fatores climáticos.** In: RASEIRA, M. do C.B; ANTUNES, L.E.C. A cultura do mirtilo. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p.29-36. (Documento, 121).

HIGUCHI, M. T.; RIBEIRO, L. T. M.; SHIMIZU, G. D.; GUARIZ, H. R.; RODRIGUES, E. J.; PINTO, D. B. B.; KOYAMA, R.; ROBERTO, S. R. **Association of indolebutyric acid with rhizobacteria on the viabilityof herbaceous minicuttings of blueberry 'Brite Blue'.** Revista Brasileira de Ciências Agrárias. ISSN (on line) 1981-0997v.17, n.3, e 337, Recife, PE, UFRPE. 2022.

KREWER, G.; CLINE, B. **Dixie Blueberry News.** Blueberry growers association Newsletter, Georgia, v. 3, n. 3, 2003. 22 p.

MEDINA, C. V. et al. **Enraizamento de estacas semilenhosas de mirtileiro.** Resumos expandidos / VII Encontro sobre pequenas frutas e frutas nativas do Mercosul. p 57. 2016.

PASQUALINI, A. P. de A.; SANTOS, J. N. dos; AYUB, R. A. **Behavior and viability of blueberry seeds through germination and tetrazolium test.** Advances in Bioscience and Biotechnology, Irvine, v. 7, n. 1, p. 11-18, 2016.

PEIL, R.M. **A enxertia na produção de mudas de hortaliças.** Ciência Rural, Santa Maria, v.33, n.6, p.1169-1177, 2003.

PEREIRA, I.; TORALES, E. P.; CARVALHO, R. L.; SANTOS, C. C.; SANTOS, S. C. **Fontes alternativas de auxinas para enraizamento de estacas frutíferas.** Agrobiodiversidade: Manejo e Produção Sustentável - Volume II. Capítulo 6, p 90. 2022.

PETRI, J. L.; HAWERROTH, F. J.; LEITE, G. B., SEZERINO, A. A.; COUTO, M. **Reguladores de crescimento para frutíferas de clima temperado.** Epagri, Florianópolis, Santa Catarina, 141. 2016.

SOUZA, A. L. K.; SCHUCH, M. W.; ANTUNES, L. E. C.; SCHMITZ, J. D.; PASA, M. S.; CAMARGO, S. S.; CARRA, B. **Desempenho de mudas de mirtilo obtidas por micropropagação ou estaqueia.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.46, p.868-874, 2011.

STRIK, B. C. **How blueberry plants develop and grow.** Oregon State and University. 2005.

STRIK, B. C.; FINN, C. E.; MOORE, P. P. **Blueberry Cultivars for the Pacific Northwest.** A Pacific Northwest Extension Publication, v. 656, p. 13, 2014.

SU, M. S.; CHIEN P. J. **Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation.** Food Chemistry, 104:182-187. 2007.

SU, M. S.; SILVA, J. L. **Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) by-products as affected by fermentation.** Food Chemistry, 97:447-451. 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiología vegetal e desenvolvimento vegetal.** 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017, p. 858.

UNDURRAGA, P.; VARGAS, S. **Manual del Arándano.** Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Centro Regional de Investigación Quilamapu, Chillán, Chile. Boletín INIA N° 263, 2013, 120p.

UNICAMP - Universidade de Campinas, 2011. **Tabela Brasileira de composição dos alimentos.** 4 ed. Campinas.

U. S. Highbush Blueberry Council. **History of Blueberries.** 2022.

VIDAL, P. I. **Fertilirriego en berries.** Ed. Fac. de Agronomía de la Universidad de Concepción. Chile. 2007.

WENDLING, I. **Propagação vegetativa.** Embrapa florestas e meio ambiente. I Semana do Estudante Universitário.

WESTWOOD, M. N. **Fruticultura de Zonas Templadas.** Madrid: Mundi-Prensa, 1982, 461p.

CAPÍTULO 2

A CULTURA DA PITANGUEIRA (*Eugenia uniflora*): UMA REVISÃO SOBRE ASPECTOS DA PROPAGAÇÃO SEXUADA E ASSEXUADA

Data de aceite: 03/04/2023

Bruna Eduarda Kreling

Cristiano Tonet

Fabiel André Cossul

Jankelly Dickel Moreira

Thaís Aline Dierings

Bruna Dalcin Pimenta

uma revisão bibliográfica sobre a cultura da pitangueira, suas exigências ambientais, métodos e época para a propagação sexuada e assexuada. Assim, esta revisão é relevante aos acadêmicos e viveiristas que trabalham com o ramo da Fruticultura, por fornecer informações importantes sobre a cultura da pitangueira.

PALAVRAS-CHAVE: Fruticultura, enxertia, estacaia, propagação por sementes, época de propagação.

RESUMO: Na grande extensão territorial do Brasil é possível identificar a presença de clima tropical, subtropical e temperado, e solos com diferentes características para exploração econômica de diversas espécies frutíferas, possibilitando a oferta de frutas frescas e de qualidade para o comércio o ano todo. Tais condições favoreceram o Brasil como um dos maiores produtores mundiais de frutas. As frutíferas nativas comestíveis podem-se tornar mais uma opção de renda para os pequenos produtores, com destaque para a pitangueira. Por este motivo, é importante que os produtores e viveiristas tenham conhecimento acerca da propagação da pitangueira, seja de forma sexuada ou assexuada. Dessa forma, o presente trabalho caracteriza-se como

1 | INTRODUÇÃO

A fruticultura é o ramo da agricultura que visa produzir economicamente e racionalmente frutos em geral com o intuito de comercializar os mesmos. Esta é uma atividade de grande importância para os homens, tanto considerando os aspectos econômicos e sociais, como por representar uma importante fonte de nutrientes (ADAPEC, 2018).

Dessa forma, a fruticultura possui representatividade a nível mundial, sendo produzidos em 2021 mais de 41 milhões de toneladas de frutas, em 2,6 milhões de hectares. Cerca de 80% desta produção é

oriunda da agricultura familiar, na qual se adotam sistemas produtivos que trazem renda aos agricultores e preservam o meio ambiente (FONSECA, 2022).

Na perspectiva da produção consciente e ecológica, visando a preservação de ecossistemas, o cultivo de espécies nativas surge como ótima opção. Estas podem ser cultivadas e exploradas, de forma racional, em áreas de preservação permanente, cumprindo seu papel ambiental e propiciando renda aos agricultores (CANALRURAL, 2012).

A pitangueira é uma espécie nativa do Brasil que originalmente ocupou espaços da Mata Atlântica e também da região litorânea do Brasil. Ela apresenta boa adaptabilidade a diferentes tipos de solo e clima, sendo considerada uma opção para o produtor que deseja diversificar sua produção. Esta frutífera é uma ótima opção para reflorestamento e exploração comercial, através da venda do produto *in natura* e processados. Contudo, a escolha da forma correta de propagação e principalmente a época do ano é imprescindível para um bom estabelecimento e desenvolvimento do pomar (NOVA, 2019).

Dante do exposto, este trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica acerca da cultura da Pitangueira, bem como aspectos referentes à sua propagação, tanto sexuada quanto assexuada. Assim, se caracterizando como de grande importância aos acadêmicos e pesquisadores das áreas de fruticultura e propagação de plantas, uma vez que esta revisão aborda temáticas importantes a serem consideradas no momento da preparação das mudas para implantação de um pomar.

2 | A CULTURA DA PITANGUEIRA

A pitangueira (*Eugenia uniflora*) é uma árvore frutífera nativa da mata Atlântica do Brasil, que pertence à família Myrtaceae, a mesma do araçá, goiaba, escova de garrafa e do eucalipto. Apesar de ser tipicamente brasileira, ela pode ser encontrada em outras partes do globo, como vários países da América do Sul, América Central, América do Norte, em África e Portugal (VIEIRA, 2019).

Estima-se que no Brasil existem cerca de 500 variedades de plantas produtoras de frutas comestíveis, sendo 220 frutíferas nativas. As frutíferas nativas podem representar novo nicho de mercado para os que buscam novidades e renda adicional aos pequenos produtores (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2017). Nesse contexto, a pitangueira tem seu nome derivado do tupi “pi’tág”, que significa vermelho. É uma espécie frutífera nativa do Brasil, sendo encontrada em quase todo o território nacional, além de estar na Argentina, Paraguai e Uruguai. Possui adaptabilidade a quase todo tipo de solo. (BEZERRA; SILVA JÚNIOR; LEDERMAN, 2018).

As características botânicas da pitangueira podem atribuir a ela aspecto arbustivo e denso de 2 a 4 m de altura, embora pouco comum. Encontra-se, mais comumente, pequenas árvores de 6 a 9 m, ramificada, com copa arredondada de 3 a 6 m de diâmetro,

com folhagem persistente ou semidecídua; sistema radicular profundo, com uma raiz pivotante e numerosas raízes secundárias e terciárias (AGUIAR, 2015).

As folhas são opostas, simples, com pecíolo curto (2 mm). O limbo pode ser oval ou oval-lanceolado, de 2,5 a 7,0 cm de comprimento e 1,2 a 3,5 cm de largura; ápice acuminado-atenuado a obtuso, base arredondada ou obtusa, glabro, brilhante; coloração verde-escura e de consistência subcoriácea; as folhas jovens são verde-amarronzadas e de consistência membranácea; nervura central saliente na parte inferior. O limbo quando macerado exala um odor característico (VIEIRA, 2019).

As flores são hermafroditas, solitárias ou fasciculadas (4 a 8), na axila das brácteas sobre a base dos ramos jovens (do ano); pedicelo filiforme de 1 a 3 cm de comprimento; cálice com 4 sépalas oblongas-elípticas de 2,5 a 4,0 mm de comprimento, sendo duas inteiras maiores que as outras duas; corola com 4 pétalas, livres, branco-creme, caducas, obovaladas, de 6 a 8 mm de comprimento; estames numerosos; ovário com 2 lóculos (bilocular), com vários óvulos (às vezes 3), glabro, 8 saliências; estilete filiforme, com 6mm de comprimento, e estigma capitado (FRANZÃO & MELO, 2015).

Com relação ao florescimento, pode haver variações conforme o clima e a região. Nas regiões Sul e Sudeste, pode haver floração duas ou mais vezes ao ano e, normalmente, ocorre nos meses de agosto a dezembro, podendo ocorrer também de fevereiro a julho (DEMATTÉ, 1997). Em Pernambuco, ocorre frutificação durante duas épocas do ano: a primeira se dá nos meses de março a maio, com pico em abril; e a segunda se inicia em agosto e vai até dezembro, com pico no mês de outubro, desde que não ocorra déficit hídrico (BEZZERRA ET AL., 1995; 1997).

O fruto é uma baga globosa, deprimida nos polos, com 7 a 10 sulcos mais ou menos marcados no sentido longitudinal, de 1,5 a 5,0 cm de diâmetro, coroado com as sépalas persistentes. Quando inicia o processo de maturação, o epicarpo passa do verde para o amarelo, alaranjado, vermelho, vermelho-escuro, podendo chegar até quase o negro. O sabor é doce e ácido, e o aroma muito intenso e característico. A espessura do endocarpo é de 3 a 5 mm e sua coloração é rósea a vermelha. Normalmente, apresenta 1 semente grande ou 2 a 3 pequenas, globosas, achatadas sobre seus sulcos comuns. No sentido longitudinal mede entre 7 e 10 mm e transversal 9 e 14 mm. O tegumento é bastante aderente à amêndoia, a qual tem coloração verde-clara (FOUQUÉ, 1981; SANCHOTENE, 1985; VILLACHICA ET AL., 1996).

A composição química dos frutos é altamente variável e depende de fatores como clima e condições do solo, manejo, nutrição das plantas, estádio de maturação dos frutos, variedade, entre outros. A composição (média de 77% de polpa e 23% de semente) é rica em cálcio, fósforo, antocianina e flavonoides, carotenoides e vitamina C, indicando sua alta propriedade antioxidante conforme a Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos (UNICAMP, 2011).

A colheita da pitanga se dá de cinco a oito semanas depois da floração (em torno

de 50 dias), sendo que para a indústria os frutos devem ter 6° Brix (mínimo). O fruto é não climatérico e, portanto, não amadurece depois de colhido. De acordo com o grau de maturação, o fruto poderá ter a cor verde, amarela, alaranjada, vermelha ou mesmo negra (VIEIRA, 2019).

Os frutos são colhidos manualmente, quando apresentam uma coloração vermelho-rubro. e devem ser colocados em caixas plásticas, sem aberturas laterais e protegidas por esponja, que permitam formar uma coluna de frutos de até 15 cm. As caixas devem ser postas à sombra e cobertas com lonas ou plástico, a fim de evitar lesões, deposição de poeira e queimaduras do sol (BEZERRA *et al.*, 1995).

É um fruto pouco produzido comercialmente, pois quando madura é bastante vulnerável à depreciação, tornando-se de difícil conservação e armazenamento ao natural, o que dificulta o seu transporte e comercialização a grandes distâncias, visto que suportam no máximo 24 horas em temperatura ambiente. É aconselhável realizar colheitas periódicas dos frutos, uma vez que quando estão maduros caem no solo e a queda provoca estragos e compromete a sua qualidade. Os frutos completamente maduros são muito frágeis e qualquer choque ou atrito provocam ruptura da película, e a polpa entra rapidamente em fermentação (FRANZÃO & MELO, 2015). Geralmente, conserva-se no frio a 8°C, com umidade de 90 a 95 % em até cinco dias (AGUIAR, 2015)

No Brasil e particularmente no Nordeste, a pitanga é consumida ao natural, mas sua principal utilização está no aproveitamento em industrial e doméstico dos frutos para o preparo de polpas e sucos. Também é utilizado na fabricação de sorvete, picolé, doces, tartes, refresco, geléia, licor e vinho, além do consumo *in natura* (DONADIO, 1983; FERREIRA ET AL., 1987; LEDERMAN ET AL., 1992). Rau (2018) afirma que seu potencial de utilização é ressaltado quando se considera que o seu fruto de sabor exótico é fonte de calorias (38 a 40 Kcal/100 g polpa), rico em vitamina A e C, complexo B e algum, cálcio, ferro e fósforo.

Além da importância e possibilidades diversas de utilização dos frutos, também podem ser utilizadas as demais partes da planta de forma comercial. A madeira é utilizada na confecção de ferramentas e instrumentos agrícolas, a qual proporciona leveza e adaptabilidade aos diferentes serviços. As pitangueiras são ótimas plantas para formar sebes ou “cercas” (semelhantes aos buxos), adaptando-se muito bem às podas. Tem importância medicinal, na qual as folhas são usadas para combater a febre, gripes, diarréia, gota e reumatismo, devido a presença de licopeno, o que torna esta planta um poderoso antioxidante. Não obstante, a planta também é muito apreciada pelas abelhas que elaboram um mel muito saboroso, que pode ser produzido e comercializado (BEZERRA *et al.*, 2017).

A pitangueira, geralmente, inicia a sua produção a partir do segundo ou terceiro ano após o plantio, aumentando gradativamente até o sexto ano, quando se estabiliza. O rendimento médio de frutos em matrizes com 11 anos de idade é em torno 15,0 a 20,8 kg ao ano. Em condições de irrigação, a produção pode ser maior e o pico ou estabilização

alcançada em menor tempo. (LEDERMAN *et al.* 1992).

A pitangueira vegeta e produz muito bem em climas quentes e úmidos. Contudo, adapta-se bem ao clima temperado e a diferentes altitudes, tolerando frio até 0°, sendo que com -1° C sofre parada em seu crescimento. As temperaturas ótimas situam-se entre os 23 e os 27 °C, sendo a temperatura máxima 35 °C (VIEIRA, 2019).

3 I EXIGÊNCIAS PARA O ESTABELECIMENTO DA CULTURA

Aprecia solos leves, profundos, férteis, enriquecidos com matéria orgânica e húmidos, mas com uma boa capacidade de drenagem. Apesar disso, consegue crescer adequadamente em diferentes tipos de solo, tanto nos tipos arenosos (como os de restinga) quanto nos areno-argilosos, argiloso-arenosos, argilosos e até mesmo em solos pedregosos. Não gosta de solo alcalino, sendo o ideal o pH entre os 5,5 e 6,5. Não tolera a salinidade ou a estiagem prolongada. A necessidade hídrica desta cultura é de cerca de 1500 mm de água ao ano. (SANCHOTENE, 1985; VILLACHICA *et al.*, 1996; DEMATTÉ, 1997).

É resistente a ventos fortes, geadas ou mesmo temperaturas negativas. Requer sol pleno e um ambiente com umidade média a alta, entre os 70 e os 80 %. Apresenta certa tolerância à seca, desenvolvendo-se bem em condições semiáridas, desde que se proporcione uma mínima quantidade de água, contudo é medianamente tolerante a solos encharcados (AGUIAR, 2015).

A planta é capaz de resistir a podas intensas e frequentes, contudo quando exagerada ela compromete a frutificação seguinte. Recomenda-se a realização de uma poda de limpeza, que elimine ramos fracos, secos, doentes, indesejados ou muito mal posicionados, principalmente no interior da planta de modo a permitir uma boa entrada de luz (VIEIRA, 2019). Outra recomendação é que seja feita uma poda para manter o porte da planta um pouco menor que permita a colheita sem a necessidade de escadas ou outro tipo de equipamento. A melhor altura é o início da primavera (NOVA, 2019).

O processo de implantação da cultura no campo deve seguir algumas etapas, a fim de que se tenha sucesso na atividade. Assim, após a escolha do local, o terreno deve ser arado e gradeado. Em seguida, realiza-se a medição da área e com o auxílio da régua de plantio e de piquetes, marca-se o local de abertura das covas, que deverão ter as dimensões de 0,35 x 0,35 x 0,35 m. Logo depois de separar a camada superior da inferior. À primeira camada misturam-se os fertilizantes recomendados, enchendo-se novamente a cova, a qual torna-se pronta para o plantio (BEZERRA *et al.*, 1997).

O espaçamento recomendado para terrenos com declividade entre 10-40% é o de 4x4m (721 plantas/ha) em quincônico. Para declividades de 0-10% utiliza-se o de 4x5m (500 pl/ha) em retângulo, ou 4x4m em quadrado (625 plantas/ha). Nos três primeiros anos após a implantação da cultura, podem-se utilizar os espaços entre as plantas com culturas

temporárias ou mesmo com outras espécies frutícolas, como mamoeiro ou maracujazeiro (FRANZÃO; MELO, 2015).

Uma outra opção, é utilizar, inicialmente, o espaçamento de 1x1m (10.000 plantas/ha) eliminando-se, alternadamente, uma planta, quando as copas começarem a se tocar, ficando no espaçamento de 2x2m (2.500 plantas/ha). Novamente, quando as copas começarem a se entrelaçar, aumentando a competitividade, pode-se eliminar uma ou outra planta, alternadamente, dando-se assim, o espaçamento definitivo de 4x4m. Adotando-se essa prática, a produtividade inicial e intermediária será bem maior, não havendo nenhum prejuízo na população do pomar a ser formado (BEZERRA *et al.*, 2017).

A época adequada para o plantio da pitanga, segundo Nova (2019), acontece do mês de maio até o final do inverno. Contudo, deve-se priorizar o plantio das mudas no início da estação chuvosa, de preferência em dias nublados, para evitar o ressecamento das mudas, ou em qualquer época do ano caso haja condições de utilizar a irrigação (VIEIRA, 2019).

Para o plantio, a muda deve ser colocada na cova, com o caule no centro da régua de plantio, de maneira que o colo fique um pouco acima do solo. Recomenda-se fazer, logo após o plantio, uma rega com cerca de 10 litros de água e, se possível, fazer cobertura morta, com capim seco ou outro material disponível, ao redor das mudas recém-plantadas, a fim de diminuir a evaporação (BEZERRA *et al.*, 2017)..

A adubação das covas pode ser feita com estrume de cabras, peru, porco, bem decompostos, além de farinha de ossos e composto. Também é recomendada que se faça a implantação de plantas de cobertura e adubação verde, como feijão, soja e favas, pois além de proteger o solo no período inicial de desenvolvimento do pomar, garantirá aporte de nutrientes para a frutífera (RAU, 2018).

De modo geral, deve-se fazer a coleta e análise de solo para determinação da correta adubação e calagem da área. Desta forma, no primeiro ano, aplicar todo fósforo, 30 a 60 dias antes do plantio, juntamente com 10 litros de esterco de curral, ou no plantio com este fertilizante ou o equivalente de outro fertilizante orgânico. O nitrogênio e o potássio devem ser fractionados em duas vezes, durante a estação chuvosa. As fertilizações de nitrogênio e potássio, a partir do segundo ano, devem ser divididas em três aplicações, durante o período das chuvas, enquanto o fertilizante fosfatado deve ser aplicado de uma só vez, juntamente com as primeiras doses de nitrogênio e de potássio (FRANZÃO; MELO, 2015).

Todos os fertilizantes minerais devem ser colocados na projeção da copa, fazendo-se a incorporação. Já a adubação orgânica deve ser praticada anualmente, no início da estação chuvosa, com a mesma dosagem aplicada no plantio. Caso haja necessidade de correção do solo, que é definida pela análise de solo, deve-se realizar a calagem com calcário dolomítico, no mínimo 30 dias antes do plantio, entre as operações de aração e gradagem (VIEIRA, 2019).

A partir do 1º ano do plantio, deve-se fazer uma poda retirando-se os ramos ladrões.

A planta deve ser desbastada desde o solo até a altura de formação da copa (50 a 60cm), onde deverá ser decapitada deixando-se 3 a 4 ramos, procurando-se dar à mesma um formato de taça e facilitando com isso, os tratos culturais. As podas não deverão ser feitas nas fases de florescimento e frutificação (BEZERRA *et al.*, 2017).

Franzão & Mello (2015) destacam a importância das capinas, uma vez que a pitangueira deve ser mantida no limpo, fazendo-se o coroamento manual ou com herbicidas. Esta prática é imprescindível para evitar a matocompetição, evitando que as plantas daninhas dominem ou causem perdas na frutífera, em especial na fase inicial de desenvolvimento.

A irrigação para a cultura da pitangueira ainda está sendo estudada, apresentando em determinadas regiões bons desempenhos, sendo estes refletidos em produtividade. Na escolha do sistema de irrigação a ser adotado, é importante evitar que a planta seja submetida a estresses hídricos, sendo recomendado manter o nível de armazenamento de água no perfil do solo próximo da capacidade de campo. Diversos métodos são utilizados para irrigar a cultura: gotejamento, microaspersão, xique-xique, sulcos e bacias par queda natural. Os três primeiros são as melhores opções, por localizarem melhor a água na zona de concentração radicular, além de criarem ambiente de umidade na parte aérea e promoverem maior economia de água (BEZERRA, 1997).

3.1 Métodos de propagação

A propagação sexuada, realizada por meio de sementes, é o método principal em que as plantas se reproduzem na natureza, é um dos mais eficientes, além de ser considerado um método simples para a produção de mudas (FALEIRO *et al.*, 2019). Plantas oriundas da reprodução via sementes podem apresentar grande variabilidade genética, porém, na fruticultura os produtores buscam uniformidade genética na implantação do pomar comercial (FRANZON *et al.*, 2010). Mesmo assim, de acordo com Aguiar (2015), a propagação da pitangueira é realizada principalmente por meio de sementes.

A maioria dos pomares brasileiros de pitangueira é formado por mudas do tipo pé-franco, ou seja, resultantes da propagação por sementes. Mudas assim propagadas não são recomendadas para a formação de pomares comerciais, pois além de retardar o início da produção de frutos, desenvolvem plantas desuniformes, quanto ao crescimento, floração e frutificação dificultando as atividades de manejo da cultura, inclusive a própria colheita (LIRA JÚNIOR *et al.*, 2007).

Considerando-se a expansão e o elevado potencial de cultivo agroindustrial da pitangueira, recomenda-se a substituição de pés-francos por mudas propagadas vegetativamente (BEZERRA *et al.*, 2000) de variedades selecionadas, assegurando a formação de pomares com populações de plantas homogêneas (BEZERRA *et al.*, 2017). Além disso, se obtém mudas com menor variabilidade genética e de melhor qualidade, além de maior produtividade (VIEIRA, 2019). Desse modo, os itens a seguir descrevem os

métodos de propagação sexuada e assexuada, bem como suas vantagens e desvantagens.

3.1.1 Propagação sexuada

A propagação por sementes, atualmente o método mais utilizado para a produção de mudas desta myrtaceae, apresenta como inconvenientes a grande variabilidade entre as plantas e também na produção, frutificação baixa e mais tardia, qualidade de frutos, entre outros (FRANZÃO, 2008).

Nesse tipo de propagação, deve-se colher frutos maduros, despolpar as sementes, lavá-las em água corrente, colocá-las para secar à sombra e semeá-las o mais rápido possível, visando garantir o seu potencial germinativo. Semeiam-se duas sementes por saco plástico preto, de 12 x 16 cm, contendo substrato resultante da mistura de terra e esterco bovino ou de ave curtido, na proporção 6:1 e 3:1, respectivamente. O substrato deve ser irrigado e o saco plástico coberto com capim seco, objetivando conservar um teor adequado de umidade no substrato e garantir a germinação das sementes em, aproximadamente, 22 dias (LIRA JR; BEZERRA & LERDEMAN, 2021).

Após a germinação, o capim seco deve ser retirado e as plântulas protegidas por uma cobertura de 1,0 m de altura na direção do nascente e 0,6 m de altura na direção do poente, visando evitar a exposição das plântulas ao sol nas horas mais quentes do dia. O desbaste deve ser realizado quando as plântulas atingirem cerca de 5 cm de altura, cortando-se a menos vigorosa rente à superfície do substrato. Quando as mudas atingem cerca de 25 cm de altura, normalmente 6 meses após a semeadura, realizam-se os transplantios para o local definitivo de cultivo (FRANZÃO & MELO, 2015).

A propagação por sementes apresenta inconvenientes, como a grande variabilidade entre as plantas e também na produção, baixa frutificação, início tardio de frutificação, menor qualidade de frutos, dificuldade de manejo do pomar entre outros. Por estes motivos, para formação de pomares comerciais é recomendado uso de mudas provenientes de propagação assexuada (FRANZÃO, 2015). Porém, as mudas originadas a partir das sementes devem ser utilizadas na formação de porta-enxertos para propagação vegetativa de cultivares de alto rendimento agrícola e industrial, adaptadas às condições de solo e clima da região de cultivo (LIRA JR; BEZERRA & LERDEMAN, 2021).

3.1.2 Propagação assexuada

Uma alternativa para a produção de mudas com características idênticas à planta matriz é através da propagação assexuada. Através desta técnica é possível a formação de pomares homogêneos quanto à produtividade, qualidade do fruto, precocidade e tolerância às pragas e doenças, além da antecipação do início da produção comercial, a partir da redução da fase juvenil da planta (LIRA JÚNIOR *et al.*, 2007).

A propagação assexuada, vegetativa, ou clonal, consiste na multiplicação de

indivíduos a partir de porções vegetativas das plantas, devido à capacidade de regeneração dos órgãos vegetativos (HARTMANN et al., 1990). Entretanto, para que se tenha sucesso na enxertia, deve-se tomar alguns cuidados, tais como: época adequada de executá-la e características dos ramos a serem utilizados, métodos e técnicas a utilizar, e compatibilidade entre copa e porta-enxerto (FRANZON, 2008).

Diferentes métodos de enxertia são conhecidos: a borbulhia, a garfagem e a encostia, existindo ainda variações desses três tipos. No Sul do Brasil, em espécies fruteiras propagadas comercialmente durante o período de repouso vegetativo, normalmente utiliza-se a enxertia de garfagem, a qual é realizada principalmente nos meses de julho e agosto (FACHINELLO et al., 2005).

A propagação vegetativa pode ser obtida por enxertia do tipo garfagem no topo em fenda cheia ou à inglesa simples, utilizando-se porta-enxerto da própria pitangueira com 9 ou 12 meses de idade, produzidos em sacos plásticos pretos de 25 x 35 cm. Os percentuais de pegamento podem variar conforme o tipo de enxertia e a idade do porta-enxerto (BEZERRA et al., 2017).

Na técnica de garfagem no topo em fenda cheia, utiliza-se um canivete de enxertia afiado para cortar a parte apical do porta-enxerto aos 20 cm de altura. Em seguida, abre-se uma fenda longitudinal com 2,5 cm de profundidade, a partir da área central do corte apical, que permitirá o encaixe do garfo. Na extremidade inferior do garfo a ser enxertado, realiza-se um corte em forma de cunha, com dimensões que permitam o perfeito encaixe na fenda aberta do porta-enxerto. Após encaixar o garfo no porta-enxerto, deve-se amarrar uma fita plástica (fitilho) na região de união entre essas partes, visando promover maior contato entre os tecidos do câmbio vascular. Cobre-se o garfo com saco plástico transparente, amarrando-o abaixo do ponto da enxertia, evitando o ressecamento dos tecidos (CARVALHO & NASCIMENTO, 2016).

Na técnica de garfagem inglesa simples, corta-se o topo do porta-enxerto em bisel, a uma altura de 20 cm. A extremidade inferior do garfo deve ser cortada, também em bisel, na mesma dimensão do porta-enxerto. Em seguida, realiza-se a união entre as superfícies cortadas do garfo e do porta-enxerto. No local da enxertia, amarra-se o fitilho, de baixo para cima, e cobre-se o garfo com saco plástico transparente, amarrando-o abaixo do ponto da enxertia para evitar o ressecamento dos tecidos (GOMES et al., 2010).

Além dos dois tipos enxertia acima citados, tem-se ainda a borbulhia de placa em janela aberta que também pode ser utilizada na produção de mudas de pitangueira. Nesse procedimento devem ser utilizados porta-enxertos com 12 meses de idade. Em condições de viveiro, esse tipo de enxertia apresenta um razoável percentual de pegamento dos enxertos de 56,7% (LIRA JR; BEZERRA & LERDEMAN, 2021).

A estaquia é uma técnica de propagação vegetativa largamente utilizada na produção comercial de mudas, com boa qualidade e em curto espaço de tempo (OLIVEIRA et al., 2001). Esta técnica pode ser empregada utilizando-se estacas semilenhosas especiais

com relação ao substrato, uso de fito-hormônio e utilização de sistema de nebulização intermitente (FRANZÃO & MELO, 2015).

O processo de formação de raízes em estacas é influenciado por um grande número de fatores, que podem atuar isoladamente ou em conjunto. Dentre esses, destacam-se as condições fisiológicas da planta matriz (presença de carboidratos, substâncias nitrogenadas, aminoácidos, auxinas, exsudação de compostos fenólicos e outras a presença ou não de substâncias não identificadas como os cofatores), a época, posição de coleta e diâmetro das estacas, a juvenilidade, o estiolamento, a presença de folhas e gemas, a idade da planta matriz e os fatores do ambiente, como disponibilidade de água, luminosidade e substrato (HARTMANN *et al.*, 1990).

Em plantas lenhosas, à medida que o diâmetro do tronco aumenta, maior é o estado de lignificação do lenho e maior é a dificuldade de cicatrização e união entre enxerto e porta-enxerto. Outro problema, especialmente em espécies da família Myrtaceae, é a oxidação de compostos fenólicos, que dificulta a formação do calo e o processo de cicatrização (FACHINELLO ET AL., 2005). Em função disto, opta-se pela utilização de porta-enxertos mais jovens e com diâmetro reduzido, ou seja, menos lignificados e menor atividade de oxidação. No caso de plantas muito lignificadas e com alta atividade de oxidação de compostos fenólicos, como a pitangueira, pode-se optar pela realização da enxertia em porta enxertos com diâmetro de 2 a 4 mm, na região do enxerto. Utilizando-se de um porta-enxerto mais juvenil, as células do parênquima estarão menos lignificadas, e menor será a reação de oxidação, o que poderá facilitar o processo de união e pegamento do enxerto (FRANZON *et al.*, 2008).

Outra forma de propagação é através do cultivo in vitro. Este é um método viável para propagação de diversas espécies frutíferas, podendo ser utilizado também com as espécies nativas proporcionando a formação de pomares com populações de plantas homogêneas além de acelerar os métodos de propagação convencional (SOUZA *et al.*, 2007). Entretanto, ainda é uma técnica nova, se comparada às demais e que vem sendo testada e ajustada, a fim de se obter melhores desempenhos, inclusive para a pitangueira.

4 | ÉPOCA DE PROPAGAÇÃO E CONSEQUÊNCIAS

A semeadura da pitangueira, a partir de frutos maduros e despolpados, pode ser feita o ano inteiro. No entanto, há um consenso na literatura de que a semeadura para a produção de mudas deve ser realizada em meses chuvosos, como outubro e novembro (RODRIGUES, 2022), uma vez que o ponto de maturação dos frutos ocorre entre os meses de outubro a janeiro (LORENZI, 1998). Após a extração, as sementes de pitangueira devem ser mantidas à sombra, pelo fato de serem recalcitrantes e não toleram a dessecação diretamente ao sol (SENA *et al.*, 2010), pois com isso aumenta-se a manutenção da umidade em faixa que não comprometa a perda de viabilidade (HOSSEL, 2016).

A época de realização e os métodos de enxertia são fatores externos que afetam o sucesso de pegamento dos enxertos. Normalmente, em espécies lenhosas caducifólias, como no caso das fruteiras de clima temperado, os melhores índices de pegamento são obtidos quando a enxertia é realizada no período de repouso vegetativo (HARTMANN et al., 1990; FACHINELLO et al., 2005). No Sul do Brasil, em espécies fruteiras propagadas comercialmente durante o período de repouso vegetativo, normalmente utiliza-se a enxertia de garfagem, a qual é realizada principalmente nos meses de julho e agosto (FACHINELLO et al., 2005).

Franzon *et al.* (2013) testando diferentes porta-enxertos e épocas de propagação de pitangueira, concluiu que a saída do inverno, na primeira quinzena do mês setembro, é a época mais apropriada para a propagação vegetativa da pitangueira através da enxertia de garfagem. Esta recomendação se baseou no melhor pegamento dos enxertos realizado, provavelmente por coincidir com a saída de dormência da espécie.

Lattuada (2014) realizou pesquisas a cerca de estaquia de pitangueira, trabalhando com diferentes concentração de hormônios promotores de enraizamento e diferentes épocas de propagação. Neste estudo, a autora observou maior pegamento das estacas quando esta técnica foi realizada na saída do inverno. Este fato foi atribuído ao estado fisiológico das plantas, onde as mesmas estavam saindo do período de dormência e com metabolismo mais acelerado, favorecendo o enraizamento das estacas.

No entanto, as informações acerca da cultura da pitangueira não são amplamente divulgadas na literatura. Por isso, muitos critérios sobre a propagação sexuada e assexuada deveriam ser estudados e divulgados, a fim de permitir a orientação dos produtores e viveiristas que propagam esta cultura.

5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com informações da literatura e diante dos fatos supracitados, existem boas perspectivas para comercialização dos frutos de frutíferas nativas, tornando-se alternativa de renda aos produtores rurais. Entretanto, é de extrema necessidade a adequada propagação destas espécies, aliando-se as informações de conhecimento, desenvolvimento, manejo e técnicas de propagação visando primeiramente a obtenção da muda de qualidade e, por conseguinte, a produção de frutos.

Assim, o método de propagação da pitangueira para a formação da muda exerce influência direta sobre o comportamento das plantas em pomar nos primeiros anos. Portanto, a implantação de mudas de qualidade, bem como a condução adequada das mesmas, proporcionarão maior produção por área e, consequentemente, maior retorno econômico ao produtor.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, M. da G. C. de F. **Cultura da Pitangueira**. 2015.
- ANTUNES, L. E. C.; PICOLOTTO, L.; VIGNOLO, G. K.; GONCALVES, M. A. **Influência do substrato, tamanho de sementes e maturação de frutos na formação de mudas de pitangueira**. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 34, n. 4, p. 1216-1223, Dezembro 2012.
- BEZERRA, J.E.F.; FREITAS, E.V.; LEDERMAN, I.E.; DANTAS, A.P. **Performance of Surinam cherry (*Eugenia uniflora* L.) in Pernambuco, Brazil**. II - Productive period 1989-1995. Acta Horticulturae, 452, 137-142, 1997.
- BEZERRA, J.E.F.; LEDERMAN, I.E.; PEDROSA, A.C.; DANTAS, A.P.; FREITAS, E.V. de. **Performance of Surinam cherry (*Eugenia uniflora* L.) in Pernambuco, Brazil**. Acta Horticulturae, Wageningen, n. 370, p. 77-81, 1995.
- BEZERRA, J. E. F.; LIRA, J. S. Jr.; SILVA, J. F. JR. ***Eugenia uniflora***. EMBRAPA. 2017.
- BEZERRA, J.E.F.; SILVA JUNIOR, J.F.da; LEDERMAN, I.E. **Pitanga (*Eugenia uniflora* L.)**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 30p. (Série Frutas Nativas, 1).
- CARVALHO, J. E. U.; NASCIMENTO, W. M. O. **Enxertia da castanheira -do-brasil pelo método de garfagem no topo em fenda cheia**. Comunicado técnico 283. ISSN 1983-0505. Julho, 2016. Belém, PA.
- DONADIO, L. C. **Fruticultura para pomares domésticos**. Jaboticabal, SP: UNESPFCAV, 1983.
- FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221p.
- FERREIRA, F.R.; FERREIRA, S.A.N.; CARVALHO, J.E.U. **Espécies frutíferas pouco exploradas, com potencial econômico e social para o Brasil**. Revista Brasileira de Fruticultura, 9 (ed extra), 11-22, 1987.
- FONSECA, L. A. B. V. **Fruticultura Brasileira: Diversidade e sustentabilidade para alimentar o Brasil e o Mundo**. CNA. 2022.
- FRANZÃO, A.A.; MELO. B. **Cultura da Pitangueira**. UFU. 2015.
- FRANZON, R. C.; GONSALVES, R. da S.; ANTUNES, L. E. C.; RASEIRA, M. do C. B.; TREVISAN, R. **Propagação da pitangueira através da enxertia de garfagem**. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 30, n. 2, p. 488-491 Junho 2008.
- FRANZON, R. C.; GONÇALVES, R. da S.; RASEIRA, M. do C. B.; ANTUNES, L. E. C. **Porta-enxertos e Épocas de Enxertia na Propagação da Pitangueira (*Eugenia uniflora*)**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Embrapa Clima Temperado, ISSN 1678-2518 ; 185. 2013. 18 p.
- FRANZON, R. C. **Propagação Vegetativa da Pitangueira por Enxertia**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Embrapa Clima Temperado. Pelotas, RS. ISSN 1678-2518; 233. 2015. 22 p.

FRANZON, R. C. **Propagação vegetativa e modo de reprodução da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.).** Tese (Doutorado em Fruticultura de Clima Temperado). Pelotas, RS. 2008. 100f. : il.

GIACOMETTI, D.C. **Recursos genéticos de fruteiras nativas do Brasil.** In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1992, Cruz das Almas, BA. Anais... Cruz das Almas, BA: EMBRAPA-CNPMF, 1993, p. 13-27.

GOMES, W. A.; MENDONÇA, R. M. N.; SOUZA, E. P.; ESTRELA, M. A.; MELO, V. S.; SILVA, S. M.; SOUZA, A. P. **Garfagem e diâmetro de porta-enxerto na obtenção de mudas de umbuzeiro do acesso Laranja.** Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 32, n. 3, p. 952-959, Setembro 2010.

HARTMANN, N.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JUNIOR, F.T. **Plant propagation: principles and practices.** 5^a ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1990. 647p.

LEDERMAN, I.E.; BEZERRA, J.E.F.; ASCHOFF, M.N.A.; SOUSA, I.A. de M.; MOURA, R.J.M. de. Oferta e procedência de frutas tropicais nativas e exóticas na CEASA-Pernambuco. Revista Brasileira de Fruticultura, Cruz das Almas, v.14, n.3, p.203-209. 1992.

LIRA JUNIOR, J.S.; BESERRA, J.E.F.; LEDERMAN, I.E.; SILVA JUNIOR, J.F. **Pitangueira.** Recife: Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, 2007. 87p.

LIRA, J. S. JR.; BEZERRA, J. E. F. LERDEMAN, I. E. **Propagação.** EMBRAPA. 2021.

NOVA, T. B. **Pitanga é uma opção para o produtor que deseja diversificar a sua renda.** EMBRAPA. 2019.

OLIVEIRA, M.C.; RIBEIRO,J.F.; RIOS, M.N.S.; REZENDE,M.E. **Enraizamento de estacas para a produção de mudas de espécies nativas de matas de galeria.** In: RECOMENDAÇÃO Técnica, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 2001.

SOUZA, J.A.; SCHUCH, M.W.; SILVA, L.C. da.; FERRI, J.; SOARES, G.C. **Solidificante no meio de cultura e tamanho do explante no estabelecimento da propagação in vitro de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.).** Revista Brasileira de Agrociêncnia, Pelotas, v.13, n.1, p.115-118, 2007.

VIEIRA, M. **Cultura da Pitangueira.** 2019.

CAPÍTULO 3

A ESSENCIALIDADE DO BORO NA NUTRIÇÃO DO GIRASSOL E DE ANIMAIS

Data de submissão 07/03/2023

Data de aceite: 03/04/2023

Níbia Sales Damasceno Corioletti

Universidade Estadual de Goiás – UEG –
São Luís de Montes Belos-GO
<http://lattes.cnpq.br/1946912026519162>

José Henrique da Silva Taveira

Universidade Federal de Lavras – UFLA
– Lavras-MG e Universidade Estadual de
Goiás – UEG – Santa Helena de Goiás-
GO
<http://lattes.cnpq.br/1359434613878518>

Luciane Cristina Roswalka

Universidade Federal de Lavras – UFLA
– Lavras-MG e Universidade do Estado
de Mato Grosso – UNEMAT – Nova
Xavantina - MT
<http://lattes.cnpq.br/5207564077071838>

Patrick Bezerra Fernandes

Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul – UFMS- e Faculdade Unibrás do
Pará – Ourilândia do Norte – PA
<http://lattes.cnpq.br/6556460979927382>

Sidinei Corioletti

Universidade do Estado de Mato Grosso –
UNEMAT – Nova Xavantina – MT
<http://lattes.cnpq.br/3809678492567994>

Robson Lopes Cardoso

Universidade Estadual de Goiás – UEG-
São Luís de Montes Belos – GO
<http://lattes.cnpq.br/2587137837247549>

Claudia Peixoto Bueno

Universidade Federal de Goiás- UFG –
Goiânia-GO e Universidade Estadual de
Goiás – UEG-
São Luís de Montes Belos – GO
<http://lattes.cnpq.br/0790654390056879>

Pedro Rogério Giongo

Universidade de São Paulo USP/ESALQ
e Universidade Estadual de Goiás –UEG-
Santa Helena de Goiás – GO
<http://lattes.cnpq.br/7722106627371401>

Danilo Corrêa Baião

Universidade Estadual de Goiá- UEG- São
Luís de Montes Belos – GO
<http://lattes.cnpq.br/1227904241487342>

RESUMO: O girassol é uma planta anual produtora de grãos e forragem, frequentemente utilizada na alimentação animal em diversos países e que encontra-se em franco crescimento no Brasil. Constitui-se em uma das culturas mais sensíveis a privação do nutriente boro (B),

sendo o nutriente requerido em todas as etapas de desenvolvimento, principalmente, durante o estágio reprodutivo onde a demanda por B ocorre de maneira mais acentuada. Ao longo dos anos o B também tem sido relatado como micronutriente essencial para os animais. Concentrações de B dentro da faixa ideal, são benéficas para que processos metabólicos, fisiológicos e biológicos sejam desempenhados de forma eficiente. Nesta revisão de literatura, aborda-se sobre a dinâmica de funções, mecanismos de transporte e absorção de B, bem como a interação de boro no solo, resposta do girassol a aplicação de boro, deficiência, toxicidade, relação de boro com a salinidade, uso do girassol na alimentação animal e relação boro e nutrição animal.

PALAVRAS-CHAVE: *Helianthus annuus* L., deficiência, fitotoxicidade.

THE ESSENTIALITY OF BORON IN SUNFLOWER AND ANIMAL NUTRITION

ABSTRACT: Sunflower is an annual plant that produces grains and forage, widely used in animal feed in several countries and which is growing rapidly in Brazil. It constitutes one of the most sensitive cultures to B deprivation, being the nutrient required in all stages of development, mainly, during the reproductive stage where the demand for B occurs in a more accentuated way. Over the years boron has also been reported as an essential micronutrient for animals. Boron concentrations within the optimal range are rewarded so that metabolic, physiological and biological processes are efficiently marketed. This literature review addresses the dynamics of functions, control of B transport and absorption, as well as the interaction of boron in the soil, sunflower response to boron application, deficiency, toxicity, boron relationship with salinity, Use of sunflower in animal feed and relationship between boron and animal nutrition.

KEYWORDS: *Helianthus annuus* L., deficiency, phytotoxicity.

1 | INTRODUÇÃO

No Brasil, o girassol (*Helianthus annuus* L.) ocupa área de 39,3 mil hectares com produção de 40,8 mil toneladas, aproximadamente. Na safra 2021/2022, a maior região produtora está localizada na região Centro-Oeste, e apresentou produção de 36,4 milhões de toneladas, com média de produtividade de 998 kg ha⁻¹, em 36,5 mil hectares de área plantada (CONAB, 2022).

O girassol, é uma cultura oleaginosa e, tornou-se conhecido mundialmente devido a qualidade nutricional do óleo (KOSTOVA, 2010), e quantidade tendo se apresentado como a quarta maior fonte de óleo vegetal comestível, juntamente com a soja (*Glycine max*), a palma forrageira (*Opuntia cochenillifera*) e a canola (*Brassica napus*) (FERNÁNDEZ-MARTINEZ et al., 2008).

Vale ressaltar que o valor da cultura se encontra além da produção de óleo vegetal comestível, pois vem sendo utilizado na nutrição humana (óleo, sementes e farinha das sementes) e animal (farelo e silagem; sementes para pássaros), para a produção de biodiesel, medicamentos e cosméticos, na apicultura, na floricultura e no paisagismo como planta ornamental e como adubação verde. Na alimentação animal, utilizado principalmente

na forma de farelo (MAHERI-SIS et al., 2011) e como forrageira para a produção de silagem (NURK et al., 2016), apresentando teores de proteína bruta e extrato etéreo superiores aos encontrados no milho, com produção de matéria seca entre 19 a 25% (MAFAHER et al., 2010).

Dentre os fatores que podem afetar o rendimento da cultura, atenção deve ser dada a nutrição, especialmente com boro (B) e o nitrogênio (N) considerados como elementos minerais essenciais para o crescimento do girassol (ALVES et al., 2017). O fornecimento de doses adequadas de B proporcionam o aumento da produção de aquênios, nos índices da extração do óleo, da atividade fotossintética e na viabilidade do grão de pólen (ALVES et al., 2017), sendo verificada a produção limitada pela baixa disponibilidade de B no solo (NETO et al., 2014).

A essencialidade do B vem sendo relatada também na nutrição animal influenciando o desenvolvimento e ou sanidade de frangos de corte (JIN et al., 2014) ovinos (SIZMAZ et al., 2017), ruminantes (KABU; CIVELEK, 2012; KABU; AKOSMAN, 2013; KABU et al., 2013), suínos (ARMSTRONG et al., 2000; ARMSTRONG; SPEARS, 2001; ARMSTRONG et al., 2002), e peixes (ROWE; ECKHERT 1999), sendo recomendada a suplementação dietética deste.

Diante do exposto, a presente revisão teve por objetivo a busca e compilação de informações sobre a resposta do girassol e animais ao suprimento nutricional de boro.

2 | REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Funções e mecanismos para absorção e transporte de boro

O B foi associado a vários processos fisiológicos e metabólicos que ocorrem nos vegetais desempenhando funções como metabolismo de N (nitrogênio) e P (fósforo), translocação de açúcares, metabolismo de carboidratos e absorção de ânions e cátions (AL-AMERY; HAMZA; FULLER, 2011); desenvolvimento do tubo polínico (DECHEM; NANCHIGALL, 2006; BERTI et al., 2019); crescimento do grão de pólen (ASAD et al., 2001; BERTI et al., 2019); e, manutenção da estabilidade da parede celular, crescimento dos meristemas e na permeabilidade das membranas celulares, de forma que sua deficiência compromete fortemente o crescimento das plantas (LIMA et al., 2013).

O desenvolvimento do pólen e do tubo polínico está diretamente relacionado com a fecundação da flor, exercendo um papel importante nos processos de carboidratos, açúcares, RNA, DNA, paredes celulares, divisão celular e desenvolvimento de tecidos, além da qualidade do néctar com a finalidade de atrair insetos para a polinização (BERTI et al., 2019). A maior taxa de absorção de nutrientes pelo girassol foi observada logo após a formação do botão floral e se estendendo até o florescimento, fases de consumo de água elevado, de modo que tanto os nutrientes presentes no solo quanto o volume de água dentro do sistema devem suceder de forma equilibrada (CASTRO et al., 2006).

A absorção de B pelas plantas, ocorre a partir de três mecanismos distintos caracterizados pelo transporte passivo através da membrana plasmática por difusão simples, não envolvendo gastos metabólicos, que só acontece mediante a presença de altas quantidades do micronutriente na solução do solo; pelo transporte facilitado pelo canal de proteínas intrínsecas similar à nodulina 26 (NIPs b); e pelo transporte ativo de B por um transportador de alta qualidade de ácido bórico (BOR1) ativado em casos de baixa disponibilidade de B (GONZÁLEZ-FONTES et al., 2014; KHADEN; LAJAYER; GHORBANPOUR, 2020).

Logo após absorção pelas raízes, o B transportado pelo xilema à longa distância (NACHIANGMAI et al., 2004), torna-se imóvel quando atinge a parte aérea, propiciando o aparecimento dos primeiros sintomas de deficiência geralmente nos órgãos mais jovens das plantas (HARMANKAYA et al., 2008).

Cabe enfatizar que a deficiência de B pode ocasionar reduções na absorção de outros elementos e consequente instabilidade nas paredes celulares e estruturação das plantas. A deficiência de B consequentemente ocasiona a diminuição do teor de cálcio (Ca) na folha das plantas, afetando sua absorção e translocação (FAGERIA, 2001). O boro e o cálcio se demonstraram como elementos que exercem função importante na membrana plasmática, pela manutenção da integridade estrutural, promovendo resistência à parede celular, por meio da interação com polissacarídeos pécticos na matriz da parede celular, como foi verificado em plantas de cenoura (SINGH et al., 2012).

O rhamnogalacturonan II (RGII), um polissacarídeo péctico complexo que segundo indícios encontra-se localizado nas paredes celulares primárias (BROWN; HENING, 1997; MATOH; KOBAYASHI, 1998), possui sequência glicosil, com dímero covalentemente reticulado através de um diéster de borato (MACDOUGAL; RING, 2003; O'NEILL et al., 2004). Supostamente, também ligado de forma covalente com homo-galacturonan (HG) na parede celular primária, pois, os dois se apresentaram em estruturas compostas por resíduos de γ -D-GalA ligados em 1,4 (ISHII; MATSUNAGA, 2001; REUHS et al., 2004). A interação de B com o RG II foi essencial para a reticulação das paredes celulares, pois, o complexo B RG-II forneceu expansão e estrutura às paredes celulares primárias e secundárias de *Arabidopsis* (RYDEN et al., 2003; KOHORN et al., 2006). Portanto, pequenas alterações estruturais nesse complexo pode prejudicar a estabilidade nas paredes celulares das plantas (GOLDBACH; WIMMER 2007).

A diminuição da reticulação de RG-II em células de tabaco cultivadas em suspensão com deficiência de B promoveu formação de paredes primárias inchadas (MATOH et al., 2000), possivelmente devido a responsabilidade da molécula de RG-II de criar elos de conexão para cadeias de polissacarídeos de pectina por meio da ligação B-diéster. Quando a concentração de B nessas regiões de ligação foram insuficientes, geralmente, as paredes celulares apresentaram baixo potencial de retenção de pectina (KOBAYASHI et al., 1997). E essa deficiência de B afetou os poros da parede celular, aumentando-os

de tamanho, induzindo a morte celular ao realizar etapa de alongamento (FLEISCHER; O'NEILL; EHWALD, 1999).

Na cultura do rabanete, aproximadamente 0,80% do boro existente na parede celular foi proveniente do RGII monomérico (KOBAYASHI et al., 1996).

Nos sistemas biológicos, BOR1 foi o primeiro transportador de efluxo de boro detectado, atuando sob condições de baixa disponibilidade de B e transportando-o do sistema radicular para a parte áerea de *Arabidopsis* (TAKANO et al., 2002). Nakagawa et al. (2007) sugeriram ou observaram que em plantas de arroz o gene Os BOR1 foi importante para captação eficiente de B pelas raízes e deslocamento no xilema.

Algumas proteínas do tipo aquaporina como NIP5;1 em condições de privação de B, promoveram o transporte de ácido bórico na membrana plasmática de *Arabidopsis* (TAKANO et al., 2006). Essas proteínas agiram como canais multifuncionais facilitando o fluxo passivo de moléculas de pequeno porte não carregadas, ou seja, neutras, como a água, o glicerol e a ureia (WALLACE et al., 2006), sendo localizadas nas células corticais, epidérmicas e endodérmicas da raiz. A proteína NIP6;1 foi relatada como um possível canal de ácido bórico envolvido no transporte preferencial de B do xilema para o floema, em tecidos jovens em crescimento de *Arabidopsis* (TANAKA et al., 2008). A NIP7;1 foi relacionada ao processo de microsporogênese (LI et al., 2011). Contudo, há evidências de colaboração de BOR1 com NIP5;1 e NIP6;1 (MIWA et al., 2013; CHORMOVA et al., 2014).

Diversas enzimas como glicose-6-fosfato desidrogenase, polifenoloxidase, fenilalanina amônia liase, ribonuclease e β -glicosidase, comumente conectadas as paredes celulares e membranas, também apresentaram-se demasiadamente ativas quando liberadas sob condições de privação de B. No entanto, essa ação perante o cenário de deficiência de B, pode ocasionar consequências extremamente sérias nos processos metabólicos das plantas, acentuando a concentração fenólica e esgotando o RNA (SHKOLNIK, 1984; BLEVINS; LUKASZEWSKI, 1998).

Ademais, vale ressaltar que o boro também pode ser transportado via floema em quantidade suficiente para atender a demanda das plantas, como observado em maçãs, citros, nectarinas e *Arabidopsis* (WU et al., 2019). A mobilidade ocorreu devido a formação de complexos B-diol, fundamentais para remobilizar os nutrientes entre os tecidos vegetais (HU et al., 1997). Em citros, a fração translocada foi dependente do nível de B na planta e da síntese dos compostos resultantes da fotossíntese (DU et al., 2020).

2.2 Boro no solo

A turmalina é a principal fonte de B encontrada na maioria dos solos bem drenados, entretanto está fonte não se encontra prontamente disponível para as plantas (GUPTA, 1979). Durante o processo de intemperismo natural das rochas, o ácido bórico consiste na forma mais frequente de B liberada e assimilada pelas raízes das plantas (BARIYA; BAGTHARIA; PATEL, 2014), sendo portanto, a mais lixiviada em função de sua elevada

solubilidade (YAN et al., 2006; OZTURK et al., 2010).

Dentre os fatores que afetaram a disponibilidade de B no solo e na planta, destaca-se o pH do solo (GUPTA, 1993), que recomenda estar entre 5,5 e 7,5 para melhor ocorrer a absorção do nutriente (CAMACHO-CRISTÓBAL et al., 2008). Outros fatores, como teor de matéria orgânica (LIMA et al., 2007), textura do solo (ACUNÃ, 2005), umidade do solo (MATTIELLO et al., 2009), calagem (SALTALI et al., 2005) e água de irrigação em ecossistemas tropicais pode limitar a disponibilidade do elemento no solo e reduzir seu aproveitamento pelas plantas (FLORES et al., 2017).

A movimentação do B se dá por meio de fluxo de massa quando refere-se a transferência do solo até as raízes das plantas. Considerado um micronutriente altamente solúvel, em de solos com baixa fertilidade, o B foi naturalmente lixiviado e absorvido por óxidos de ferro, alumínio, manganês e matéria orgânica (BENTO et al., 2020).

Nos solos brasileiros, o micronutriente B ainda é tido como um fator limitante nas áreas agricultáveis, devido ao baixo teor natural do elemento no solo. Portanto sua correção é imprescindível para maximizar a produtividade nas diversas regiões do país (SANTINI et al., 2015). Cruz et al. (1987) observaram que em Latossolo Vermelho de textura média no Brasil, a elevação do pH de 4,2 a 5,6 promoveu alteração significativa na quantidade de B adsorvido. Estudos conduzidos na cultura do girassol (NETO et al., 2014) e em outras como o eucalipto (MATTIELLO et al., 2009), comprovaram a dependência de aplicação de B aos solos brasileiros.

2.3 Resposta do girassol a aplicação de boro

De modo geral, a cultura do girassol se apresenta muito responsável a aplicação de B (SHORROCKS, 1997). O micronutriente é requerido nos estádios vegetativo e reprodutivo, se apresenta como imprescindível no florescimento e na formação da semente (AL-AMERY et al., 2011).

Mekki (2015) analisando o efeito da aplicação foliar de boro no rendimento e qualidade de algumas cultivares de girassol, relatou que a aplicação de B na dose de 600 ppm propiciou maior peso de sementes planta^{-1} (g), diâmetro de cabeça (cm), número de sementes cabeça $^{-1}$, peso de 1000 sementes (g), porcentagem de óleo e rendimento de óleo planta^{-1} das cultivares Sakha-53 e Giza-102. Amery et al. (2011) e Tahir (2014) também obtiveram resultados no rendimento de sementes de girassol em relação a testemunha, após o aumento linear das doses de B nas concentrações de 200 mg L $^{-1}$ e 250 mg L $^{-1}$.

Leandro et al. (2020) avaliando o desempenho agronômico dos genótipos de girassol BRS 321 e BRS 323, submetidos a diferentes doses de adubação boratada (ácido bórico), na safra 2015/2016, observaram que nas variáveis altura de planta, diâmetro de caule, número de folhas, peso de 1000 sementes, produtividade de grãos e teor de óleo e produtividade, as respostas dos genótipos BRS 321 e 323 às doses de B se diferiram entre si. As melhores respostas de desenvolvimento vegetativo foi observada no genótipo

BRS 321 na dose inferior a 1 kg ha⁻¹, enquanto o maior rendimento de óleo e grãos para o mesmo genótipo foi alcançado na dose de 4 kg ha⁻¹. Contudo, para o genótipo BRS 323 foi constatado que as doses de B não surtiram efeito nas variáveis vegetativas, porém, obteve-se maior teor de óleo ao aplicar a dose de 4 kg ha⁻¹. Além disso, independente das doses de boro o genótipo BRS 323 demonstrou-se superior ao 321 em relação a produtividade de grãos e óleo. Indicando que a absorção do micronutriente possivelmente foi afetada pela diferença nas interações entre os genótipos da mesma espécie.

Oliveira Neto et al. (1999) constataram trabalhando com cinco doses de boro (0,0, 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 kg ha⁻¹) em seis diferentes profundidades (0 a 5,5; 5 a 10; 10 a 15; 15 a 20; 20 a 30; 30 a 40 cm) em Latossolo Vermelho eutroférrego, no município de Londrina, Paraná, Brasil que a adubação boratada em solos que apresentavam teor médio de matéria orgânica e textura argilosa pesada, com níveis de B acima de 0,22 mg dm⁻³ não surtiram efeito nos componentes de rendimento do girassol. Entretanto, a concentração do elemento B no solo obteve aumento em todas as aplicações, quando comparado aos níveis anteriores.

Cakmak et al. (1995) demonstraram o papel relevante de B na integridade da membrana plasmática em folhas de girassol. Na comparação, as folhas deficientes em B, o efluxo de K foi 35 vezes maior, seguido pelo de sacarose 45 vezes maior, e de fenólicos e aminoácidos 7 vezes maior que em folhas normais. Os autores postularam que os distúrbios nutricionais de B, além de promoverem a redução da eficácia da fertilização potássica, contribuíram para maior liberação de sacarose e aminoácidos que são compostos atrativos para patógenos e pragas. Corroborando com os resultados de Cakmak et al. (1995), Power e Woods (1997) constataram que a absorção de K foi influenciada pela presença de B, dado ao fato que na ausência de B a absorção de K praticamente não ocorreu e em níveis ideais de B a absorção de K aumentou. Além disso, verificaram que a deficiência de B pode ocasionar efeitos deletérios que desencadearam a deficiência de P, por essa razão diversas ocorrências de privação de B foram comumente confundidas ou relatadas como deficiência de P.

2.4 Deficiência

A cultura do girassol foi relatada como umas das mais sensíveis ao excesso e a deficiência por B (ASAD et al., 2003; TASSI et al., 2017).

Como principais sintomas da deficiência de boro no girassol foram relatados o aparecimento de manchas foliares na pré-floração e no início do florescimento, seguido pela necrose dos tecidos das regiões afetadas, que posteriormente provoca uma morte celular nos órgãos atingidos como a parte superior do caule e folhas, comprometendo o desenvolvimento do capítulo em floração (LIMA et al., 2013).

A deficiência de B, prejudicou o funcionamento das membranas dos cloroplastos, afetou o transporte de elétrons nos tilacóides, e resultou em uma fotoinibição (GOLDBACH

et al., 2007). Consequentemente, o crescimento do sistema radicular tornou-se reduzido, e as folhas jovens ficaram com aparência enrugada provocando diminuição na área foliar, que acarretou em abortamento floral através da queda do capítulo, causando perdas na produção (NETO et al., 2014).

A deficiência de boro afetou os processos vegetativos e reprodutivos DO GIRASSOL, por meio da morte dos meristemas, inibição da expansão celular, do estresse oxidativo e da redução da fertilidade (EL-SHINTHNAWY EL-SHINTINAWY, 1999 OU 2000).

Acredita-se que quando ocorre a oxidação do fenol, aumento da atividade da enzima polifenoloxidase e dos compostos fenólicos, há um forte indício fisiológico da deficiência de boro em espécies vegetais, principalmente nas culturas mais vulneráveis como o girassol (ÇAKMAK e ROMHELD, 1997; ALKAN TORUN et al., 2018).

Grande parte desses compostos fenólicos são fitotóxicos para o sistema radicular e órgãos jovens das plantas, independentemente da quantidade, uma vez que 1 mol foi capaz de desencadear efeitos deletérios (VAUGHAN; ORD, 1990). Marschner (1995) relatou que em extratos de folhas de girassol deficientes em B, a ação de polifenoloxidase aumentou de forma significativa por consequência da severidade dos sintomas decorrentes da deficiência, especialmente, sob condições de elevada intensidade de luz. Corroborando com Marschner (1995), Cakmak et al. (1995) demonstraram que em plantas de girassol o fenômeno de escurecimento dos tecidos foliares por deficiência de B foram mais atenuados mediante a aumento de alta intensidade da luz.

No Brasil, a deficiência por boro foi observada predominantemente nos solos do Cerrado, e a escassez deste elemento pode reduzir a produção do girassol em 60% (EMBRAPA CERRADO, 2002), comprometendo gravemente a produção de aquênios, constituindo-se em um fator limitante para atingir altas produtividades (CASTRO et al., 2006). Contudo, visando elevar ao máximo a potencialidade genética das cultivares, tornou-se estritamente necessária a verificação da verdadeira demanda de B (CAPONE et al., 2016).

As características físico-químicas do solo também podem interferir no manejo de adubação com B, observando-se que em solos de textura arenosa, um dos principais entraves foi a lixiviação (ROSOLEM; BÍSCARO, 2007). Por outro lado, nos solos argilosos com elevados teores de óxido de ferro e alumínio, a adsorção limitou o uso eficiente de B (FERREYRA; SILVA et al., 1999).

Yu et al. (2002) observaram que a privação de B durante uma hora em plantas de tabaco, praticamente, inibiu a atividade do canal de água ZmPiP convertido por GFP (proteína verde fluorescente) nas extremidades do sistema radicular.

Redondo-Nieto et al. (2001) e Camacho-Cristóbal et al (2008), a deficiência de boro provocou alterações no nível de expressão de genes pertencentes ao metabolismo de nitrogênio.

Ao longo dos anos, diversas estratégias ou técnicas vêm sendo utilizadas com a

finalidade de melhorar a absorção e disponibilidade de B para as plantas, destacando-se, a enxertia, a aplicação de nanofertilizantes, inoculação com microrganismos micorrízicos e rizobactérias, bem como métodos para alterar características radiculares (SHIREEN et al., 2018).

Recentemente descobriu-se que a aplicação do Potássio (K), além de atenuar o efeito inibitório decorrente do excesso de B nas plantas, diminuiu também a quantidade de folhas e proporcionou o equilíbrio de outros nutrientes (POGORZELSKI et al., 2020).

2.5 Fitotoxicidade

Os efeitos da fitotoxicidade de B foram encontrados em solos cujo teor se encontrava superior a 1 mg kg^{-1} (SCOTT & EATON, 1940). Concentrações excessivas de boro no solo ocasionaram estresse oxidativo na cultura do girassol (GIAN SOLDATI et al., 2012; TASSI et al., 2011).

Para que o B atinja a sua finalidade, é necessário que se use quantidades pequenas. O B for utilizado de forma excessiva na couve-flor causou o derramamento do conteúdo celular e a peroxidação lipídica (degradação oxidativa dos lipídios), influenciando negativamente também as enzimas que assimilam o nitrogênio (FERNANDES et al., 2021).

Em plantas vasculares, a toxicidade de B provocou alterações nos níveis de clorofila e taxa fotossintética nas folhas, redução na divisão celular radicular, distúrbios metabólicos, diminuição dos teores de lignina e suberina (NABLE; BAÑUELOS; PAULL, 1997; REID, 2007). Krudnak et al. (2013) relataram que níveis de B acima de $11,3 \text{ kg ha}^{-1}$ afetaram negativamente a sua absorção, a viabilidade polínica e a formação de sementes das variedades “S473” e “Pacific 77” de girassol.

Marcondes et al. (2019) avaliando a “disponibilidade de boro e características do girassol influenciadas pela adubação boratada” observaram que a aplicação de $4,0 \text{ kg ha}^{-1}$ de B provocou toxicidade às plantas de girassol híbrido Aguará 4 acarretando em efeitos negativos de diâmetro de caule e massa seca da parte aérea.

Portanto, a toxicidade de boro é mais turbulenta de administrar em sistemas de produção agrícola do que sua ausência, que pode ser corrigida por meio da fertilização (TAKANO et al., 2008).

Hossain et al. (2005) e Turan, Taban e Taban (2009) estudaram a interação de B com outros nutrientes como Ca, S, Al, Si e Zn, objetivando o desenvolvimento de corretivos que promovessem o reestabelecimento de solos contaminados e mitigação de efeitos tóxicos ocasionados por B nas plantas.

2.6 Relação boro salinidade

A inibição do crescimento, é uma das principais respostas peculiares das plantas frente ao estresse salino (GHOULAM et al., 2002). A salinidade, afeta negativamente diversos processos de ordem fisiológica e bioquímica, foi relatado por Park et al. (2009) que elevadas concentrações do íon sódio comprometeu o processo fotossintético, em função

de causar a degradação da enzima clorofilase em plantas de (*Brassica napus L.*).

El-Kader et al. (2006) observaram limitação no crescimento do girassol em relação aos parâmetros de altura de planta, diâmetro do caule, número de folhas, índice de área foliar e diâmetro do disco, em solos com diferentes níveis de salinidade. Resultados semelhantes foram obtidos por Santos et al., (1999).

De acordo com um estudo realizado na Turquia por Alkan Torun et al. (2018) sobre “a determinação do efeito de aplicações de boro em danos de sal em girassol”, verificaram que a produção de matéria seca da parte verde dos genótipos de girassol Sycadix e Imeria diminui com a aplicação de 50 mm de NaCl em todas as condições de doses de B e aumentaram o rendimento em relação ao controle. Este sintoma do estresse salino é frequentemente associado a redução da integridade da membrana e deterioração de sua permeabilidade, que são gravemente prejudicadas pelas condições salinas (MAHAJAN; TUTEJA, 2005). Estudos como de Zahra et al. (2010) e Tuhran (2014) também evidenciaram a redução do rendimento da matéria seca da parte verde em consequência de doses de cloreto de sódio.

Os girassóis podem tolerar a salinidade e crescer, em solos que possuem índices salinos baixos e médios. Adotando diferentes estratégias para contornar os efeitos da salinidade (SKORIC, 2012). E dentre essas estratégias, uma opção que vem sendo constantemente adotada é o manejo de nutrientes. Em condições de estresse, os nutrientes vegetais ajudam as culturas a melhorar seu desempenho, rendimento e tolerância, por meio da ativação de diversos mecanismos vegetais, entre os quais destacam-se, o aumento da atividade fotossintética, redução na absorção de metais pesados, proteção estrutural de proteínas, reparo do DNA, ativação de genes relacionados a defesa contra o estresse, biossíntese de enzimas antioxidantes, osmoprotetores entre outros (KUMARI et al., 2022).

Zhen et al. (2019) revelaram que o excesso de B aliado a outros fatores estressores como a salinidade e a seca diminuiu drasticamente a biomassa vegetal de *Puccinellia tenuiflora*. No entanto, a aplicação conjunta e separada de nutrientes como N e P demonstrou ajudar as plantas a superar os sintomas de toxicidade de B, devido forçar a fotossíntese e diminuir a relação K⁺/Na⁺. Reduzindo assim a concentração de B tanto na parte aérea quanto na raiz e aumentando significativamente a produção de matéria seca. Os achados desse estudo propuseram que os fertilizantes N e P podem ser utilizados para mitigar os efeitos da toxicidade de B em *P. tenuiflora* quando submetida a condições de estresse simultâneo com sal e seca tornando-se uma alternativa ambientalmente econômica para remediação de solos contaminados com B.

Surpreendentemente, estudos desenvolvidos em solos salinos demonstraram que o aumento do suprimento de B e Ca gerou maior tolerância a presença de NaCl pelas culturas, bem como influenciou de forma positiva a produção e o rendimento perante tais condições (EL-HAMDAOUI et al., 2003; BONILLA et al., 2004).

2.7 Uso do girassol na alimentação animal

O girassol é empregado na alimentação animal, principalmente, na forma de farelo (MAHERI-SIS et al., 2011) e como forrageira para a produção de silagem (NURK et al., 2016). Possui, teor de proteína bruta e extrato etéreo em quantidade superior às encontradas no milho, apresentando ainda produção de matéria seca entre 19 a 25% (MAFAHER et al., 2010).

Musharaf (1991) em experimento sobre “efeito de níveis graduados de farelo e semente de girassol em dietas para frangos de corte”, observou que o farelo de semente de girassol rico em fibras pode ser incluído na dieta até 250 g kg⁻¹, desde que seja suplementado com os aminoácidos metionina e lisina. Furlan et al. (2002), recomendaram que em rações isoenergéticas e isoaminoacídicas para metionina, cistina e lisina digestíveis objetivando a alimentação de frangos de corte, a proteína do farelo de soja pode ser substituída pela proteína do farelo de girassol em até 30%.

Silva et al. (2002) revelaram que a inclusão de 21% de farelo de girassol na ração de suínos em crescimento e terminação não afetou o desempenho e qualidade da carcaça. Já, Louvandini et al. (2007) verificaram que para ovinos Santa Inês em terminação a substituição de 100 e de 50% do farelo de soja pelo de girassol no concentrado promoveu redução no ritmo de crescimento e características de carcaça.

Sharma et al. (1986) realizaram experimento com bezerros da raça holandesa e sugeriram que 10% de sementes de girassol inteira ou 12 a 18% de sementes de canola podem ser introduzidas na dieta inicial desses animais.

Nos últimos anos a cultura do girassol vêm ganhando destaque e sendo introduzida nos sistemas de rotação e sucessão de culturas como opção viável para produção de forragem (SOUZA; ARIAS; GOBETTI, 2018). Cruvine et al. (2017) analisando o “perfil fermentativo e valor nutricional da silagem de girassol com cultivares de *Urochloa brizantha* na safrinha” observaram que a silagem de girassol propiciou maior valor de pH, lignina e extrato etéreo (EE), no entanto, apresentaram menor teor de matéria seca (MS) e digestibilidade *in vitro* de matéria seca (DIVMS). Entretanto, os mesmos autores verificaram que as silagens com adição de cultivares de *Urochloa brizantha* demonstraram melhorar o padrão fermentativo e teor nutricional das silagens, agregando maior concentração de proteína bruta e menor teor de fibra em detergente ácido (FDA) e lignina. Assim sendo, recomendaram sua utilização para processos de ensilagem com girassol.

Tomich et al. (2004) realizaram experimento com treze cultivares hibridas de girassol (AS243, AS603, Contiflor 3, M737, M742, V200, Cargill 11, Contiflor 7, DK180, M734, M738, Rumbosol 90 e Rumbosol 91) amostradas como forragem original e ensiladas em silos de laboratório, após 56 dias de fermentação os silos foram abertos, as silagens retiradas e homogeneizadas individualmente. Em seguida após análises bromatológicas subsequentes foi observado que as silagens possuíam elevado valor de pH, teores altos

de FDA, lignina e DIVMS média em torno de 49,8%. Os resultados demonstraram a necessidade de associação com outros alimentos volumosos, devido a elevada presença de EE, que se apresenta como um fator limitante para a utilização de silagens desses materiais na dieta de bovinos e não recomendaram seu emprego de forma isolada, ou seja, como único volumoso.

2.8 Relação boro e nutrição animal

Em relação a influência do nutriente B na saúde animal, estudos mostraram que a suplementação dietética de boro em suínos, aves e roedores propiciou resistência óssea (HUNT; NIELSEN, 1988; ARMSTRONG et al., 2002; GALLARDO-WILLIAMS et al., 2003; GHANIZADEH et al., 2014). Além disso, também há evidências que o ácido bórico possa desempenhar papel protetor, impedindo danos oxidativos ao DNA, em casos de contaminação por aflatoxina B1(GUINDON; BEDARD; MASSEY, 2007; TURKEZ et al., 2010).

A disponibilidade limitada de B em animais, afeta o metabolismo mineral, absorção de carboidratos, consumo de energia, desenvolvimento embrionário e inúmeras atividades enzimáticas (ULUISIK; KARAKAYA; KOC, 2018). Foi relatado também, que elevadas quantidades de B pode prejudicar o desenvolvimento de órgãos do sistema imunológico de aves e roedores (HU et al., 2014).

Rowe e Eckhert (1999) constataram que para o peixe-zebra (*Danio rerio*) o boro é decisivo (essencial) durante a fase inicial de desenvolvimento, uma vez que sua deficiência pode comprometer o processo de acasalamento.

Por outro lado, em ruminantes e suínos foi evidenciado que o boro desempenha papel importante no processo reprodutivo (ARMSTRONG et al., 2002; KABU; CIVELEK, 2012; KABU; AKOSMAN, 2013; KABU et al., 2013).

Há também estudos que demonstraram que o boro possa estar relacionado à produção de hormônios esteroides, intervindo no metabolismo de cálcio, magnésio, vitamina D e micronutrientes (PALACIOS, 2006; NIELSEN, 2014).

Descobriu-se também, que B induziu o crescimento embrionário em trutas (ECKERT, 1998).

3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

O suprimento adequado de boro tanto via solo como fertilização é essencial para assegurar um crescimento e desenvolvimento ótimo para a cultura do girassol. O boro desempenha papel importante na integridade das paredes celulares, manutenção da membrana plasmática, divisão celular, crescimento de tecidos meristemáticos, germinação do grão de pólen, fotossíntese, metabolismo antioxidante, metabolismo ou incorporação de cálcio na parede celular, metabolismo de nitrogênio, metabolismo de ácidos nucleicos e

atividade das enzimas. Portanto, a deficiência de B prejudica diversos processos fisiológicos e metabólicos, levando a alterações no rendimento e qualidade de plantas de girassol.

Por outro lado, a toxicidade de B também é vista como um fator relevante e requer atenção especial, dada a circunstância que a faixa entre deficiência e toxicidade é muito estreita. Solos ricos em B podem se tornar tóxicos, mesmo que em menor predominância do que nos solos deficientes, caso a aplicação de B ocorra de forma desordenada. Já, em regiões áridas do mundo, teores tóxicos de B vêm sendo relacionados a problemas de salinidade, devido ao acúmulo excessivo do nutriente na solução do solo por meio das águas de irrigação.

No que tange a nutrição animal e seus benefícios, mais estudos necessitam ser realizados para melhor investigar a influência da suplementação com boro, uma vez que a literatura é limitada e ainda existem grandes lacunas sobre a necessidade dietética de cada espécie em seus diversos estágios de ciclo de produção.

REFERÊNCIAS

ABD EL-KADER, A. A.; MOHAMEDIN, A. A. M.; AHMED, M. K. A. Growth and yield of sunflower as affected by different salt affected soils. **International Journal of Agriculture & Biology** v. 8, p. 583-587, 2006.

ACUÑA, A. M. Los suelos como fuente de boro para las plantas. **Revista UDO Agrícola**, Oriente – Venezuela, v.5, n.1, p.10-26, 2005.

AL-AMERY, M. M.; HAMZA, J. H.; FULLER, M. P. Effect of boron foliar application on reproductive growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.). **International Journal of Agronomy**, v.2011, p.1-5, 2011.

ALKAN TORUN, A.; DUMUŞ, E.; ERDEM, H.; TOLAY, İ. Aycıçeginde tuz zararı üzerine bor uygulamalarının etkisinin belirlenmesi. **Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi**, v. 6, n. 12, p. 1781-1788, 2018.

ALVES, L. S., STARK, E. M. L. M., ZONTA, E., FERNANDES, M. S., SANTOS, A. M. D.; SOUZA, S. R. Different nitrogen and boron levels influence the grain production and oil content of a sunflower cultivar. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 39, n. 1, p. 59- 66, 2017.

ARMSTRONG, T. A.; FLOWERS, W. L., SPEARS, J. W., & NIELSENT, F. H. Long-term effects of boron supplementation on reproductive characteristics and bone mechanical properties in gilts. **Journal of animal science**, v. 80, n. 1, p. 154-161, 2002.

ARMSTRONG, T. A.; SPEARS, J. W. Effect of dietary boron on growth performance, calcium and phosphorus metabolism, and bone mechanical properties in growing barrows. **Journal of animal science**, v. 79, n. 12, p. 3120-3127, 2001.

ARMSTRONG, TODD A.; SPEARS, J. W.; CRENSHAW, T. D.; NIELSEN, F. Boron supplementation of a semipurified diet for weanling pigs improves feed efficiency and bone strength characteristics and alters plasma lipid metabolites. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 10, p. 2575-2581, 2000.

ASAD, A.; BLAMEY, F. P. C.; EDWARDS, D. G. Dry matter production and boron concentrations of vegetative and reproductive tissues of canola and sunflower plants grown in nutrient solution. **Plant and soil**, v. 243, n. 2, p. 243-252, 2002.

BARIYA, H.; BAGTHARIA, S.; PATEL, A. Boron: A promising nutrient for increasing growth and yield of plants. In: **Nutrient use efficiency in plants**. Springer, Cham, 2014. p. 153-170.

BARRANCO, W. T.; KIM, D. H.; STELLA JR, S. L.; ECKHERT, C. D. Boric acid inhibits stored Ca²⁺ release in DU-145 prostate cancer cells. **Cell biology and toxicology**, v. 25, n. 4, p. 309-320, 2009.

BENTO, K. F.; CARNIEL, E.; RAIUMUNDO, B. C.; ROCHA, R. R.; SCHONINGER, E. L. Availability of boron in clayey and sandy soil due to the application of different borated sources in soybean cultivation. **Scientific Electronic Archives**, v. 13, n. 11, p. 51-55, 2020.

BERTI, M. P. S.; SÁ, M. E.; BENETT, C. G. S.; ROCHA, E. C.; BERTI, C. L. F. Doses e épocas de aplicação de boro na qualidade de sementes de soja. **Cultura Agronômica**, Ilha Solteira, v. 28, n.2, p.123-137, 2019.

BLEVINS, D. G.; LUKASZEWSKI, K. M. Boron in plant structure and function. **Annual review of plant biology**, v. 49, n. 1, p. 481-500, 1998.

BONILLA, I.; EL-HAMDAOUI, A.; BOLAÑOS, L. Boron and calcium increase *Pisum sativum* seed germination and seedling development under salt stress. **Plant and soil**, v. 267, n. 1, p. 97-107, 2004.

BOZKURT, M.; KÜÇÜKYILMAZ, K. An evaluation on the potential role of boron in poultry nutrition. Part I: Production performance. **World's Poultry Science Journal**, v. 71, n. 2, p. 327-338, 2015.

BROWN, P. H.; HU, H. Does boron play only a structural role in the growing tissues of higher plants?. In: **Plant nutrition for sustainable food production and environment**. Springer, Dordrecht, 1997. p. 63-67.

CAKMAK, I.; KURZ, H.; MARSCHNER, H. Short-term effects of boron, germanium and high light intensity on membrane permeability in boron deficient leaves of sunflower. **Physiologia Plantarum**, v. 95, n. 1, p. 11-18, 1995.

CAKMAK, I.; RÖMHELD, V. Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants. **Plant and Soil**, v. 193, n. 1, p. 71-83, 1997.

CAMACHO-CRISTÓBAL, J. J.; HERRERA-RODRÍGUEZ, M. B.; BEATO, V. M.; REXACH, J.; NAVARRO-GOCHICOA, M. T.; MALDONADO, J. M.; GONZÁLEZ-FONTES, A. The expression of several cell wall-related genes in *Arabidopsis* roots is down-regulated under boron deficiency. **Environmental and Experimental Botany**, v. 63, n. 1-3, p. 351-358, 2008.

CAPONE, A.; DORIO, A. S.; MENEGON, M. Z.; FIDELIS, R. R.; BARROS, H. B. Efeito de épocas de semeadura de girassol na safrinha, em sucessão à soja no Cerrado Tocantinense. **Revista Ceres**, v. 59, n. 1, p. 102-109, 2016.

CASTRO, C.; FARIAS, J. B. R. **Ecofisiología do girassol**. In: LEITE, R. M. V. B. C.; BRIGHRNTI, A. M.; CASTRO, C. Girassol no Brasil. 1 ed. Londrina: **EMBRAPA Soja**, 2005. Cap. 9, p. 317-365.

CASTRO, C.; MOREIRA, A.; DE OLIVEIRA, R. F.; DECHEM, A. R. Boro e estresse hídrico na produção do girassol. **Embrapa Soja-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2006. pg. 2014-220.

CHORMOVA, D.; MESSENGER, D. J.; FRY, S. C. Boron bridging of rhamnogalacturonan-II, monitored by gel electrophoresis, occurs during polysaccharide synthesis and secretion but not post-secretion. **The Plant Journal**, v. 77, n. 4, p. 534-546, 2014.

CONAB. **Boletim da safra de grãos/Tabela de dados – Produção e balanço de oferta e demanda de grãos.** Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos?limitstart=0>> Acesso 28. ago. 2022.

CRUVINEL, W. S.; COSTA, K. A. D. P.; TEIXEIRA, D. A. A.; DA SILVA, J. T.; EPIFANIO, P. S.; COSTA, P. H. C. P.; FERNANDES, P. B. Fermentation profile and nutritional value of sunflower silage with Urochloa brizantha cultivars in the off-season. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 18, p. 249-259, 2017.

CRUZ, M. C. P.; NAKAMURA, A. M.; FERREIRA, M. E. Adsorção de boro pelo solo: efeito da concentração e o pH. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 22, p. 621-626, 1987.

DANNEL, F.; PFEFFER, H.; RÖMHED, V. Compartmentation of boron in roots and leaves of sunflower as affected by boron supply. **Journal of Plant Physiology**, v. 153, n. 5-6, p. 615-622, 1998.

DECHEM, A. R.; NACHTIGALL, G. R. Micronutrientes. In: FERNANDES, M. F. (ed) Nutrição de Plantas. Viçosa: **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, p. 327-354, 2006.

DECHEM, A. R.; NACHTIGALL, G.R. **Micronutrientes**. In: FERNANDES, M.F. (ed). Nutrição Mineral de Plantas. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.327-354, 2006.

DU, W.; PAN, Z. Y.; HUSSAIN, S. B.; HAN, Z. X.; PENG, S. A.; LIU, Y. Z. Foliar supplied boron can be transported to roots as a boron-sucrose complex via phloem in citrus trees. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 250, 2020.

EATON, S. V. Effects of boron deficiency and excess on plants. **Plant physiology**, v. 15, n. 1, p. 95, 1940.

ECKHERT, C. D. Boron stimulates embryonic trout growth. **The Journal of nutrition**, v. 128, n. 12, p. 2488-2493, 1998.

EL-HAMDAOUI, A.; REDONDO-NIETO, M.; RIVILLA, R.; BONILLA, I.; BOLANOS, L. Effects of boron and calcium nutrition on the establishment of the Rhizobium leguminosarum–pea (*Pisum sativum*) symbiosis and nodule development under salt stress. **Plant, Cell & Environment**, v. 26, n. 7, p. 1003-1011, 2003.

EL-SHINTHNAWY, F. Structural and functional damage caused by boron deficiency in sunflower leaves. **Photosynthetica**, v. 36, n. 4, p. 565-573, 1999.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Girassol como Alternativa para o Sistema de Produção do Cerrado, Brasília: **Embrapa Cerrado**. 2002.

FAGERIA, V. D. Nutrient interactions in crop plants. **Journal of Plant Nutrition**, Abingdon, v. 24, p. 1269-1290, 2001.

FERNANDES, S. O.; ZANUZO, M. R.; BONETTI, J. A.; LANGE, A.; MACHADO, R. A. F. Adubação de nitrogênio e boro na cultura da couve-flor. Scientific Electronic Archives Issue ID:Sci. Elec. Arch. Vol. 14. February 2021.

FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, J. M.; VELASCO, L.; PÉREZ-VICH, B. Progress in the genetic modification of sunflower oil quality. In: **Proceedings of the 16th International Sunflower Conference**. 2004. p. 1-14.

FERREYRA, H. F. F.; SILVA, F. R. Frações de Boro e índices de disponibilidade em solos do estado do Ceará. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 227-236, 1999.

FLEISCHER, A.; O'NEILL, M. A.; EHWALD, R. The pore size of non-graminaceous plant cell walls is rapidly decreased by borate ester cross-linking of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II. **Plant physiology**, v. 121, n. 3, p. 829-838, 1999.

FLORES, R. A.; SILVA, R. G. D.; CUNHA, P. P. D.; DAMIN, V.; ABDALA, K. D. O.; ARRUDA, E. M.; RODRIGUES, R. A.; MARANHÃO, D. D. C. Economic viability of Phaseolus vulgaris (BRS Estilo) production in irrigated system in a function of application of leaf boron. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science**, v. 67, n. 8, p. 697-704, 2017.

FORT, D. J.; PROPST, T. L.; STOVER, E. L.; STRONG, P. L.; MURRAY, F. J. Adverse reproductive and developmental effects inXenopus from insufficient boron. **Biological trace element research**, v. 66, n. 1, p. 237-259, 1998.

FURLAN, A. C.; MANTOVANI, C.; MURAKAMI, A. E.; MOREIRA, I.; SCAPINELLO, C.; MARTINS, E. N. Utilização do farelo de girassol na alimentação de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 158-164, 2001.

FURLANI, A. M. C.; TANAKA, R. T.; TARALLO, M.; VERDIAL M. F.; MASCARENHAS, H. A. A. Exigência a boro em cultivares de soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 25:929-937, 2001.

FURLANI, A. M. C.; ÚNGARO, M. R. G.; QUAGGIO, J. A. Comportamento diferencial de genótipos de girassol: Eficiência na absorção e uso de boro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 14, p. 187-194, 1990.

GALLARDO-WILLIAMS, M.; MARONPOT, R. R.; TURNER, C. H.; JOHNSON, C. S.; HARRIS, M. W.; JAYO, M. J.; CHAPIN, R. E. Effects of boric acid supplementation on bone histomorphometry, metabolism, and biomechanical properties in aged female F-344 rats. **Biological trace element research**, v. 93, n. 1, p. 155-169, 2003.

GHANIZADEH, G.; BABAEI, M., NAGHII, M. R., MOFID, M., TORKAMAN, G., & HEDAYATI, M. The effect of supplementation of calcium, vitamin D, boron, and increased fluoride intake on bone mechanical properties and metabolic hormones in rat. **Toxicology and industrial health**, v. 30, n. 3, p. 211-217, 2014.

GHOULAM, C.; FOURSY, A.; FARES, K. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. **Environmental and experimental Botany**, v. 47, n. 1, p. 39-50, 2002.

GIAN SOLDATI, V.; TASSI, E.; MORELLI, E.; GABELLIERI, E.; PEDRON, F.; BARBAFIERI, M. 2012. Nitrogen fertilizer improve boron phytoextraction by *Brassica juncea* grown in contaminated sediments and alleviates plant stress. **Chemosphere**, v. 87, n. 10, p. 1119-1125, 2012.

GOLDBACH, H. E.; HUANG, L.; WIMMER, M. A. Boron functions in plants and animals: recent advances in boron research and open questions. **Advances in plant and animal boron nutrition**, p. 3-25, 2007.

GOLDBACH, H. E.; WIMMER, M. A. Boron in plants and animals: is there a role beyond cell-wall structure?. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 170, n. 1, p. 39-48, 2007.

GOLDBERG, S.; GLAUBIG, R. A. Boron adsorption on aluminum and iron oxide minerals. **Soil Science Society of America Journal**, v. 49, n. 6, p. 1374-1379, 1985.

GUINDON, K. A.; BEDARD, L. L.; MASSEY, T. E. Elevation of 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA from isolated mouse lung cells following in vivo treatment with aflatoxin B1. **Toxicological Sciences**, v. 98, n. 1, p. 57-62, 2007.

GUPTA, U.C. Boron and its role in crop production. Boca Raton: CRC Press, 1993. 236p.

HARMANKAYA, M.; ÖNDER, M.; HAMURCU, M.; CEYHAN, E.; GEZGIN, S. Response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars to foliar and soil applied boron and boron-deficient calcareous soils. **African Journal of Biootechnology**, Lagos, v. 7, n. 18, p. 3275-3282, 2008.

HU, H.; PENN, S. G.; LEBRILLA, C. B.; BROWN, P. H. Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants (the mechanism of phloem mobility of boron). **Plant Physiology**, v. 113, n. 2, p. 649-655, 1997.

HU, Q.; LI, S.; QIAO, E.; TANG, Z.; JIN, E.; JIN, G.; GU, Y. Effects of boron on structure and antioxidative activities of spleen in rats. **Biological trace element research**, v. 158, n. 1, p. 73-80, 2014.

HUNT, C. D. Dietary boron: evidence for essentiality and homeostatic control in humans and animals. In: Advances in plant and animal boron nutrition. Springer, Dordrecht, p. 251-267. 2007.

HUNT, C. D.; NIELSEN, F. H. Dietary boron affects bone calcification in magnesium and cholecalciferol deficient chicks. In: **Trace Elements in Man and Animals 6**. Springer, Boston, MA, 1988. p. 275-276.

HUNT, Curtiss D. Dietary boron: progress in establishing essential roles in human physiology. **Journal of trace elements in medicine and biology**, v. 26, n. 2-3, p. 157-160, 2012.

ISHII, T.; MATSUNAGA, T. Pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II is covalently linked to homogalacturonan. **Phytochemistry**, v. 57, n. 6, p. 969-974, 2001.

JIN, E.; GU, Y.; WANG, J.; JIN, G.; LI, S. Effect of supplementation of drinking water with different levels of boron on performance and immune organ parameters of broilers. **Italian Journal of Animal Science**, v. 13, n. 2, p. 3152, 2014.

KABU, M.; AKOSMAN, M. S. Biological effects of boron. **Reviews of environmental contamination and toxicology**, p. 57-75, 2013.

KABU, M.; BIRDANE, F. M.; CIVELEK, T.; UYARLAR, C. Effects of boron administration on serum Ca, Mg and P for peripartum cows. **Archives Animal Breeding**. 56, 733-741. 2013.

KABU, M.; CIVELEK, T. Effects of propylene glycol, methionine and sodium borate on metabolic profile in dairy cattle during periparturient period. **Revue de Medecine Veterinaire**, v. 163, n. 8, p. 419, 2012.

KABU, M.; UYARLAR, C. The effects of borax on milk yield and selected metabolic parameters in Austrian Simmental (Fleckvieh) cows. **Vet Med**, v. 60, n. 4, p. 175-180, 2015.

KOBAYASHI, M.; MATOH, T.; AZUMA, J. I. Two chains of rhamnogalacturonan II are cross-linked by borate-diol ester bonds in higher plant cell walls. **Plant Physiology**, v. 110, n. 3, p. 1017-1020, 1996.

KOBAYASHI, M.; OHNO, K.; MATOH, T. Boron nutrition of cultured tobacco BY-2 cells. II. Characterization of the boron-polysaccharide complex. **Plant and cell physiology**, v. 38, n. 6, p. 676-683, 1997.

KOHORN, B. D.; KOBAYASHI, M., JOHANSEN, S., FRIEDMAN, H. P., FISCHER, A., & BYERS, N. Wall-associated kinase 1 (WAK1) is crosslinked in endomembranes, and transport to the cell surface requires correct cell-wall synthesis. **Journal of cell science**, v. 119, n. 11, p. 2282-2290, 2006.

KOSTOVA, B. Prospect for development of sunflower production in Bulgaria. **Trakia journal of sciences**, v. 8, n. Suppl 3, p. 215, 2010.

KRUDNAK, A.; WONPRASAI, S.; MACHIKOWA, T. Boron affects pollen viability and seed set in sunflowers. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 2, p. 162- 166, 2013.

KUMARI, V. V.; BANERJEE, P.; VERMA, V. C.; SUKUMARAN, S.; CHANDRAN, M. A. S.; GOPINATH, K. A.; VENKATESH, G.; YADAV, S. K.; SINGH, V. K.; AWASTHI, N. K. Plant Nutrition: An Effective Way to Alleviate Abiotic Stress in Agricultural Crops. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 15, p. 8519, 2022.

LEANDRO, R. I.; MENEZES, C. W. G.; GOMES FILHO, A.; GOMES, P. L.; PACHECO, D. D.; CARVALHO, C. G. P. Sunflower subjected to boron doses in the semi-arid from Northern Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 15, n. 3, p. 1-7, 2020.

LI, T.; CHOI, W. G.; WALLACE, I. S.; BAUDRY, J.; ROBERTS, D. M. *Arabidopsis thaliana* NIP7;1: an anther-specific boric acid transporter of the aquaporin superfamily regulated by an unusual tyrosine in helix 2 of the transport pore. **Biochemistry**, v. 50, n. 31, p. 6633-6641, 2011.

LIMA, A. D.; VIANA, T. V. A.; AZEVEDO, B. M.; MARINHO, A. B.; DUARTE, J. M. L. Adubação borácea na cultura do girassol. **Revista Agro@mbiente On-line**, Boa Vista, v. 7, n. 3, p.269-276, 2013.

LIMA, J. C. P. S.; NASCIMENTO, C. W. A. D.; LIMA, J. G. D. C.; LIRA JUNIOR, M. D. A. Critical and toxic boron levels in corn plants and soils of Pernambuco, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 73-79, 2007.

LOOMIS, W. D.; DURST, R. W. Chemistry and biology of boron. **BioFactors (Oxford, England)**, v. 3, n. 4, p. 229-239, 1992.

LOUVANDINI, H.; NUNES, G. A.; GARCIA, J. A. S.; MCMANUS, C.; COSTA, D. M.; ARAÚJO, S. C. D. Desempenho, características de carcaça e constituintes corporais de ovinos Santa Inês alimentados com farelo de girassol em substituição ao farelo de soja na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 603-609, 2007.

MACDOUGALL, A. J.; RING, S. G. The hydration behaviour of pectin networks and plant cell walls. In: **Advances in pectin and pectinase research**. Springer, Dordrecht, 2003. p. 123-135.

MAFAKHER, E.; MESKARBASHEE, M.; HASSIBI, P.; MASHAYEKHI, M. R. Study of chemical composition and quality characteristics of corn, sunflower and corn sunflower mixture silages. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 5, n. 2, p. 175-179, 2010.

MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. Cold, salinity and drought stresses: an overview. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 444, n. 2, p. 139-158, 2005.

MAHERI-SIS, N.; BARADARAN-HASANZADEH, A. R.; SALAMATDOUST, R.; KHOSRAVIFAR, O.; AGAJANZADEH-GOLSHANI, A.; DOLGARI-SHARAF, J. Effect of microwave irradiation on nutritive value of sunflower meal for ruminants using in vitro gas production technique. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 21, n. 2, p. 126-131, 2011.

MARCONDES, D. R. P.; MELO, S. P.; ALVES, L. V. F. V.; MORAES, M. F. Disponibilidade de boro e características do girassol influenciadas pela adubação boratada. **Revista Agrária Acadêmica**, v.2, n. 4, p.52-62, 2019.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889p.

MARSCHNER, Horst (Ed.). **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. Academic press, 2011.

MATOH, T.; KOBAYASHI, M. Boron and calcium, essential inorganic constituents of pectic polysaccharides in higher plant cell walls. **Journal of Plant Research**, v. 111, n. 1, p. 179-190, 1998.

MATOH, T.; TAKASAKI, M.; KOBAYASHI, M.; TAKABE, K. Boron nutrition of cultured tobacco BY-2 cells. III. Characterization of the boron-rhamnogalacturonan II complex in cells acclimated to low levels of boron. **Plant and cell physiology**, v. 41, n. 3, p. 363-366, 2000.

MATTIELLO, E. M.; RUIZ, H. A.; SILVA, I. R. D.; BARROS, N. F. D.; NEVES, J. C. L.; BEHLING, M. Transporte de boro no solo e sua absorção por eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 1281-1290, 2009.

MEKKI, B. E. Effect of boron foliar application on yield and quality of some sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars. **Journal of Agricultural Science Technology**, v. 5, p. 5.309-316, 2015.

MIWA, K.; WAKUTA, S.; TAKADA, S.; IDE, K.; TAKANO, J.; NAITO, S.; OMORI, H.; MATSUNAGA, T.; FUJIWARA, T. Roles of BOR2, a boron exporter, in cross linking of rhamnogalacturonan II and root elongation under boron limitation in *Arabidopsis*. **Plant physiology**, v. 163, n. 4, p. 1699-1709, 2013.

MUSHARAF, N. A. Effect of graded levels of sunflower meal in broiler diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.33, n.1-2, p.129-137, 1991.

NABLE, R. O.; BAÑUELOS, G. S.; PAULL, J. G. Boron toxicity. **Plant and soil**, v. 193, n. 1, p. 181-198, 1997.

NACHIANGMAI, D., DELL, B., BELL, R., HUANG, L.; RERKASEM, B. Enhanced boron transport into the ear of wheat as a mechanism for boron efficiency. **Plant and Soil**, v.264, n.1-2, p.141-147, 2004.

NAKAGAWA, Y.; HANAOKA, H.; KOBAYASHI, M.; MIYOSHI, K.; MIWA, K.; FUJIWARA, T. Cell-type specificity of the expression of Os BOR1, a rice efflux boron transporter gene, is regulated in response to boron availability for efficient boron uptake and xylem loading. **The Plant Cell**, v. 19, n. 8, p. 2624-2635, 2007.

NETO, M. E.; FRAGA, V. S.; DIAS, B. O.; SOUTO, J. S. Efeito de doses de boro no crescimento vegetativo de girassol em diferentes classes de solos. **Ceres**, v. 61, n. 3, 2014.

NETO, M. E.; SILVA FRAGA, V.; PEREIRA, W. E.; OLIVEIRA DIAS, B.; SOUTO, J. S. Níveis críticos de boro para a cultura do girassol em solos com texturas contrastantes. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 1, p. 100-108, 2014.

NURK, L.; LUTZ B.; MICHAEL, W. Degradation of Fibre and Non-fibre Fractions During Anaerobic Digestion in Silages of Maize, Sunflower and Sorghum-Sudangrass of Different Maturities. **BioEnergy Research**, p. 1-11, 2016.

OLIVEIRA NETO, V. D.; DA SILVA, M. A. G.; CASTRO, C. D.; MOREIRA, A. Influência de boro no rendimento do girassol. **EMBRAPA SOJA**, 2007.

O'NEIL, M. A.; WARRENFELTZ, D.; KATES, K.; PELLERIN, P.; DOCO, T.; DARVILL, A. G.; ALBERSHEIM, P. Rhamnogalacturonan-II, a pectic polysaccharide in the walls of growing plant cell, forms a dimer that is covalently cross-linked by a borate ester. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 37, p. 22923-22930, 1996.

O'NEILL, M. A.; EBERHARD, S.; ALBERSHEIM, P.; DARVILL, A. G. Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II for *Arabidopsis* growth. **Science**, v. 294, n. 5543, p. 846-849, 2001.

O'NEILL, M. A.; ISHII, T.; ALBERSHEIM, P.; DARVILL, A. G. Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. **Annual review of plant biology**, v. 55, p. 109, 2004.

O'NEILL, M.; ISHII, T.; ALBERSHEIM, P.; DARVILL, A. G. Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. **Annual review of plant biology**, v. 55, p. 109, 2004.

OZTURK, M.; SAKCALI, S.; GUCEL, S.; TOMBULOGLU, H. Boron and plants. In: **Plant adaptation and phytoremediation**. Springer, Dordrecht, 2010. p. 275-311.

PALACIOS, C. The role of nutrients in bone health, from A to Z. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 46, n. 8, p. 621-628, 2006.

PARVAIZ, A.; STYAWATI, S. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants-a review. **Plant Soil and Environment**, v. 54, n. 3, p. 89, 2008.

POGORZELSKI, D. Q.; PINHEIRO, D. T.; QUEIROZ, V.; ALEXANDRE, J. C.; FARIA, A. F.; MARTINEZ, H. E. P. The retranslocation of boron is influenced by the nutritional status of cherry tomato plants. **Biosci. Journal**, Uberlândia, v. 36, n. 3, p. 761-767, May/June 2020.

REDONDO-NIETO, M.; RIVILLA, R.; EL-HAMDAOUI, A.; BONILLA, I.; BOLAÑOS, L. Research Note: Boron deficiency affects early infection events in the pea-Rhizobium symbiotic interaction. **Functional Plant Biology**, v. 28, n. 8, p. 819-823, 2001.

REID, R. J.; HAYES, J. E.; POST, A.; STANGOULIS, J. C. R.; GRAHAM, R. D. A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants. **Plant, Cell & Environment**, v. 27, n. 11, p. 1405-1414, 2004.

REID, R. Update on boron toxicity and tolerance in plants. **Advances in plant and animal boron nutrition**, v. 1, p. 83-90, 2007.

REUHS, B. L.; GLENN, J.; STEPHENS, S. B.; KIM, J. S.; CHRISTIE, D. B.; GLUSHKA, J. G.; ZABLACKIS, E.; ALBERSHEIM, P.; DARVILL, A. G.; O'NEILL, M. A. L-Galactose replaces L-fucose in the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II synthesized by the L-fucose-deficient mur1 Arabidopsis mutant. **Planta**, v. 219, n. 1, p. 147-157, 2004.

ROSOLEM, C. A.; BÍSCARO, T. Adsorção e lixiviação de boro em latossolo vermelho-amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 10, p. 1473-1478, 2007.

ROWE, R. I.; ECKHERT, C. D. Boron is required for zebrafish embryogenesis. **Journal of experimental biology**, v. 202, n. 12, p. 1649-1654, 1999.

RUIZ, M.; QUIÑONES, A.; MARTÍNEZ-ALCÁNTARA, B.; ALEZA, P.; MORILLON, R.; NAVARRO, L.; PRIMOMILLO, E.; MARTÍNEZ-CUENCA, M. 2016. Tetraploidy Enhances Boron-Excess Tolerance in Carrizo Citrange (*Citrus sinensis* L. Osb. × *Poncirus trifoliata* L. Raf.). **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 701, 2016.

RYDEN, P.; SUGIMOTO-SHIRASU, K.; SMITH, A. C.; FINDLAY, K.; REITER, W. D.; MCCANN, M. C. Tensile properties of *Arabidopsis* cell walls depend on both a xyloglucan cross-linked microfibrillar network and rhamnogalacturonan II-borate complexes. **Plant physiology**, v. 132, n. 2, p. 1033-1040, 2003.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Fisiologia das plantas**. São Paulo: Cengage Learning, 2012. 774 p.

SALTALI, K.; BILGILI, A.V.; TARAKCIOGLU, C.; DURAK, A. Boron adsorption in soils with different characteristics. **Asian Journal of Chemistry**, v.17, p.2487-2494, 2005.

SANTINI, J. M. K.; BUZZETTI, S.; GALINDO, F. S.; NOGUEIRA, L. M.; FILHO, M. C.M.; ALVES, C. J. **Adubação boratada na cultura da soja em área de cerrado**. XXXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 2015, Natal -RN.

SANTOS, C. L V.; CALDEIRA, G. Comparative responses of *Helianthus annuus* plants and calli exposed to NaCl: I. Growth rate and osmotic regulation in intact plants and calli. **Journal of Plant Physiology**, v. 155, n. 6, p. 769-777, 1999.

SHAHBA, Z.; BAGHIZADEH, A.; YOSEFI, M. The salicylic acid effect on the tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) germination, growth and photosynthetic pigment under salinity stress (NaCl). **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, v. 6, n. 3, p. 4-16, 2010.

SHARMA, H. R.; WHITE, B.; INGALLS, J. R. Utilization of whole rape (canola) seed and sunflower seeds as sources of energy and protein in calf starter diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 15, n. 2, p. 101-112, 1986.

SHIREEN, F.; NAWAZ, M. A.; CHEN, C.; ZHANG, Q.; ZHENG, Z.; SOHAIL, H.; SUN, J.; CAO, H.; HUANG, Y.; BIE, Z. Boron: functions and approaches to enhance its availability in plants for sustainable agriculture. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 7, p. 1856, 2018.

SHKOLNIK, M. Y. Trace Elements in Plants. New York: Elsevier, 1984.

SHORROCKS, V. M. The occurrence and correction of boron deficiency. **Plant and soil**, v. 193, n. 1, p. 121-148, 1997.

SILVA, C.A.; PINHEIRO, J.W.; FONSECA, N.A.N.; CABRERA, L.; NOVO, V. C. C.; SILVA, M. A. A. D.; HOSHI, E. H. Farelo de girassol na alimentação de suínos em crescimento e terminação: digestibilidade, desempenho e efeitos na qualidade de carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.982-990, 2002.

SINGH, D. P.; BELOY, J.; MCINERNEY, J. K.; DAY, L. Impact of boron, calcium and genetic factors on vitamin C, carotenoids, phenolic acids, anthocyanins and antioxidant capacity of carrots (*Daucus carota*). **Food chemistry**, v. 132, n. 3, p. 1161-1170, 2012.

SIZMAZ, Ö. Z. G. E.; KOKSAL, B.; YILDIZ, GÜLTEKİN. Rumen microbial fermentation, protozoan abundance and boron availability in yearling rams fed diets with different boron concentrations. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 26, n. 1, 2017.

SKORIC', D. The Genetics of Sunflower. In: Kovacevic, Z.; Škoric', D.; Sakac, Z. (Eds.), Sunflower Genetics and Breeding-International Monogram. **Serbian Academy of Sciences**, Serbia, pp. 1–125, 2012.

SOUSA, A.V.; DE CÓRDOVA GOBETTI, S. T. Silagem de girassol como alternativa forrageira. **Ciência Veterinária UniFil**, v. 1, n. 2, 2018.

SOUZA, A.; OLIVEIRA, M. F.; CASTIGLIONI, V. B. R. The boron on sunflower crop. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 25, n. 1, p. 27-34, 2004.

STANGOULIS, J. C. R.; REID, R. J.; BROWN, P. H.; GRAHAM, R. D. Kinetic analysis of boron transport in Chara. **Planta**, v. 213, n. 1, p. 142-146, 2001.

TAHIR, M. A.; AZIZ, T.; ASHRAF, M.; KANWAL, S.; MAQSOOD, M. A Beneficial effects of silicon in wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. **Pakistan Journal of Botany (Pakistan)**, 2006.

TAHIR, M. A.; AZIZ, T.; RAHMATULLAH, W. A. Silicon-induced growth and yield enhancement in two wheat genotypes differing in salinity tolerance. **Communications in soil science and plant analysis**, v. 42, n. 4, p. 395-407, 2011.

TAHIR, M; ASHRAF, S.; IBRAHIM, M. Effect of Foliar Application of Boron on Yield and Quality of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Crop & Environment**, v. 4, n. 1, p. 23-27, 2013.

TAKANO, J.; MIWA, K.; FUJIWARA, T. Boron transport mechanisms: collaboration of channels and transporters. **Trends in plant science**, v. 13, n. 8, p. 451-457, 2008.

TAKANO, J.; MIWA, K.; YUAN, L.; VON WIRÉN, N.; FUJIWARA, T. Endocytosis and degradation of BOR1, a boron transporter of *Arabidopsis thaliana*, regulated by boron availability. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 34, p. 12276-12281, 2005.

TAKANO, J.; NOGUCHI, K.; YASUMORI, M.; KOBAYASHI, M.; GAJDOS, Z.; MIWA, K.; HAYASHI, T.; YONEYAMA, T.; FUJIWARA, T. *Arabidopsis* boron transporter for xylem loading. **Nature**, v. 420, n. 6913, p. 337-340, 2002.

TAKANO, J.; WADA, M.; LUDEWIG, U.; SCHAAF, G.; VON WIRÉN, N.; FUJIWARA, T. The *Arabidopsis* major intrinsic protein NIP5; 1 is essential for efficient boron uptake and plant development under boron limitation. **The Plant Cell**, v. 18, n. 6, p. 1498-1509, 2006.

TANAKA, M.; FUJIWARA, T. Physiological roles and transport mechanisms of boron: perspectives from plants. **Pflügers Archiv-European Journal of Physiology**, v. 456, n. 4, p. 671-677, 2008.

TASSI, E.; GIORGETTI, L.; MORELLI, E.; PERALTA-VIDEA, J. R. GARDEA-TORRESDEY, J. L.; BARBAFIERI, M. Physiological and biochemical responses of sunflower (*Helianthus annuus* L.) exposed to nano-CeO₂ and excess boron: modulation of boron phytotoxicity. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 110, p. 50-58, 2017.

TOMICH, T. R.; GONÇALVES, L. C.; TOMICH, R. G. P.; RODRIGUES, J. A. S.; BORGES, I.; RODRIGUEZ, N. M. Características químicas e digestibilidade in vitro de silagens de girassol. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 1672-1682, 2004.

TURAN, M. A.; TABAN, N.; TABAN, S. Effect of calcium on the alleviation of boron toxicity and localization of boron and calcium in cell wall of wheat. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 37, n. 2, p. 99-103, 2009.

TURHAN, A.; KUŞÇU, H.; ÖZMEN, N.; DEMİR, A. Farklı tuzluluk düzeylerinin sarımsakta (*Allium sativum* L.) verim ve bazı kalite özelliklerine etkisi. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 20, n. 3, p. 280-287, 2014.

TÜRKER, O. C.; VYMAZAL, J.; TÜRE, C. Constructed wetlands for boron removal: A review. **Ecological Engineering**, v. 64, p. 350-359, 2014.

TURKEZ, H.; TATAR, A.; HACIMUFTUOGLU, A.; OZDEMIR, E. Boric acid as a protector against paclitaxel genotoxicity. **Acta Biochimica Polonica**, v. 57, n. 1, 2010.

ULUISIK, I.; KARAKAYA, H. C.; KOC, A. The importance of boron in biological systems. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 45, p. 156-162, 2018.

VAUGHAN, D.; ORD, B. Influence of phenolic acids on morphological changes in roots of *Pisum sativum*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 52, n. 3, p. 289-299, 1990.

WALLACE, I. S.; CHOI, W.G.; ROBERTS, D. M. The structure, function and regulation of the nodulin 26-like intrinsic protein family of plant aquaglyceroporins. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1758, n. 8, p. 1165-1175, 2006.

WU, X.; RIAZ, M.; YAN, L.; JIANG, C. Distribution and mobility of foliar-applied boron (10B) in citrange rootstock under different boron conditions. **Journal of plant growth regulation**, v. 39, n. 2, p. 575-582, 2020.

YAN, X.; WU, P.; LING, H.; XU, G.; XU, F.; ZHANG, Q. Plant nutriomics in China: an overview. **Annals of botany**, v. 98, n. 3, p. 473-482, 2006.

YU, Q.; HLAVACKA, A.; MATOH, T.; VOLKMANN, D.; MENZEL, D.; GOLDBACH, H. E.; BALUSKA, F. Short-term boron deprivation inhibits endocytosis of cell wall pectins in meristematic cells of maize and wheat root apices. **Plant physiology**, v. 130, n. 1, p. 415-421, 2002.

ZAKIR HOSSAIN, A. K. M.; ASGAR, M. A.; HOSSAIN, M. A.; TOSAKI, T.; KOYAMA, H.; HARA, T. Boron-Calcium Synergically Alleviates Aluminum Toxicity in Wheat Plants (*Triticum aestivum* L.). **Soil Science & Plant Nutrition**, v. 51, n. 1, p. 43-49, 2005.

ZHEN, M.; CUI, M.; XIA, J.; MA, C.; LIU, C. Effect of nitrogen and phosphorus on alleviation of boron toxicity in *Puccinellia tenuiflora* under the combined stresses of salt and drought. **Journal of Plant Nutrition**, v. 42, n. 14, p. 1594-1604, 2019.

ZOBIOLE, L. H. S.; CASTRO, C.; OLLIVEIRA, F. A.; JUNIOR, A. O.; MOREIRA, A. Sunflower Micronutrient Uptake Curves. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 35, n. 2, p.346-353, 2011.

CAPÍTULO 4

ANÁLISE E CARACTERIZAÇÃO DA IMPLEMENTAÇÃO DO PROGRAMA DE ALIMENTAÇÃO ESCOLAR - PNAE NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU- SP ENTRE OS ANOS DE 2010 A 2017

Data de aceite: 03/04/2023

Leonardo França da Silva

Universidade de Federal Viçosa
Viçosa – Minas Gerais (Brasil)
<https://orcid.org/0000-0002-9710-8100>

Victor Crespo de Oliveira

Universidade Estadual Paulista – Unesp
Botucatu – São Paulo (Brasil)
<https://orcid.org/0000-0003-2719-9972>

Ana Isabel de Freitas Soares Oliveira

Centro Universitário INTA
Sobral – Ceará (Brasil)
<https://orcid.org/0000-0003-0700-0946>

Letícia Duron Cury

Universidade Estadual Paulista – Unesp
Botucatu – São Paulo (Brasil)
<https://orcid.org/my-orcid?orcid=0000-0003-2394-5069>,

Érika Manuela Gonçalves Lopes

Universidade Federal de Minas Gerais
Montes Claros - MG
<https://orcid.org/0000-0002-7518-8955?lang=pt>

João Victor Barroso Gonçalves

UNIVICOSA - Centro universitário de
Viçosa
Viçosa – Minas Gerais (Brasil)
<https://orcid.org/my-orcid?orcid=0000-0003-3837-4203>

Rodrigo Sebastião Machado de Freitas

Universidade Federal de Viçosa — Minas
Gerais
Viçosa – Minas Gerais (Brasil)
<https://orcid.org/0009-0005-0503-1505>

Kamila Cristina de Credo Assis

Universidade de São Paulo
Piracicaba – São Paulo (Brasil)
<https://orcid.org/0000-0003-4016-2541>

Marcos Antônio Pereira da Fonseca Maltez

Universidade Federal Rio Grande do Sul
Porto Alegre – Rio Grande do Sul (Brasil)
<https://orcid.org/0000-0003-0941-8051>

Rafaella Resende Andrade

Universidade Federal de Goiás
Goiânia – Goiás
<https://orcid.org/0000-0003-3182-0741>

Irene Menegali

Universidade Federal de Minas Gerais
<https://orcid.org/0000-0001-5323-4693>

Ariadna Faria Vieira

Universidade Estadual do Piauí
Uruçuí- Piauí (Brasil)
<https://orcid.org/0000-0002-1185-4269>

RESUMO: O Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) instituiu-se com a Lei nº 11.947/2009, este é um programa relevante para a segurança alimentar e nutricional e, para a valorização e incentivo da agricultura familiar. Essa política pública tornou-se um importante canal de comercialização de produtos originários da agricultura familiar, promovendo a melhoria da alimentação escolar para crianças e adolescentes da rede pública de ensino. Com base nessas considerações o objetivo desta pesquisa é analisar os principais aspectos e impactos da implantação Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) no município de Botucatu durante o período de 2010 a 2017. Para alcançar os objetivos propostos foi realizado a coleta de dados através de um levantamento inicial dos estabelecimentos agropecuários do município e, posteriormente, foram realizadas entrevistas com os gestores municipais e com grupos de agricultores familiares que participaram do PNAE. A partir da implantação da Lei nº 11.947/2009 no município de Botucatu, verificou-se que houve uma ampliação expressiva dos valores contratados do PNAE e dos agricultores familiares envolvidos nas chamadas públicas entre o ano de implementação da lei (2011) e o ano de 2017. A institucionalização do PNAE no município corroborou com o fortalecimento econômico e social do agricultor familiar, sendo um importante meio de geração de renda para as famílias envolvidas.

PALAVRAS-CHAVE: Agricultura familiar, Desenvolvimento Rural, Segurança Alimentar.

ABSTRACT: The Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) was established with Law nº 11,947/2009, this is a relevant program for food and nutritional security and, for the valorization and encouragement of family farming. This public policy has become an important channel for the commercialization of products originating in family farming, promoting the improvement of school feeding for children and adolescents in the public school system. Based on these considerations, the objective of this research is to analyze the main aspects and impacts of the PNAE's implementation in the municipality of Botucatu during the period from 2010 to 2017. To achieve the proposed objectives, data were collected through an initial survey of agricultural establishments in the municipality and, later, interviews were conducted with municipal managers and groups of family farmers, who participated in the PNAE. From the implementation of Law nº 11,947/2009 in the municipality of Botucatu, it was verified that there was a significant increase in the contracted values of the PNAE and the family farmers involved in public calls between the year of implementation of the law (2011) and the year 2017. The institutionalization of the PNAE in the municipality corroborated the economic and social strengthening of the family farmer, being an important means of generating income for the families involved.

KEYWORDS: Family farming, Rural Development, Food Safety.

1 | INTRODUÇÃO

A agricultura familiar pode ser considerada um segmento de grande importância para o desenvolvimento da segurança alimentar no país, essa durante muito tempo foi inferiorizada, marginalizada e deixada de lado nas formulações de políticas públicas. Contudo, esse cenário começou a ser alterado a partir de muitas mobilizações de organizações de agricultores familiares que culminaram com a conquista, a partir do ano de 1996, do Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar (PRONAF) (Grisa et

al., 2011; Peixinho, 2013).

A partir daí a agricultura familiar, começou a ter mais participação nas políticas públicas, específicas de acesso ao crédito, terra, seguro agrícola, moradia, auxílio à comercialização, entre outros. Neste período a agricultura familiar se beneficiou com diversas outras políticas públicas que foram implementadas como o Programa de Aquisição de Alimentos (PAA), em 2003, e o Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), em 2009, sendo estas ações intersetoriais de combate à fome e à pobreza através do Programa Fome Zero (PFZ) e das ações do Plano Brasil Sem Miséria (Mattei, 2007; Peixinho, 2011).

Porém, ainda faltavam políticas para escoamento e venda da produção da agricultura familiar com preço justo, com o objetivo de atender a essas pautas e ajudar no fortalecimento da agricultura familiar. Nos últimos anos o Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), vem ganhando destaque no Brasil por conseguir atender essas demandas (Grisa; Zimmermann, 2015, Silva, 2020). O PNAE se fortaleceu com a Lei nº 11.947, de 2009, que instituiu novos parâmetros a essa política pública, com a determinação de que do total dos recursos financeiros repassados pelo Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE), no âmbito do PNAE, no mínimo 30% devem ser utilizados na aquisição de gêneros alimentícios da agricultura familiar e/ou suas organizações (FNDE, 2014).

Essa política pública conhecida historicamente como “Programa de Merenda Escolar”, trata-se da transferência de recursos financeiros do Governo Federal, por meio do Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE), aos estados, distrito federal e municípios, para a aquisição de gêneros alimentícios de qualidade, destinados aos alunos do Ensino Básico da rede pública (FNDE, 2014). Em virtude dos benefícios alcançados pelo PNAE em segurança alimentar e nutricional e pela garantia da comercialização dos produtos da agricultura familiar, essa política pública tem sido propagada por todo o território nacional, tornando um importante canal de comercialização de produtos vindos da agricultura familiar, promovendo melhoria da alimentação escolar para crianças e adolescentes da rede pública de ensino, contribuindo para o desenvolvimento rural local (BRASIL, 2009; BRASIL, 2012; Bovolenta, 2017; Antoniolli, 2019).

O município de Botucatu, localizado no Centro-Oeste do estado de São Paulo, é conhecido por ser um importante fornecedor de produtos orgânicos e de algumas cadeias produtivas do agronegócio paulista. A agricultura familiar tem ganhado espaço com sua produção e com os benefícios advindos do PNAE no município. Vale destacar que, o PNAE foi implantado no município de Botucatu, no ano de 2010, e tem se verificado crescimento expressivo no decorrer nos anos. Atualmente, quarenta cinco agricultores familiares participam das chamadas públicas de alimentos, com a participação da CATI e com apoio da Secretaria Municipal de agricultura e abastecimento (Silva, 2020).

Mediante o exposto, o trabalho tem como principal objetivo analisar os aspectos e impactos da implantação Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) no município de Botucatu entre os anos de 2010 e 2017. Especificamente, objetivou-se descrever o

processo de implantação do programa no município, caracterizar as ações promovidas pela política pública de segurança alimentar, apresentar os resultados econômicos e sociais obtidos e, desta forma, analisar indicadores e os principais impactos do programa na região avaliada.

2 | REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Agricultura Familiar e a contribuição para a economia do Brasil

A definição da agricultura familiar é considerada bastante complexa, leva em consideração, vários fatores como o modo de organização de trabalho das famílias, tamanho da propriedade, a gestão e mão de obra do estabelecimento. Segundo a Lei 11.326 de julho de 2006, que define as diretrizes para formulação da Política Nacional da Agricultura Familiar e os critérios para identificação desse público, o agricultor familiar é o indivíduo que exerce ou desempenha atividades no meio rural, sua propriedade possui até 4 (quatro) módulos fiscais e a mão de obra utilizada no processo produtivo vem predominantemente da família (BRASIL, 2006a; Schneider, 2003; Silva et al.,2021).

Art. 3º. Para os efeitos desta Lei, considera-se agricultor familiar e Empreendedor familiar rural aquele que pratica atividades no meio rural, atendendo, simultaneamente, aos seguintes requisitos:

I - Não detenha, a qualquer título, área maior do que 4 (quatro) módulos fiscais; II - utilize predominantemente mão de obra da própria família nas atividades econômicas do seu estabelecimento ou empreendimento; III - tenha renda familiar predominantemente originada de atividades econômicas vinculadas ao próprio estabelecimento ou empreendimento; IV - dirija seu estabelecimento ou empreendimento com sua família.

(BRASIL, 2006a).

Essa definição normativa da agricultura familiar é interessante porque a agricultura familiar apresenta números expressivos no rural brasileiro. Segundo os números do último Censo Agropecuário de 2017 divulgado no ano de 2019, existem 5.073.324 estabelecimentos de agricultores familiares, que ocupam cerca de 351,289 milhões de hectares, o que corresponde a aproximadamente 41% da área total do país. Vale destacar que, sete de cada dez empregos no campo provém da agricultura familiar e a maior parte da alimentação dos brasileiros vem da agricultura familiar, sendo esta fundamental para a manutenção da segurança alimentar da nação (Ortega, 2008; IBGE, 2021).

No Brasil, a agricultura familiar é vista como um segmento de grande importância socioeconômica, sendo considerada um setor estratégico para o país e um dos pilares do projeto nacional de desenvolvimento (Martins; Mendes, 2009; Batalha et al., 2005; Ortega,2008). Essa atividade, desempenha papel importante na produção de alimentos e de matérias primas, e também exerce diversas outras significativas atribuições, como segurança alimentar, redistribuição de renda, manutenção e geração de empregos, gestão

de territórios rurais e garantia da soberania e segurança alimentar do país (Peres et al., 2013).

O agricultor familiar tem um papel fundamental no setor agropecuário brasileiro, segundo dados do censo agropecuário de (2006), os alimentos básicos como feijão, arroz, milho, mandioca e hortaliça vindos da agricultura familiar, chegam ser responsáveis por 70% da produção nacional (IBGE 2006; Hoffmann, 2015; Silva, 2020). Diante da relevância da agricultura familiar no contexto brasileiro, é possível verificar que essa atividade é um importante instrumento para a geração de renda no campo, promovendo o crescimento do setor rural brasileiro e garantindo a segurança alimentar e nutricional de muitos brasileiros.

2.2 Segurança Alimentar

O termo segurança alimentar garante uma série de concepções, muitas vezes associadas às condições econômicas e sociais dos países que empregam esse conceito. Como por exemplo, países desenvolvidos e com grande produção agrícola, usam desse princípio a fim de aumentar e agregar valores aos seus produtos, além de estabelecer barreiras nas importações. Já os países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, utilizam para fixar e tabelar produtos, estabelecendo dessa forma uma forte relação entre a produção agrícola e o Estado, agradando os produtores rurais, contentando os eleitores (Belik, 2003).

Ressalta-se que, a segurança alimentar tem sido explorada de maneira assídua nas últimas décadas, assim, questões relacionadas à pobreza e ao combate da fome têm despertado grande interesse do Estado e das organizações que utilizam do conceito como uma alternativa para acabar ou amenizar os problemas sociais. No Brasil, pode-se constatar um número significativo de pessoas que não tem acesso ao alimento, entretanto, desde os tempos do Brasil-Colônia já existia uma apreensão dos governantes em relação alimentação da população. Com o passar do tempo, o governo criou as políticas públicas a fim de diminuir o problema de a insegurança alimentar (Takagi, 2010; Belik, 2003; Belik, 2009). Destaca-se que, a segurança alimentar não visa somente promover alimentação saudável e nutritiva, objetiva também à eliminação de resíduos tóxicos e químicos, buscando uma produção e consumo efetivo e sustentável (CONSEA 2010).

Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), em relação alimentação recomenda-se que o consumo diário seja em média de 2.200 calorias para um adulto, o fato é que milhões de pessoas no mundo não conseguem atingir essa média diária, muitas das vezes devido à falta de acesso aos alimentos, o que leva a chamada insegurança alimentar (FAO, 2004). Em 2006 ocorreu no Brasil um importante acontecimento relacionado ao tema segurança alimentar, que foi aprovação da lei de segurança alimentar e nutricional, que impõe os princípios dos instrumentos internacionais sobre os direitos humanos (DHAA). A Lei N° 11.346, sancionada no dia 15 de setembro de 2006, define que o todo cidadão brasileiro tenha direito a uma alimentação

saudável e de qualidade, acessível, realizada de forma regular e diária em quantidade que satisfaça as necessidades fisiológicas do ser humano. Garante que todos os cidadãos brasileiros tenham direito de se alimentar de forma devida levando em consideração as condições regionais de produção de alimento, colocando em destaque as condições ambientais, econômicas e sociais envolvidas (Conti, 2009; BRASIL, 2006b).

2.3 Programas públicos para o meio rural

O histórico de intervenção econômica por parte do Estado no Brasil teve início com o governo de Getúlio Vargas nos anos de 1930. Essa intervenção teve como principal objetivo promover a industrialização do país, adotando estratégias de substituição das importações; dessa forma, as primeiras empresas industriais brasileiras eram favorecidas. Essa prática movimentava o mercado interno, gerava empregos e promovia mudanças sociais e econômicas no país (IPEA, 2010).

Essas mudanças ocorreram em um contexto da crise internacional de 1929, em que o Estado brasileiro se deparou com um cenário em que era necessário incentivar a produção interna para diminuir a dependência externa de produtos. Desse modo, a construção de um mercado interno e o início da industrialização foram maneiras de diminuir as importações. Ao mesmo tempo ocorria a expansão urbana e industrial e isso elevou a demanda de produtos alimentícios. A modernização da agricultura no Brasil aconteceu graças às políticas governamentais. Entre 1930 e 1949, ocorreu a centralização das políticas governamentais e a maior regionalização das políticas agrícolas. Houve então o aumento da diversificação e do crescimento da produção, devido à federalização das políticas de fomento e defesa dos segmentos rurais organizados (Ribeiro, 2010)

A produção de alimentos no Brasil, sem a utilização de tecnologias industriais no processo de produção, foi suficiente para atender as demandas do meio urbano até meados de 1960. No cenário socioeconômico, o meio rural brasileiro era marcado tecnologias tradicionais, por grandes concentrações fundiárias e baixos salários para os trabalhadores (Delgado, 1999).

Nesse contexto, cresceram as críticas à condição “atrasada” que se encontrava a agricultura brasileira. Outro dilema que também vinha à tona era a questão agrária do Brasil. Essa problemática fortaleceu o surgimento de movimentos de interesse pela reforma agrária, e foi pautada pelos governos até 1964, quando foi barrada pelo golpe militar. Nos anos de 1965 a 1980 o Estado adotou um pacote de incentivos que disponibilizava crédito aos produtores rurais e promovia a utilização de insumos e de maquinários agrícolas. A adoção desses “pacotes” só aumentou as desigualdades socioeconômicas que já existiam no meio rural brasileiro, visto que o capitalismo latifundiário se fortaleceu.

Dentro dessa perspectiva, ocorreu a exclusão dos produtores familiares no processo de industrialização da agricultura. Entre 1985 e 1990, voltaram a ser tratadas as questões que foram excluídas durante a ditadura militar, como o movimento a favor

da reforma agrária, a questão do meio ambiente, e também a relação entre sociedade e natureza (Delgado, 1999). Nessa perspectiva, as comunidades rurais foram totalmente desconsideradas no processo de formulação de políticas públicas e muitas vezes foram excluídas dos processos de desenvolvimento e gestão local. Isso acarretou disputas em torno dos seus direitos pela permanência de costumes, terras e recursos (Ribeiro, 2010).

2.4 PNAE e Agricultura Familiar

Alimentação escolar pode ser considerada fundamental no processo de desenvolvimento e formação do estudante garantindo uma alimentação mínima aos estudantes de baixa renda, atendendo de maneira considerável o problema da insegurança alimentar. Com isso, o PNAE pode ser visto como um importante instrumento que auxilia na garantia da segurança alimentar no Brasil (Oliveira et al., 2012; Martinelli et al., 2014).

O PNAE teve sua origem em 1940, mas somente em 1988 com adesão da nova constituição federal, o direito à alimentação escolar foi garantido para todos os estudantes do ensino fundamental, a alimentação escolar passou a ser defendida como direitos dos estudantes. O PNAE caracteriza-se como a política pública mais antiga do país na área de segurança alimentar e nutricional, sendo considerado um dos mais efetivos e de maior longevidade na área de alimentação escolar do mundo. O PNAE tinha como princípio diminuir a desnutrição e a fome, problemas de maior abrangência na saúde pública brasileira (Grisa et. al., 2011).

O Programa da ênfase em assentamentos da reforma agrária, indígenas, comunidades tradicionais e comunidades quilombolas para realizar a compra de alimentos da Agricultura Familiar, e além de definir um valor por aluno em cada fase estudantil (BRASIL, 2009; BRASIL, 2012). Outro fato que deve mencionado sobre a política pública PNAE, foi a criação lei de nº 11.947 criada em 2009, que determina que todas as escolas públicas devessem destinar no mínimo 30% de todos os recursos obtidos do fundo nacional de desenvolvimento educação para compra de produtos da agricultura familiar. Com isso, valoriza a produção diversificada, a produção orgânica e estimula a organização dos agricultores familiares em cooperativas familiares e associações (BRASIL, 2014).

"Do total dos recursos financeiros repassados pelo FNDE, no âmbito do PNAE, no mínimo 30% (trinta por cento) deverão ser utilizados na aquisição de gêneros alimentícios diretamente da agricultura familiar e do empreendedor familiar rural ou de suas organizações, priorizando-se os assentamentos da reforma agrária, as comunidades tradicionais indígenas e comunidades quilombolas".

(BRASIL, 2009).

Vale ressaltar que, o Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE) vinculado ao Ministério da Educação (MEC) passou, a partir do ano de 1998, ser o principal responsável pelo dos recursos oriundos do Governo Federal para a alimentação escolar

nos estados e municípios complementar este recurso, caso fosse necessário, além de arcar com os custos operacionais do programa. O Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE) valendo-se das suas atribuições gerencia o Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) (FNDE, 2016). Desta forma, pode se afirmar que as políticas públicas como o programa nacional de alimentação escolar (PNAE), garantem uma série de vantagens que permite de garantir comercialização para agricultores familiares, levando a acesso da segurança alimentar e dessa forma garantir o desenvolvimento rural regional (Ortega, 2008).

3 I METODOLOGIA DA PESQUISA

3.1 Caracterização da área de estudo

A pesquisa foi conduzida no município de Botucatu (Figura 1). Trata-se, de um município brasileiro localizado na região Centro-Oeste do estado de São Paulo, com latitude sul de $22^{\circ}53'09''$, longitude oeste de $48^{\circ}26'42''$. O acesso se dá pelas rodovias Marechal Rondon e Castelo Branco.

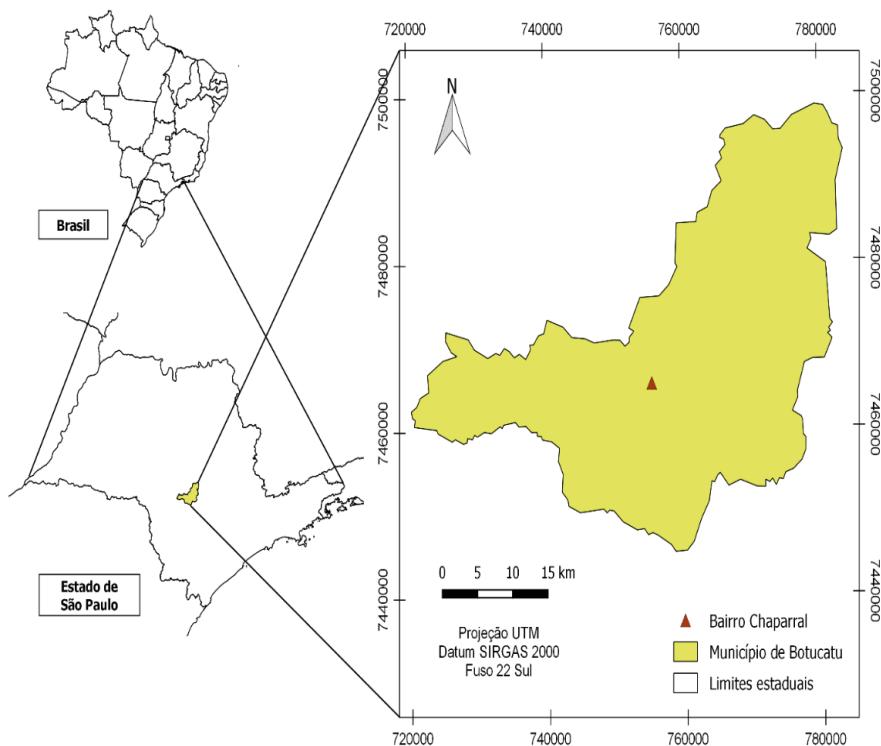


Figura 1 - Mapa do Brasil com ênfase para o estado de São Paulo e destaque para o mapa do município de Botucatu.

Fonte: Elaborado pelos autores (2022).

O Município é caracterizado pelo seu clima ameno, com temperaturas médias de 15 ° C, no período de inverno e 25 ° C no verão. O clima local é classificado como Subtropical Úmido, e a classificação Koppen é do tipo Cwa, Clima Subtropical Úmido (CEPAGRI, 2021). Botucatu está inserido entre as bacias dos rios Tietê, ao norte e Pardo, ao sul, Segundo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2021). Botucatu tem uma população de 144.820 habitantes, com uma população rural de 4%, ou seja, 5.794 mil habitantes. O Município também está inserido em uma Área de Proteção Ambiental (APA), área criada pelo estado de São Paulo como uma política ambiental, visando proteger as Cuestas Basálticas e os Morros Testemunhos (Silva, 2019; Campos, 2018; Silva, 2020; Silva et al., 2021).

Sua relevância em nível nacional, principalmente pelo afloramento e recarga do Sistema Aquífero Guarani, se projeta representando importante Patrimônio Arqueológico e Cultural da Região (Figura 2). Botucatu faz divisa com os municípios de Avaré, Bofete, Itatinga, Pardinho, Pratânia e São Manuel (Silva, 2019, Campos, 2018). Conforme o Conselho Municipal de Desenvolvimento Rural Sustentável (CMDRS) e por Campos (2018) e Silva (2020), o território do município Botucatu é dividido em nove setores rurais compostos por 17 bairros (Figura 2): 1 – Vitoriana, Rio Bonito, Mina, Oiti; 2 – Pátio 8, Morro do Peru; 3 – Demétria, Alto Capivara; 4 – Colônia Santa Marina; 5 – Baixada Serrana, Piapara; 6 – Bairro dos Mouras, Araquá; 7 – Monte Alegre; 8 – Faxinal; 9 – Chaparral, Rubião Junior.

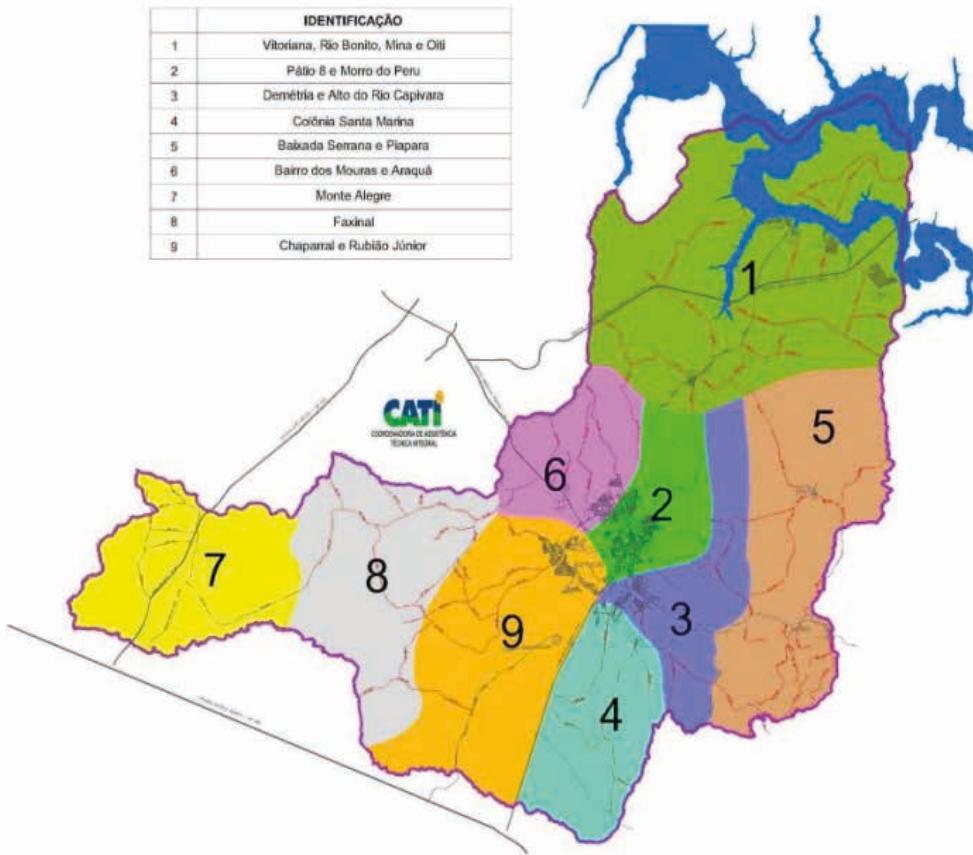


Figura 2 - Município de Botucatu (SP) e os nove setores que o compõe.

Fonte: CMDRS, 2010

3.2 Instrumentos de investigação e análise dos dados

Para o alcance dos objetivos propostos por esta pesquisa foi realizado a coleta de dados através de um levantamento inicial dos estabelecimentos agropecuários do município de Botucatu (SP). Foram efetuadas entrevistas com os gestores municipais e com grupos de agricultores familiares que participaram do PNAE. Todas as informações foram coletadas por meio da aplicação de questionário semiestruturado, com roteiro previamente elaborado dando enfoque em perguntas relacionadas ao tema abordado. As entrevistas tinham como objetivo verificar a implantação da Lei 11.947/2009 pelo município e adesão pelo grupo de agricultores (Esquerdo et al., 2013).

O questionário da pesquisa foi elaborado com questões qualitativas e quantitativas buscando descrever e analisar a implantação desta política pública no município. O presente artigo foi dividido em seções para a caracterização e a descrição dos impactos econômicos, sociais e de segurança alimentar da política pública PNAE para os agricultores

familiares e suas organizações nos anos de 2010 a 2017 em Botucatu. Desta forma, foram entrevistados quatro gestores municipais, sendo eles: secretária de educação, secretário de agricultura, nutricionista e administrador da divisão de alimentação escolar.

A lista de agricultores familiares foi obtida na divisão de alimentação escolar da prefeitura municipal com os devidos nomes dos produtores rurais familiares e, esta foi comparada com dados da Prefeitura Municipal de Botucatu e do Conselho Municipal de Segurança Alimentar (COMUSAN). Sendo possível realizar uma abordagem de todos os agricultores que participaram da chamada da pública executada em 2017. Todas as coletas de dados por meio de entrevistas ocorreram de julho a dezembro de 2018. Ressalta-se que, foram resguardados os nomes dos produtores rurais ou quaisquer dados que os identificassem na tabulação e análise da pesquisa.

4 I RESULTADOS E DISCUSSÃO INSTITUCIONALIZAÇÃO DO PNAE EM BOTUCATU

4.1 Institucionalização do PNAE e caracterização do programa em Botucatu

A implantação da Lei nº 11.947 ocorreu através da Resolução nº 38 do FNDE, a mesma estabelece que o repasse do recurso pelo Governo Federal para a alimentação escolar deve ser feito através de chamadas públicas e, considera que no mínimo 30% dos recursos repassados para alimentação no âmbito escolar devem ser destinados aos agricultores familiares. O agricultor familiar pode participar da chamada pública de maneira individual ou de maneira coletiva, essa por meio de associações e de organizações. Para participação regular da chamada pública o agricultor deve possuir a Declaração de Aptidão ao PRONAF (DAP).

A partir da lei sancionada no âmbito nacional, surgiu a necessidade de apresentação da legislação e das diretrizes aos gestores, agricultores e suas associações na esfera local. Para mobilização de todos os envolvidos foram realizados reuniões e encontros para melhor entendimento da Lei nº 11.947 na Prefeitura Municipal e também na sede da Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI) de Botucatu.

No ano de 2010, após a sanção da lei do PNAE foram realizadas reuniões para a elaboração da chamada pública local entre os departamentos de educação, alimentação escolar, agricultura, jurídico e os conselhos municipais de desenvolvimento rural e de alimentação escolar para definição do modelo de contrato a ser seguido e do cardápio de gêneros alimentícios do qual consiste na valorização dos produtos regionais em busca de garantir a segurança alimentar.

Após a elaboração da chamada pública pelo poder público municipal em conjunto com poder público estadual e conselhos locais, houve a mobilização dos agricultores familiares, de maneira coletiva e individual para compreensão das regras legais, juntamente dos prazos da chamada pública, e forma de contratação e pagamento dos respectivos

agricultores. A institucionalização plena da lei do PNAE ocorreu na efetivação da primeira chamada pública no ano de 2010, sendo destaque na região, uma vez que foi pioneiro na elaboração e na concretização da legislação vigente implantada em 2009.

4.2 Caracterização do PNAE em Botucatu

A lei do PNAE em 2009 regulamentava o valor máximo de venda de produtos oriundos da agricultura familiar até R\$ 9.000,00 por DAP por ano. Em relação aos valores contratados pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) no município de Botucatu vem crescendo ao decorrer dos anos, conforme o apresentado na Figura 3, que estabelece os valores financeiros contratados no período de 2010-2017, no município de Botucatu (SP). De acordo com os dados da Secretaria Municipal de Educação de Botucatu, no ano de 2010 houve repasse FDNE (Fundo Nacional Desenvolvimento Escolar) no valor de R\$ 466.974,00 para primeira chamada pública, deste somente R\$ 125.887,00 foram efetivamente contratados. Portanto, verifica-se que o valor contratado foi de apenas 26,95% do valor repassado pelo governo federal para o recurso das compras governamentais da agricultura familiar, fato que não cumpre ao que fora estabelecido nas diretrizes do PNAE. Esta situação é justificada pela baixa mobilização dos agricultores para venda de alimentos, além das dificuldades de compreensão e da burocracia exigida em uma chamada pública.

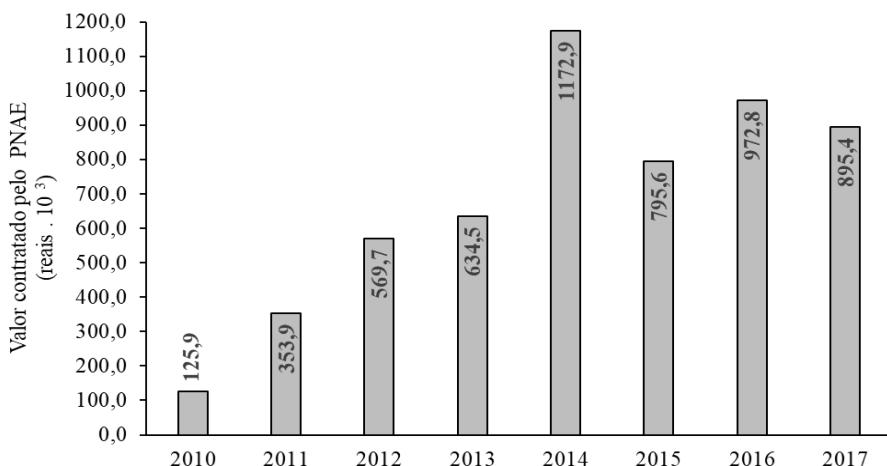


Figura 3- Valores contratados pelo PNAE no município de Botucatu (SP) durante período de 2010 a 2017

Fonte: Elaborado pelos autores (2022).

No ano de 2011 houve maior repasse pelo FNDE no valor de R\$ 353.961,30 para segunda chamada pública, deste somente R\$ 569.731 foram efetivamente contratados, portanto verificou-se que o valor contratado foi de 72%, nota-se um aumento do valor

adquirido do repasse para agricultura familiar, mesmo com a ampliação dos valores contratados ainda não atingiu a meta estabelecida pelo programa que é no mínimo de 30% dos produtos advindos da agricultura familiar. A lei nº 11. 947/2009 previa o limite máximo de R\$ 9.000,00 por DAP por ano até o ano de 2012. Em julho esse limite máximo de venda de produtos oriundos da agricultura familiar foi aumentado para R\$ 20.000,00 por DAP/ano. Nos anos de 2012 e 2013 não foram atingidos os 30% da aquisição de produtos da agricultura familiar, no ano de 2013 os recursos destinados do FNDE chegaram ao valor utilizado de 96% dos recursos destinados ao PNAE no Município.

No ano de 2014 houve maior valor contratado pelas chamadas públicas do PNAE e repasse pelo Fundo Nacional Desenvolvimento da Educação no valor de R\$678.321,60 disponíveis para a quinta chamada pública, deste R\$ 1.172.875,77 foram efetivamente contratados, portanto verificou-se que o valor contratado atingiu a cota de no mínimo de 30% dos produtos obtidos, conforme o regulamento da lei específica da agricultura familiar. Um fator que deve ser mencionando e que no ano de 2014 os valores financeiros do programa foram os maiores desde a implantação, nota-se que os valores resultantes dos anos anteriores foram utilizados neste referido ano.

Nos anos de 2015 e 2016 os valores obtidos foram superiores aos 30% da aquisição de produtos da agricultura familiar dos recursos destinados ao PNAE no Município. No ano de 2017 houve o maior repasse pelo FNDE (Fundo Nacional Desenvolvimento da Educação) no valor de R\$ 698.721,00 para a sétima chamada pública, destes R\$ 895.425,00 foram efetivamente contratados, com base nesses valores permite concluir que o Programa Nacional de Alimentação Escolar alcançou os seus objetivos evidenciando um crescimento satisfatório de mais de 700% em relação aos valores adquiridos da agricultura familiar no ano de 2010 em comparação ao ano de 2017.

4.3 Efeitos da aquisição de alimentos na quantidade de agricultores familiares

Em relação à participação dos agricultores familiares ao Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE). No ano da implantação do programa no município de Botucatu, apenas 13 agricultores participaram da primeira chamada pública, verificou-se que a participação dos agricultores foi abaixo do esperado, por se tratar de uma lei federal recente, não tendo uma mobilização satisfatória por parte dos agricultores devido aos trâmites burocráticos exigidos e da falta de compreensão da lei do PNAE. As informações sobre a participação do número de agricultores familiares nas chamadas públicas encontram-se representados na Figura 4.

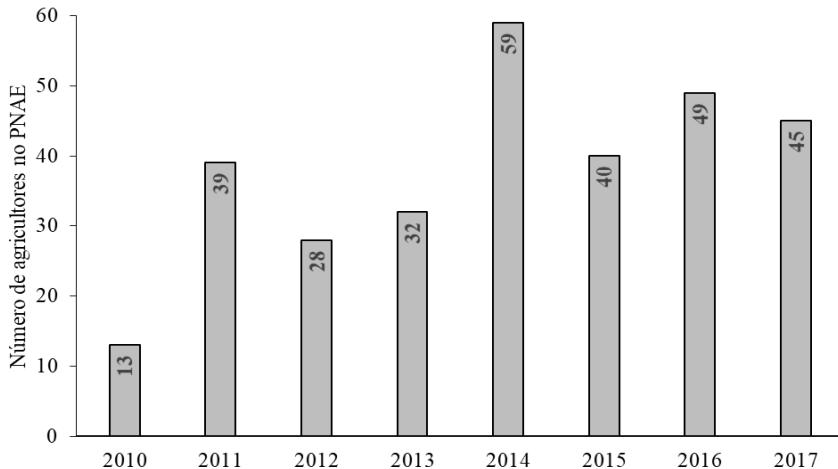


Figura 4 - Número de agricultores que participam das chamadas públicas do PNAE no município de Botucatu no período de 2010 a 2017

Fonte: Elaborado pelos autores (2022).

No ano de 2011 o número de agricultores familiares participantes das chamadas públicas do PNAE foi de 39 agricultores familiares, observou-se ampliação de 300% da participação do público beneficiário, quando comparado ao ano anterior. No ano de 2012, houve redução da participação dos agricultores em 28%. O motivo para tal acontecimento é justificado pelo aumento do valor da venda de produtos por DAP/ano do valor de R\$ 9.000,00 para R\$ 20.000,00 por agricultor familiar por ano, reduzindo, portanto, o número total de agricultores familiares contratados neste respectivo ano.

Considera que nos de 2014 e 2017 alcançaram os maiores indicadores de participação da agricultura familiar nas chamadas públicas do PNAE no município de Botucatu. Respectivamente foram contratados 59 e 49 agricultores familiares neste período. O ano de 2014 foi a maior ascensão do programa com valores totais de R\$ 1.172.875,77 efetivamente contratados, atingindo a cota de no mínimo de 30% dos produtos obtidos da agricultura familiar. Nos últimos anos, de 2015 e 2017, houve uma redução da participação no programa municipal aos limites de 40 e 45 agricultores familiares contratados nas chamadas públicas do PNAE de Botucatu, este fato pode estar associado a desvinculação de agricultores as associações de produtores, fazendo que os mesmos não pudessem participar das chamadas públicas. Comparando o último do ano do presente estudo com ano da implantação, houve um acréscimo de 346% do número de agricultores familiares participantes do PNAE no município de Botucatu.

4.4 Levantamento da aquisição de alimentos e da organização social dos agricultores

O objetivo principal das chamadas públicas é de adquirir gêneros alimentícios da agricultura familiar e do empreendedor familiar rural para o atendimento do Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE). Nos sete anos de análise das compras governamentais houve a aquisição de mais de 30 produtos entre frutas, legumes, verduras, hortaliças, grãos, cereais e entre outros produtos de origem animal como: ovos, leite, iogurte e mel distribuídos em 2 chamadas públicas por ano, sendo uma no começo do semestre e outra no início do segundo semestre para o abastecimento do cardápio escolar.

A lista de gêneros alimentícios adquirida dos agricultores familiares em Botucatu é um conjunto de gêneros alimentícios com os seguintes produtos: abacate, abobrinha, agrião hidropônico, alface, arroz agulha parbolizado orgânico (tipo 1), banana-nanica, batata-doce, batata-doce processada em pasta e congelada, berinjela-comum, beterraba, brócolis-ninja, cebola, cenoura, cenoura processada em pasta, cheiro-verde, chicória, chuchu, couve-flor, couve-manteiga, espinafre, feijão-carioquinha, iogurte orgânico, laranja-pera, mandioca descascada, mandioca processada em pasta e congelada, mandioquinha-salsa, maracujá-azedo, mel em sachês, melancia, pepino-japonês, repolho-liso, rúcula hidropônica e tomate.

As entrevistas com os agricultores familiares tiveram o objetivo de analisar os manejos agrícolas adotados nos sistemas de produção comercializados no PNAE no município e, em especial, avaliar a presença do manejo convencional com o uso de insumos agroquímicos sintéticos, o manejo orgânico com o uso de insumos endógenos e/ou orgânicos e o cultivo hidropônico em ambiente protegido e com uso de insumos agroquímicos sintéticos.

No ano de 2017 foram 45 agricultores familiares contratados nas chamadas públicas do PNAE de Botucatu, sendo que 34 desses eram produtores rurais familiares com manejo orgânico e outros 11 agricultores familiares adotavam o manejo convencional, desses 4 produtores utilizavam o cultivo hidropônico. Do total de agricultores com manejo orgânico, apenas 21 são certificados como produtores orgânicos, sendo reconhecidos pelo programa de certificação socioambiental do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e pelo Instituto de Agricultura Biodinâmica (IBD) e outros 13 agricultores encontravam-se em processo de transição agroecológica.

Os produtos orgânicos tiveram um acréscimo de 30% no valor dos produtos em relação aos preços dos produtos convencionais, a partir das chamadas públicas do PNAE do ano de 2011, esta diferenciação foi obtida com a apresentação da certificação validando a propriedade rural e seus subsistemas de produção com manejo comprovadamente orgânico. Segundo Esquerdo et al., (2013) a institucionalização da Lei nº 11.947/2009 reforçou a oportunidade de um mercado institucional para apoiar e fortalecer a agricultura familiar, contribuindo para a introdução de produtos orgânicos na alimentação escolar.

O agricultor familiar pode participar da chamada pública de forma individual (DAP

física) ou através de suas organizações como associações e cooperativas por meio de DAP jurídica. O município de Botucatu possui 4 associações representando os agricultores familiares, sendo elas: Associação dos Pequenos Produtores de Botucatu, Associação da Agricultura Familiar do Bairro Chaparral, Associação dos Produtores Orgânicos da Região de Botucatu e a Associação dos Apicultores de Botucatu. Houve a aquisição de produtos de cooperativas de agricultores familiares da região de Botucatu e do Rio Grande do Sul, como: Cooperativa dos Assentados da Reforma Agrária de Itapeva e Região, Cooperativa Regional dos Assentados da Reforma Agrária de Iaras, Cooperativa da Agricultura Familiar de Itapetininga e Região Ltda, Cooperativa de Produção Agropecuária Nova Santa Rita Ltda, Cooperativa de Produtores Orgânicos de Reforma Agrária de Viamão Ltda e Cooperativa dos Trabalhadores Assentados na Região de Porto Alegre Ltda.

5 | CONCLUSÃO

A caracterização e a análise da implantação da Lei nº 11.947/2009 no município de Botucatu, verificou-se que há uma ampliação significativa dos valores contratados do PNAE e dos agricultores familiares envolvidos nas chamadas públicas entre o período da implementação da referida lei federal ao ano de 2017. A institucionalização do PNAE no município corroborou com o fortalecimento econômico e social do agricultor familiar por meio da aquisição de alimentos para as compras governamentais de forma individual, associada e cooperada. Nesse sentido a aquisição de produtos orgânicos promoveu um preço adicional de 30% e o aumento da renda agrícola aos agricultores famílias desenvolvidos, verificado nas entrevistas e na coleta de dados. O êxito na execução da política pública de segurança alimentar evidencia-se nos parâmetros de superação dos valores financeiros da aquisição mínima conforme artigo nº 14 da Lei do PNAE a partir do ano de 2014 e chegando a 50% dos valores repassados pelo FNDE no município pesquisado.

REFERÊNCIAS

AÇÃO BRASILEIRA PELA NUTRIÇÃO E DIREITOS HUMANOS (ABRANDH); INSTITUTO BRASILEIRO DE ANÁLISES SOCIAIS E ECONÔMICAS (IBASE). **Projeto Agricultura familiar, alimentação escolar e a realização do direito humano à alimentação adequada.** Relatório de pesquisa apresentado a Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB e ao Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação – FNDE/MEC, Brasília, 2012.

Antoniolli, E. (2019). **Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE): Uma Análise da Implementação em Municípios do Rio Grande do Sul (RS).** Dissertação (Mestrado em educação), Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó, SC, Brasil.

Batalha, M. O., Buainain, A. M., & Souza F., H. M. (2005). Tecnologia de gestão e agricultura familiar. **Gestão Integrada da Agricultura Familiar.** São Carlos, SP, Brasil, 19.

Belik, W. (2003). Perspectivas para segurança alimentar e nutricional no Brasil. **Revista Saúde e Sociedade**, 12(1), 12-20.

Belik, W., Chaim, N. A., & Weis, B. (2009). **O Programa Nacional de Alimentação Escolar Como Instrumento de Promoção do Desenvolvimento Local**. Campinas, SP, Brasil, 180.

Bovolenta, G. A. (2017). Cesta básica e assistência social: notas de uma antiga relação. **Serviço Social & Sociedade**, São Paulo, 130, 507-525.

BRASIL. **Casa Civil. Lei n. 11.326 de 24 de julho de 2006, que estabelece as diretrizes para a formulação da Política Nacional da Agricultura Familiar e Empreendimentos Familiares Rurais**. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/lei/l11326.htm. Acesso em: 05/05/2021. 2006a.

BRASIL. **Lei nº 11.346 de 15 de setembro de 2006, Lei da Segurança Alimentar e Nutricional**. Disponível em: <http://www4.planalto.gov.br/consea/conferencia/documentos/lei-de-seguranca-alimentar-e-nutricional>. Acesso em: 03/03/2020. 2006b.

BRASIL. **Resolução/CD/FNDE nº 38, de 16 de julho de 2009, que dispõe sobre o atendimento da alimentação escolar aos alunos da educação básica no Programa Nacional de Alimentação Escola (PNAE)**. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/cecane/downloads/download.php?id=8>. Acesso em: 22/05/2020. 2009.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Agrário. **PROGRAMA DE AQUISIÇÃO DE ALIMENTOS DA AGRICULTURA FAMILIAR: Renda para quem produz e comida na mesa de quem precisa**. Brasília, 2012. Disponível em: <<http://www.mda.gov.br/sitemda/secretaria/safpaa/publica%C3%A7%C3%B5es>>. Acesso em: 17 jun. 2019.

Campos, M. G. (2018). **Análise da diversidade dos sistemas de produção na horticultura no contexto do desenvolvimento do município de Botucatu (SP)**. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil.

CEPAGRI - Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas à Agricultura (2021). **Clima dos Municípios Paulistas**. Disponível em: <https://www.cpa.unicamp.br/graficos>. Acesso em: 09/05/2022.

CMDRS - Conselho Municipal de Desenvolvimento Rural Sustentável (2010). **Plano Municipal de Desenvolvimento Rural Sustentável**. Disponível em: <http://www.cati.sp.gov.br>. Acesso em: 20/05/2020.

CONSEA - Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (2010). **A Segurança Alimentar e Nutricional e o Direito Humano à Alimentação Adequada no Brasil: indicadores e monitoramento da Constituição de 1988 aos dias atuais**. Brasília. Disponível em: <https://pesquisassan.net.br/wp-content/uploads/2020/04/relatorio-consea.pdf>. Acesso em: 06/10/2020

Conti, I. L. (2009). **Segurança Alimentar e Nutricional: noções básicas**. Passo Fundo. Disponível em: <https://www.pjf.mg.gov.br/conselhos/comsea/publicacoes/documentos/arquivos/conceitosbasicos%20SAN.pdf>. Acesso em: 08/03/2020

Delgado, N. D., Romano, J. O. (1999). **Sistemas agrários, atores sociais e construção de políticas públicas alternativas para o desenvolvimento rural local: o caso de Rebouças/PR**. Mundo rural e tempo presente. Rio de Janeiro: Mauad, 213-236.

Esquerdo, V. F. S., Bergamasco S. M. P. P., Oliveira, J. T. A., & Oliveira E. S. (2013). Segurança alimentar e qualidade de vida em assentamentos rurais. **Segur. Aliment. Nutr.**, 20(1), 13-23.

FNDE-Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação. **Resolução/CD/FNDE nº 38, de 16 de julho de 2009**. Disponível em: <<http://www.fnde.gov.br/fnde/legislacao/resolucoes/item/3341>>. Acesso em: 05 de junho de 2022.

FAO - Organização Das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (2004). **Diretrizes Voluntárias em apoio à realização progressiva do direito à alimentação adequada no contexto da Segurança alimentar nacional**. Roma. Disponível em: https://www.redsan-cplp.org/uploads/5/6/8/7/5687387/directrices_voluntarias.pdf. Acesso em: 17/05/2020.

Grisa, C., & Zimmermann, S. A. (2015). Estado e sociedade civil na promoção da segurança alimentar e nutricional no Brasil: a construção do Programa de Aquisição de Alimentos (PAA). **Agroalimentaria (Caracas)**, 21, 17.

Grisa, C., Schmitt, C. J., Mattei, L. F., Maluf, R. S., & Leite, S. P. (2011). Contribuições do Programa de Aquisição de Alimentos à segurança alimentar e nutricional e a criação de mercados para a agricultura familiar. **Revista Agriculturas**, 08, 34-41.

Hoffmann, R. (2015). A Agricultura familiar produz 70% dos alimentos consumidos no Brasil? (**Nota Técnica**). Segurança Alimentar e Nutricional, 21(1), 1-5.

IBGE – Instituto brasileiro de geografia e estatística (2006). **Censo Agropecuário 2006**. São Paulo, Setembro. Disponível <https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/agri_familiar_2006/> Acesso em: 10/02/2022.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. SIDRA – Sistema IBGE de recuperação automática. Disponível em: <www.ibge.gov.br>. Acesso em 10 de Maio de 2022.

IBGE. Censo Agropecuário 2006. Disponível em: <https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/agri_familiar_2006/> Acesso em: 10 Jun. 2022.

IPEA - Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (2010). **Estado, Instituições e Democracia: Desenvolvimento**. Disponível em: http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/3190/1/livro09_estadoinstituicoes_vol3.pdf Acesso em: 05/05/2022

Martinelli, S. S., Soares, P., Fabri, R. K., Rodrigues, V. M., Ebone, M. V., et al. (2014). Composição dos cardápios escolares da rede pública de ensino de três municípios da região sul do Brasil: uma discussão perante a legislação. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, 9(2), 515-532.

Martins, J. S., & Mendes, E. P. P. (2009). Agricultura familiar no Brasil: características e estratégias da comunidade Cruzeiro dos Martírios – Município de Catalão/GO. In: **XIX Encontro Nacional de Geografia Agrária**, São Paulo, SP, 12.

Mattei, L. (2007). Políticas Públicas de combate à fome: o caso do programa de aquisição de alimentos no estado de Santa Catarina. **Caderno CEAM (Unb)**, 7, 75-105.

Oliveira, M. C., & Vassimon, H. S. (2012). Programa nacional de alimentação escolar e sua aceitação pelos alunos: uma revisão sistemática. *Investigação*, 4080(16), 4-10.

Ortega, A. C. (2008). **Territórios deprimidos: desafios para as políticas de desenvolvimento rural** (1a ed.). Campinas: Editora Alínea.

Peixinho, A. M. L. (2011). **Um resgate histórico do Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE)**. Dissertação (Mestrado Profissional em Ensino em Ciências da Saúde), Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Peixinho, A. M. L. (2013). A trajetória do Programa Nacional de Alimentação Escolar no período de 2003-2010: relato do gestor nacional. *Ciência & Saúde Coletiva*, São Paulo, 18(4), 909-916.

Peres, M. R., Pereira, V. G., Siqueira, P. H. L., & Antonialli, L. M. (2013). Caracterização e agrupamento de municípios de minas gerais em relação à agricultura familiar. *Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional*, 9 (3), 75-99.

Ribeiro, E. M (2010). **Histórias dos gerais** (1a ed.). Belo Horizonte: UFMG.

Schneider, S. (2003). Teoria social, agricultura familiar e pluriatividade. *Revista brasileira de ciências sociais*, 18(51), 99-121.

Silva, H. E. R. (2019). **Sustentabilidade de sistemas de produção de hortaliças em propriedades rurais de Botucatu e região**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil.

Silva, L. F. da. (2020). **Sustentabilidade da produção agrícola de agricultores familiares ligados à associação dos produtores rurais do bairro do Chaparral e região-Botucatu/SP**. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil.

Silva, L. F., Maltez, M. A. P. F., Oliveira, C. E. A., Gusmão, Y. J. P., Souza, M. A., Nascimento, J. A. C., & de Bueno, O. C. (2021). Sustentabilidade, agricultura familiar e políticas públicas no Brasil: Uma revisão de literatura. *Research, Society and Development*, 10(4), e42310414220-e42310414220.

Takagi, M. A., (2010). Implantação do programa FOME ZERO do governo Lula. *Coleção FOME ZERO: uma história brasileira*, 1, 54-73.

CAPÍTULO 5

APLICACIÓN DE UNA PRUEBA DE PCR-RFLP EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR *Babesia spp* EN BOVINOS. ESTUDIO RETROSPECTIVO

Data de submissão: 08/02/2023

Data de aceite: 03/04/2023

Pedro Julián Soberanis Bernal

Escuela de Medicina Veterinaria y
Zootecnia, Universidad Mesoamericana,
Puebla, Puebla, México

Roberto O. Castañeda Arriola

Sitio Experimental Pichucalco, CIRGOC,
INIFAP, Pichucalco, Chiapas, México

Julio Vicente Figueroa Millán

Centro Nacional de Investigación
Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad,
INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

Carmen Rojas Martínez

Centro Nacional de Investigación
Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad,
INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

José Juan Lira Amaya

Centro Nacional de Investigación
Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad,
INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

Jesús Antonio Álvarez Martínez

Centro Nacional de Investigación
Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad,
INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

Rebeca Montserrat Santamaría Espinosa

Centro Nacional de Investigación
Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad,
INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

Grecia Martínez García

Centro Nacional de Investigación
Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad,
INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

RESUMEN: Dentro de las enfermedades que ocasionan mayores pérdidas económicas en la ganadería bovina están aquellas transmitidas por garrapatas y que afectan considerablemente a las especies productivas, principalmente al ganado bovino. La babesiosis bovina es una enfermedad causada por los parásitos intra-eritrocíticos del género *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*, en México y en otros países de Latinoamérica, es transmitida por la garrapata *Rhipicephalus microplus* y *Rhipicephalus annulatus*. Actualmente la técnica de laboratorio utilizada rutinariamente para el diagnóstico de la enfermedad aguda es el frotis de gota delgada teñido con colorante de Giemsa. Una de las técnicas con elevada sensibilidad analítica y más rápida que los métodos convencionales ha sido la prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) con el uso de iniciadores específicos. El objetivo de este trabajo estuvo dirigido

a evaluar la capacidad diagnóstica de una prueba de PCR para *Babesia* spp, basada en oligonucleótidos género-específicos que amplifican una porción del gen DNA ribosomal, así como en la determinación de especie de *Babesia* mediante digestión del producto de amplificación con enzimas de restricción (PCR-RFLP). El trabajo se dividió en dos etapas, en el cual se incluyeron 22 animales *Bos taurus* de 6-10 meses de edad. La primera etapa experimental se realizó con un grupo de 4 animales esplenectomizados e infectados experimentalmente con 4 aislados de *Babesia*, 2 de *B. bovis* y 2 de *B. bigemina*, utilizando sangre criopreservada en nitrógeno líquido. Los animales fueron monitoreados diariamente durante 15 días pos-inoculación. La segunda fase, desarrollada en campo, se realizó con un lote de 18 bovinos previamente inmunizados con *B. bigemina* e introducidos un mes después a una zona endémica de babesiosis bovina en donde fueron monitoreados durante 21 días pos-introducción al potrero para evaluar la infección transmitida por *Babesia* spp. Los resultados del monitoreo demostraron que por microscopia óptica el promedio en días en que los animales fueron detectados como positivos fue de 7 días, mientras que por la prueba de PCR fue de 11 días. La utilización de enzimas de restricción en la prueba de PCR-RFLP permitió, además, identificar la especie involucrada en la infección. La prueba de PCR-RFLP aplicada es una herramienta molecular con elevada especificidad para la discriminación de las especies de *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* en animales expuestos a garrapatas.

PALABRAS CLAVE: *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, PCR-RFLP.

APPLICATION OF A PCR-RFLP TEST IN THE DIAGNOSIS OF *Babesia* spp INFECTION IN CATTLE. RETROSPECTIVE STUDY

ABSTRACT: Among the diseases that cause the greatest economic losses in livestock are those transmitted by ticks and that considerably affect productive species, mainly cattle. Bovine babesiosis is a disease caused by the intra-erythrocytic parasites *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*, in Mexico and other Latin American countries. The pathogens are transmitted by the tick *Rhipicephalus microplus* and *Rhipicephalus annulatus*. Currently, the laboratory technique routinely used for the diagnosis of acute disease is the Microscopic examination of Giemsa-stained thin blood smears. One of the techniques with high analytical sensitivity and faster than conventional methods has been the Polymerase Chain Reaction (PCR) test with the use of specific primers. The objective of this work aimed to evaluate the diagnostic capacity of a PCR test for *Babesia* spp, based on genus-specific oligonucleotides that amplify a portion of the ribosomal DNA gene, as well as on the determination of *Babesia* species by digestion of the product of restriction enzyme amplification (PCR-RFLP). The work was divided into two stages, in which 22 *Bos taurus* of 6-10 months of age were included. The first experimental stage was carried out with a group of 4 splenectomized calves and experimentally infected with 4 different *Babesia* isolates, 2 with *B. bovis* and 2 with *B. bigemina*, using blood cryopreserved in liquid nitrogen. The animals were monitored daily for 15 days post-inoculation. The second phase, developed in the field, was carried out with a batch of 18 steers previously immunized with *B. bigemina* and introduced one month later to an endemic area for bovine babesiosis where they were monitored for 21 days post-introduction to the pasture to evaluate the infection transmitted by *Babesia* spp. The monitoring results showed that by optical microscopy the average number of days in which the animals were detected as positive was 7 days, while by the PCR test it was 11 days. The use of restriction enzymes

in the PCR-RFLP test also allowed the identification of the species involved in the infection. The applied PCR-RFLP test is a molecular tool with high specificity for the discrimination of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* species in animals exposed to ticks.

KEYWORDS: *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, PCR-RFLP.

INTRODUCCIÓN

La Babesiosis, anteriormente conocida en México como ranilla (Toussaint, 1906) y más tarde como piroplasmosis, es una enfermedad causada por parásitos intraeritrocíticos transmitidos por garrapatas. Las especies que afectan al ganado bovino en México and LatinoAmérica son *Babesia bigemina* y *Babesia bovis* que se caracterizan por provocar una alta morbilidad y mortalidad y, clínicamente, por la presencia de fiebre, anemia hemolítica, hemoglobinuria e ictericia (Bock et al, 2004; Álvarez et al, 2019; OIE, 2021). En los hatos afectados existe merma temporal de la reproducción y abortos después del primer tercio de la gestación (Morilla González, 1981; OIE, 2021). La enfermedad es transmitida por las garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y *Rh. annulatus* (Martinez et al, 2021; OIE, 2021). La ganadería bovina en México asciende a más de 32 millones de cabezas (SIAP, 2022) de las cuales el 70% se desarrolla en regiones tropicales y subtropicales, lugares de alta incidencia de la garrapata vector (Navarrete, *et al.*, 2002).

El diagnóstico de la enfermedad se puede realizar mediante el uso de técnicas directas e indirectas. Dentro de los métodos indirectos más utilizados en México se encuentra la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI), la cual se caracteriza por la detección de anticuerpos circulantes en sangre y con una aparentemente elevada sensibilidad y especificidad diagnóstica ($\geq 90\%$). Sin embargo, la prueba de IFI tiene la desventaja de ser subjetiva y no poder discriminar entre las especies infectante, dada la reacción cruzada observada en sueros de animales donde coexisten ambos parásitos (Álvarez et al, 2019; OIE, 2021).

Los métodos directos incluyen aquellos que detectan de manera directa la presencia del patógeno: El más común es la preparación y observación de parásitos intraeritrocíticos en frotis teñidos con colorante de Giemsa. Se han desarrollado procedimientos moleculares que permiten detectar, con mayor sensibilidad analítica, la presencia de los parásitos, y su identificación por especie. Entre estos se incluye a las sondas de ácidos nucleicos y la prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Figueroa et al, 1992; Figueroa et al, 1993; Figueroa et al, 1996).

El objetivo de este trabajo estuvo dirigido a evaluar la capacidad diagnóstica de una prueba de PCR para *Babesia* spp, basada en oligonucleótidos género-específicos que amplifican una porción del gen DNA ribosomal, así como en la determinación de especie mediante digestión del producto de amplificación con enzimas de restricción (PCR-RFLP).

MATERIALES Y METODOS

El desarrollo de la investigación se realizó en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en Jiutepec, Morelos, México.

Los bovinos experimentales utilizados en el estudio se dividieron en dos grupos para la investigación: 1) Animales experimentalmente infectados; y 2) Animales naturalmente infectados. Para la primera fase se utilizaron 4 bovinos (identificados con arete plástico 031, 032, 033 y 035) los cuales fueron esplenectomizados e inoculados experimentalmente con 4 diferentes aislados de *Babesia*: 031 con *B. bigemina* aislado México; 032 con *B. bovis* aislado Tabasco; 033 con *B. bigemina* aislado Chiapas; y 035 con *B. bovis* aislado Tamaulipas. Se realizó monitoreo clínico a los animales desde el día de la inoculación (tomándose como el día cero), hasta el día 15 post-inoculación, colectando una muestra de sangre diariamente y obteniéndose un total de 60 muestras. El seguimiento diario consistió en toma de la temperatura rectal, observación de los individuos en búsqueda de signos clínicos relacionados con la babesiosis y la toma de una muestra de sangre por animal en tubos con anticoagulante EDTA, para determinar el volumen celular aglomerado mediante la prueba de micro-hematocrito y elaboración de frotis sanguíneo para tinción con colorante de Giemsa. Para la fase de animales naturalmente infectados, se utilizaron muestras de sangre congeladas pertenecientes a 18 bovinos (Identificados con arete plástico Nos. 6, 7, 9, 10, 12, 13, 15, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 28, 41, 45, 46 112), los cuales fueron introducidos a una zona de alta incidencia de garrapatas (Sitio Experimental Pichucalco, en Pichucalco Chiapas). Para evitar la presentación de babesiosis clínica severa, este grupo de individuos fue preinmunizado con *Babesia bigemina* dos meses antes de su introducción al potrero (Reyes-Sandoval et al, 2016). Los bovinos fueron expuestos naturalmente a la garrapata vector por al menos 21 días y se muestrearon consecutivamente a partir de los 8 días después de su llegada al sitio de exposición. La duración del muestreo de los 18 animales por 15 días permitió obtener un total de 270 muestras sometidas a análisis por ambas técnicas directas de diagnóstico (Frotis teñidos con colorante Giemsa y PCR).

La extracción de ADN de las 330 muestras (ambas fases del estudio) se realizó mediante la utilización de un kit comercial. Para la prueba de PCR se procedió a la amplificación de la porción variable del gen que codifica para el ARN ribosomal de la pequeña subunidad 18S (ssrRNA, por sus siglas en inglés), utilizando los oligonucleótidos PIRO-A y PIRO-B (Carret et al, 1999) y que amplifican diferentes especies de *Babesia* (Carret, 1999). Las reacciones de PCR se realizaron en tubos de 0.2 ml, con un volumen final de 25 μ l, a los cuales se agregaron 12.5 μ l de Mezcla maestra (Taq polimerasa, dNTPs, Cloruro de magnesio), 5.5 μ l de agua libre de nucleasas, 5 μ l de ADN purificado, y 2 μ l de mezcla de los oligonucleótidos sentido PIRO-A (5'-AATACCCAATCCTGACACAGGG-3') y anti-sentido PIRO-B (5'-TTAAATACGAATGCCCAAC-3') (Carret et al., 1999). La

reacción de amplificación se hizo en un termociclador, bajo el siguiente protocolo de ciclado: desnaturalización inicial a 94°C por 5 minutos un ciclo, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94°C por 1 minuto, alineamiento a 55°C por 1 minuto, extensión a 72°C por 1 minuto, extensión final a 72°C por 5 minutos y conservación a 4°C hasta retiro de los tubos de PCR para análisis de las muestras. El producto amplificado por PCR con los oligonucleótidos PIRO-A y PIRO-B se sometió a digestión con las enzimas de restricción *Box I* y *Msp I*. De acuerdo a un análisis bioinformático realizado de la secuencia de ADN ribosomal de cada especie de *Babesia*, se identificó un sitio de reconocimiento para cada una de estas enzimas en la parte variable del gen ADNr del parásito (Lira Amaya et al, 2023). En teoría, la enzima de restricción *Box I* (secuencia de reconocimiento 5'-GACNN↓NNGTC-3') cortaría solamente el amplicón correspondiente al ADNr de *Babesia bigemina*, mientras que la enzima *Msp I* (sitio de reconocimiento 5'-C↓CGG-3') cortaría solamente el amplicón correspondiente al ADNr de *Babesia bovis*. De acuerdo con la cantidad de ADN amplificado y necesitado para cada digestión con las enzimas de restricción, el volumen final de reacción fue de 31 µl, en donde se agregaron 10 µl de producto de PCR, 18 µl de agua libre de nucleasas, 2 µl de buffer tango 10x, 1 µl de enzima *Box I* y/o 1 µl de *Msp I*. La digestión con dichas enzimas se llevó a cabo en un baño maría a una temperatura de 37°C y durante 16 horas. Los productos de PCR y los derivados de la digestión con enzimas de restricción se visualizaron por electroforesis horizontal en geles de agarosa al 2% en buffer TAE 1X teñidos con 1.5 µl de bromuro de etidio (10 mg/ml). Se utilizaron marcadores moleculares de 1 Kb y 100 pb (pares de bases) para discernir y estimar el tamaño de los amplicones y los productos de digestión enzimática. Para esto, del producto obtenido por PCR se colocaron 24 µl de reacción en cada pozo y se sometieron a electroforesis a 85 voltios con buffer de corrimiento (TAE 1X) y el gel se visualizó en un transluminador con luz ultravioleta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del muestreo de la sangre periférica de los 4 animales utilizados en la primera fase se realizaron frotis de gota delgada teñidos con Giemsa y observados bajo microscopía óptica. La primera detección de *B. bigemina* mediante esta técnica se logra en los días 4 PI para el animal 031, mientras que el 033 se detecta positivo hasta el día 5 PI. La mayor parasitemia (1.95%) se presenta el día 5 PI en el animal 031, y en el día 7 PI para el animal 033 con una parasitemia de 1.5%. Los animales infectados con *B. bovis* (032 y 035) muestran positividad hasta los días 8 y 9 PI, respectivamente, alcanzando las mayores parasitemias (6.84% y 11.65%, respectivamente) el día 11 PI. Los resultados del monitoreo de los animales experimentalmente infectados en condiciones controladas con *Babesia* spp, y analizados mediante la técnica de Microscopía óptica se muestran en el Cuadro 1.

ID/ DPI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
031	-	-	-	0.03	0.03	1.95	0.67	-	-	-	-	-	-	-	-
032	-	-	-	-	-	-	-	0.02	0.2	1.73	6.84	3	-	-	-
033	-	-	-	-	0.2	0.2	1.5	0.2	<0.1	-	-	-	-	-	-
035	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	4.94	11.6	5.8	-	-	-

Cuadro 1. Parasitemias diarias estimadas en los animales experimentalmente infectados, seguimiento realizado mediante microscopía óptica.

Mediante la técnica de PCR punto final, se amplificó el ADN extraído de las muestras de sangre de los 4 bovinos experimentales. Utilizando los oligonucleótidos Piro A y Piro B que alinean en la porción variable del gen que codifica el ARN ribosomal 18S de varias especies de Babesia (Olmeda *et al.*, 1997; Carret, 1999), incluyendo la amplificación de ADN de *Babesia bigemina* y *Babesia bovis*, así como de *B. canis vogeli*, *B. canis canis*, *B. canis rossi*, y *B. divergens*. A partir de la publicación de Carret, 1999, se toma como referencia el amplicón amplificado de tamaño aproximado a 390 pb para *Babesia bigemina* y 395 pb para *Babesia bovis*. Los resultados obtenidos en la amplificación de las muestras se presentan de forma representativa en las Figuras 1 y 2. Los productos de la prueba de PCR separados mediante corrida por electroforesis demuestran la presencia de un amplicón similar en tamaño al que se reporta previamente (Carret, 1999).

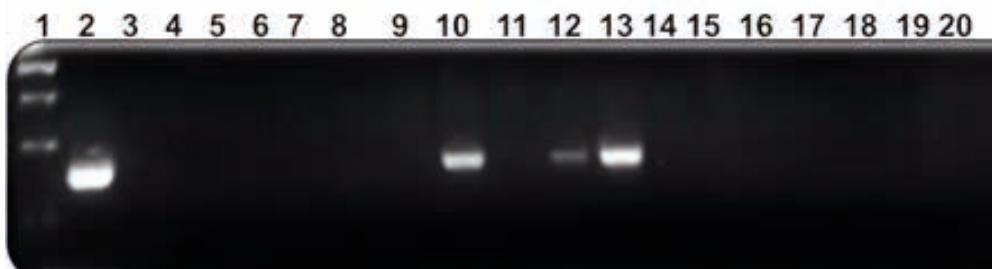


Figura 1. Análisis en gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio (0.2%) y visualizado en transiluminador de luz UV, de productos de PCR con oligonucleótidos Piro-A y Piro-B. Amplificación de muestras del becerro # 033 infectado con *Babesia bigemina*. ID Carriles: 1, Marcador molecular de 1 Kb; 2, Control positivo de *B. bigemina*; 3, Control negativo; 4, vacío; 5-20; Días 0-15 pos-infección experimental.

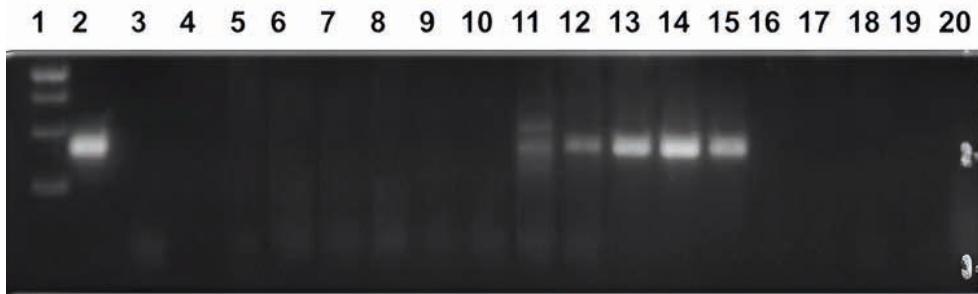


Figura 2. Análisis en gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio (0.2%) y visualizado en transiluminador de luz UV de productos de PCR con oligonucleótidos Piro-A y Piro-B. Amplificación de muestras del becerro # 032 infectado con *Babesia bovis*. ID Carriles: 1, Marcador molecular de 1 Kpb; 2, Control positivo de *B. bovis*; 3, Control negativo; 4, vacío; 5-20; Días 0-15 pos-infección experimental.

Por otra parte, los resultados de los 4 animales experimentalmente infectados permiten identificar amplicones a partir del día 5 en los bovinos 031/033 (inoculados con *B. bigemina*), y 7 días pos-inoculación en los bovinos 032 y 035 (inoculados con *B. bovis*), respectivamente (Cuadro 2).

ID/DPI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	15
031	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
032	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
033	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
035	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-

Cuadro 2. Resultados globales de PCR con oligonucleótidos Piro-A y Piro-B en los becerros experimentalmente infectados.

El análisis por microscopía óptica demostró la presencia de parásitos *B. bigemina* en los días 4 y 5 PI mientras que la técnica de PCR muestra que ambos animales inoculados con *B. bigemina* muestran un amplicón el día 5 PI, demostrándose que para el caso de infección por *B. bigemina* la microscopía tuvo una mejor eficacia. En cambio, para el caso de los animales inoculados con *Babesia bovis* la prueba de PCR demostró la presencia de un amplicón el día 7 PI para ambos animales. En contraste, la microscopía óptica permitió observar parásitos hasta el día 8 y 9 PI. En este caso, la prueba de PCR tuvo mayor sensibilidad que la microscopía óptica para detectar la infección prepatente en los animales inoculados con *B. bovis*. Con respecto a esta etapa de la investigación se puede resumir que la prueba de PCR para amplificación de ADN con los oligonucleótidos del ARN ribosomal 18S, Piro A y Piro B, si logra detectar una infección real, y por tanto, la presencia de *Babesia bigemina* y *B. bovis* en animales experimentalmente inoculados.

Trabajos previamente realizados utilizaron ADN purificado a partir de parásitos cultivados in vitro (Carret, 1999, Carret et al, 1999; Lira et al, 2023); o de animales experimentalmente infectados con diferentes aislados de campo (Lira et al, 2023).

Con relación a la etapa 2 del estudio, los resultados globales de los animales naturalmente infectados por la exposición a garrapatas y consecuente inoculación de *Babesia* spp, y analizados mediante la técnica de Microscopía óptica y PCR con oligonucleótidos Piro-A y Piro-B se muestran en el Cuadro 3 y Cuadro 4, respectivamente.

DPI/ ID	-2	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
10	-	-	-	-	-	-	0.01	0.01	0.03	0.05	0.05	1	-	-	-
23	-	-	-	0.01	0.01	0.01	-	0.01	0.01	0.05	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.04	0.02	0.05	0.01	-	0.01
46	-	-	-	-	-	-	0.01	0.05	0.08	0.1	0.1	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.1	0.1	0.05	0.01
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01	0.01	0.01	0.01	-
20	-	-	-	-	-	-	0.01	0.05	0.1	0.1	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	0.01	0.8	0.1	0.05	0.05	0.01	0.01	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01	0.04	0.1	0.1	0.05	0.01	0.01
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01	1	1	-	-
45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
112	-	-	-	-	-	-	0.01	0.01	0.01	0.03	0.05	0.05	0.01	0.01	-
13	-	-	-	-	-	-	-	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.01	0.01	0.01
28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01	0.01	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01	0.01	0.05	0.05	0.05	0.01
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01	0.01	0.05	-
9	-	-	-	-	-	-	-	0.01	0.01	0.05	0.01	-	0.01	0.01	0.01
7	-	-	-	-	-	-	0.01	-	-	-	0.01	0.01	-	0.01	0.01

Cuadro 3. Parasitemias de animales naturalmente infectados con *Babesia* spp. Resultados obtenidos por microscopía óptica, realizada diariamente a partir del día 7 pos-introducción al potrero infestado con garrapatas.

De los 18 animales naturalmente expuestos a cepas de campo de *Babesia* spp los animales 10 y 25 tuvieron el máximo porcentaje de parasitemia del 1% en los días 17 al 19 PI (Cuadro 3). El inicio de la detección de parásitos se dio desde el día 9 PI en el bovino 23; el día 11 PI en el bovino 12; el día 12 PI en los bovinos 10, 46, 20, 112 y 7; el día 13 PI en los bovinos 22, 13 y 9; el día 14 PI en bovino 6; para el día 15 PI en bovinos 21 y 41; el día 17 PI en bovino 25; y para el día 18 PI en el bovino 28.

ID/DPI	-30	-2	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
10	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
23	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
41	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
46	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
12	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
15	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
22	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
25	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
45	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
112	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
28	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
19	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-

Cuadro 4. Resultados del análisis por PCR con oligonucleótidos Piro-A y Piro-B en los bovinos experimentalmente infectados.

Los resultados arrojados del análisis por PCR sencillo con oligonucleótidos Piro-A y Piro-B demuestran, por un lado, que 14 de los 18 animales están positivos antes de la introducción al potrero. Este resultado aparentemente sorpresivo, puede indicar simplemente que la prueba de PCR detecta animales portadores de *Babesia* spp. Como se indicó en la sección de materiales y métodos, todos los animales habían sido premunizados con *B. bigemina* 60 días antes de ser trasladados a Pichucalco, Chiapas. Para confirmar esto, todas las muestras correspondientes a la fecha -2 PI, fueron sometidas a una re-amplificación por PCR con oligonucleótidos Piro A y Piro B. Los resultados demostraron que, efectivamente, todos los animales resultan positivos a la prueba de PCR y, muy probablemente, el amplicón obtenido corresponda a *B. bigemina*, producto de la premunización realizada previamente. Sin embargo, es de hacer notar que la prueba de PCR Piro A/B por si sola, no permite discriminar la especie de *Babesia* involucrada. Por otro lado, se observa una variabilidad en cuanto al número de días que transcurren desde la introducción de los animales al potrero y la detección de amplicón de ADN, y consecuentemente, la determinación de infección por *Babesia* spp transmitida por la garrapata. De acuerdo con trabajos anteriores, tomando como punto de referencia la etapa de pre-patencia de la babesiosis bovina, que puede variar de 7 a 35 días dependiendo de las condiciones naturales (Álvarez Martínez & Figueroa Millan, 2007; Lopez et al, 2008), se tomaron fechas estratégicas donde hubiera

un mayor número de animales positivos a la prueba de PCR. Considerando que a partir del día 8 post-introducción a potreros infestados con garrapatas se pueden detectar animales infectados con *B. bovis* (Figueroa Millán & Álvarez Martínez, 2003; Lopez et al, 2008), las muestras obtenidas entre los días 11-15 PI se sometieron a una re-amplificación con los mismos oligonucleótidos. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 3, en donde se permite apreciar que todos los animales aparecen positivos a la prueba de PCR Piro A/B y por lo tanto se pueden clasificar como infectados a *Babesia* spp sin poder, en esta etapa, discriminar si están infectados por *B. bovis*, *B. bigemina* o ambas.

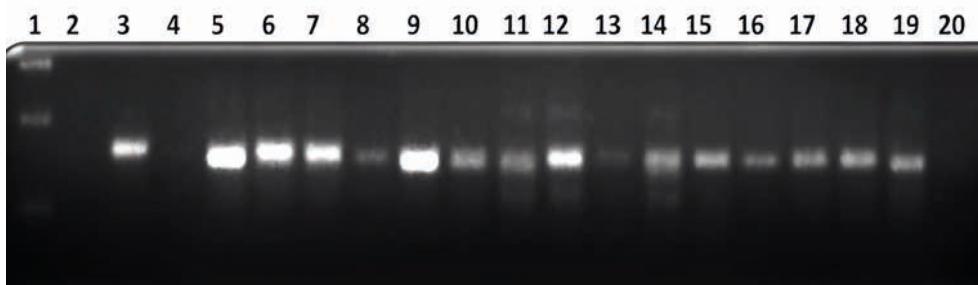


Figura 3. Análisis en gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio (0.2%) y visualizado en transiluminador de luz UV de productos de PCR con oligonucleótidos Piro-A y Piro-B. Amplificación de muestras de bovinos introducidos a zona endémica de babesiosis. ID Carriles: 1, Marcador molecular de 1 Kpb; 2, Control negativo; 3-20 bovinos naturalmente infectados en los días 11-15 pos-exposición a garrapatas.

Con base en los resultados obtenidos de las amplificaciones realizadas, se considera que el 100% de los animales se detecta positivo a *Babesia* spp, incluyendo los animales portadores de infección por *B. bigemina* resultado de la premunición realizada. Estudios previamente realizados por PCR e hibridación de amplicón con sondas marcadas y dirigidas a otro gen de *B. bigemina* demuestran que la infección por *B. bigemina* puede permanecer al menos 2 meses (Figueroa Millán & Álvarez Martínez, 2003) y hasta por 11meses después de una primo-inoculación (Figueroa et al., 1992), detectándose en este estudio como positivos desde el día de introducción al potrero y hasta el día 22 PI. Con respecto a las muestras correspondientes a los días 11-15 PI que se re-amplificaron, se obtuvo una mejor calidad de amplicón que, si bien puede considerarse específico de *Babesia* en México, con esta metodología no se permite discernir la(s) especie(s) involucrada(s). Sin embargo, estos amplicones reamplificados se utilizaron para llevar a cabo la prueba de digestión de fragmentos con enzimas de restricción y poder, eventualmente, realizar la especiación de especie.

Al realizar un contraste entre las técnicas de microscopía óptica y PCR se tuvieron las siguientes comparaciones; los 18 animales muestran ser negativos para ambas técnicas para el día 30 previo a su premunización, Sin embargo, en el día 2 previo a su introducción

a la exposición natural, la técnica de microscopia óptica clasificó a los 18 animales como negativos, mientras que la técnica de PCR determinó el 77.7% (14 animales) como positivos; Al inicio del muestreo a partir del día 7 PI se encuentran 7 animales positivos en la prueba de PCR, mientras que por microscopia óptica se tienen los 18 animales como negativos y se mantienen así hasta el día 8 PI. La técnica de PCR detecta otros 3 animales positivos el día 9 y 10 PI mientras que por microscopia el día 9 PI se encuentra solamente un animal positivo. El día 11 PI se detectan dos animales positivos adicionales para cada técnica, y es hasta el día 12 PI cuando se detectan 5 animales positivos a microscopia. El día 13 PI la prueba de PCR detecta como positivos 2 animales adicionales mientras que por microscopia se tienen 3 animales positivos el día 14 PI. Ambas técnicas detectan a la mayoría de los animales como positivos los días 15, 16, 17 y 18 PI.

La duración del muestreo de los 18 animales por 15 días da un total de 270 días/animal sometidas a análisis por ambas técnicas. El promedio en días que un animal fue detectado como positivo a *Babesia* spp por microscopia óptica fue de 7.06 días, mientras que por la prueba de PCR fue de 11.66 días, siendo la técnica de PCR la que mostró el mayor número de días que un animal podría ser detectado como positivo a *Babesia*. Otro contraste que se puede hacer con ambas técnicas es en cuestión de la cantidad de muestras trabajables en un día por un solo analista; Es obvio que un microscopista puede analizar fácilmente 18 frotis de gota delgada observados en una jornada si se le dedica aproximadamente 10-15 minutos de microscopia óptica por frotis. Sin embargo, para lograr esto se necesita contar con una persona con experiencia para la detección de los parásitos. Por otro lado, la prueba de PCR si bien es una técnica elevada en costo por los reactivos que utiliza, tiene la gran ventaja que en una jornada laboral de 8 hrs, y dada la automatización del procedimiento de amplificación del ADN, se puede tener un mayor número de muestras procesadas en un día.

Resultado de la digestión con enzimas de restricción Msp I y Box I

Con base en el amplicón resultante de la amplificación y re-amplificación por PCR, las muestras se sometieron a la técnica de PCR-RFLP (polimorfismo de longitud del fragmento de restricción, por sus siglas en inglés) mediante digestión enzimática con las enzimas de restricción *Msp* I y *Box* I. En principio, con la prueba PCR-RFLP y análisis de fragmentos en geles de agarosa, se esperarían los siguientes resultados: Dos fragmentos con un tamaño esperado de 240 pb y 160 pb a partir de amplicones digeridos con la enzima *Msp* I correspondientes a *B. bovis* exclusivamente; y de aproximadamente 280 pb y 120 pb en amplicones digeridos con la enzima *Box* I para *Babesia bigemina*, exclusivamente. Si existe infección por ambas especies de *Babesia*, en teoría se esperaría visualizar 4 fragmentos en el gel de agarosa como producto de la digestión del amplicón con las 2 enzimas de restricción (Lira et al, 2023).

Los resultados de la digestión de amplicones Piro-A y Piro-B con las enzimas de

restricción *Box I* y *Msp I* en muestras de los animales experimentalmente infectados en la etapa I del trabajo de investigación confirma que la digestión enzimática permite especiar la especie de *Babesia* involucrada en la infección de cada individuo. La Figura 4 muestra un resultado representativo de los amplicones obtenidos en la prueba de PCR y sujetos a digestión enzimática (RFLP) en muestras control y de los animales experimentalmente infectados.

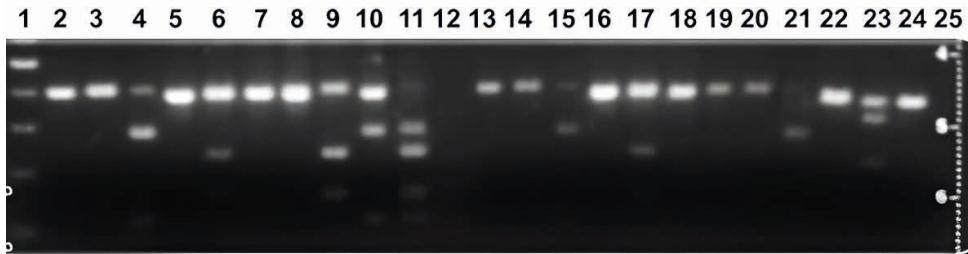


Figura 4. Análisis por PCR/RFLP de productos amplificados con oligonucleótidos PIRO-A/PIRO-B y digeridos con las enzimas *Box I* y *Msp I*. Carriles: 1: Marcador de 100 pb; 2-4: Amplicón de *B. bigemina*; 5-7: Amplicón de *B. bovis*; 8-11: Amplicón de mezcla de *B. bigemina/B. bovis*; 13-15: Amplicón de bovino 031; 16-18: Amplicón de bovino 032; 19-21: Amplicón de bovino 033; 22-24: Amplicón de bovino 035. Carriles 2, 5, 8, 13, 16, 19, 22: Amplicones sin digestión enzimática; 3, 6, 9, 14, 17, 20, 23: Digestión con *Msp I*; 4, 7, 10, 15, 18, 21, 24: Digestión con *Box I*; Carril 11: Doble digestión con *Msp I*/*Box I*.

En la Figura 4 se presentan los resultados de la digestión enzimática, en los carriles 2 al 4 se presentan los controles para *B. bigemina* y se puede observar en el carril 2 el amplicón no digerido y en el carril 3 el amplicón digerido con la enzima *Msp I*. Ambas muestras presentan el amplicón esperado de 390 pb, por lo que se demuestra que un amplicón de *B. bigemina* no es digerido con la enzima *Msp I*, mientras que en el carril 4 se tiene amplicón de *B. bigemina* digerido con la enzima *Box I* observándose las bandas esperadas de 280 pb y 120 pb (débil). Sin embargo, se presentan también una fracción del amplicón de 390 pb lo que indica una digestión incompleta. Este resultado puede derivarse de una elevada concentración de amplicón, una insuficiente cantidad de enzima utilizada en la reacción de digestión, un limitado tiempo de incubación para acción enzimática, una inadecuada concentración de sales en la solución de reacción por dilución al adicionar el producto de PCR (se utilizaron hasta 18 μ l de éste) o una combinación de todas. Para *B. bovis* los controles que se usaron se presentan en los carriles 5 al 7. En estos, se puede observar que solo el amplicón digerido con la enzima *Msp I* (carril 6) presenta dos bandas de aproximadamente 240 pb y 160 pb además del amplicón de 395 pb lo que indica, al igual que sucedió en el caso anterior, que la digestión no fue completa. Los carriles 8 al 11 muestran los resultados de muestras control para ambas especies dado que se utilizó ADN de *B. bigemina* y *B. bovis* mezclado artificialmente. Se corrobora que las enzimas de restricción digieren regiones específicas para ambas especies, visualizándose

fragmentos con un tamaño esperado de 240 pb y 160 pb (carril 9) a partir del amplicón digerido con la enzima *Msp I* (correspondiendo a *B. bovis*) y de aproximadamente 280 pb y 120 pb (carril 10) en el amplicón digerido con la enzima *Box I* (correspondiendo a *B. bigemina*). Además, se demuestra que al existir amplicones de ambas especies (carril 11), se presentan 4 fragmentos de aproximadamente 280 pb, 240 pb, 160 pb y 120 pb, una mezcla de los 2 fragmentos esperados para cada especie, cuando estos son sometidos a una doble digestión con las enzimas *Msp I* y *Box I*, confirmando la infección mixta, si bien esta haya sido artificialmente mezclada. En los carriles 13 a 24 se presentan los resultados obtenidos producto del análisis de restricción enzimática de los amplicones obtenidos a partir de muestras correspondientes a los animales 31, 32, 33 y 35, respectivamente. En los carriles 13, 16, 19 y 22 se observan las muestras de amplicón sin digerir, en los se obtienen los fragmentos de entre 390 pb y 395 pb (difícil de discernir la talla exacta), característicos de cada especie. En los carriles 14 y 20 aparecen los amplicones de *B. bigemina* (bovinos 031 y 033) que no son digeridos con la enzima *Msp I*, mientras que en los carriles 18 y 24 aparecen los amplicones de *B. bovis* (bovinos 032 y 035) que no son digeridos con la enzima *Box I*. En contraste, en los carriles 15, 17, 21 y 23 se presentan los resultados obtenidos cuando las muestras son sometidas a digestión con la enzima específica para el DNA de cada especie. Se puede observar que para las muestras correspondientes a los animales 031 y 033 se obtienen los tamaños esperados para *B. bigemina*, 280 pb y 120 pb (débilmente visible ésta última) una vez digeridos con la enzima *Box I*. No obstante, y al igual que los controles se observa una digestión parcial de la muestra. Finalmente, las muestras de amplicones correspondientes a los animales 032 y 035, infectados con *B. bovis*, son parcialmente digeridas solamente cuando se utiliza la enzima *Msp I* (Figura 4). Con base en los resultados obtenidos con las muestras de los animales 031, 032, 033 y 035 (infectados experimentalmente con aislados conocidos de *Babesia*), además de las considerados como controles (derivadas de cultivo *in vitro*), se utilizó entonces la prueba PCR-RFLP con las enzimas *Msp I* y *Box I* en los amplicones obtenidos en las muestras de los animales que fueron expuestos al vector y, por tanto, a *Babesia* de campo. Las figuras 5 y 6 son una imagen representativa de los resultados que se obtuvieron en los animales introducidos al potrero infestado con garrapatas, y el cuadro 5 presenta los resultados globales producto de la digestión enzimática de los amplicones en todos los animales experimentales.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25

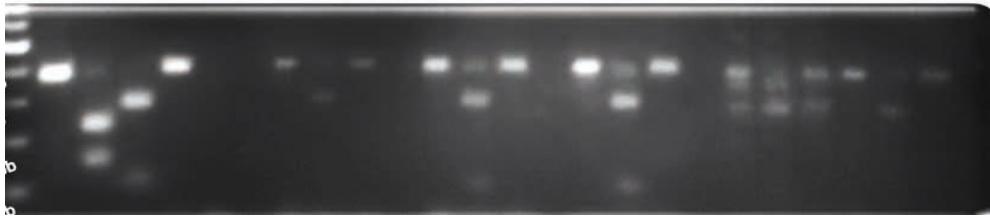


Figura 5. Análisis por PCR/RFLP de productos amplificados con oligonucleótidos PIRO-A/PIRO-B y digeridos con las enzimas *Box I* y *Msp I*. Carriles: 1: Marcador de 100 pb; 2: Control positivo *B. bovis* no digerido; 3: Control positivo *B. bovis* digerido con *Msp I*; 4: Control positivo *B. bigemina* digerido con *Box I*; 5: Control positivo *B. bigemina* no digerido; Carriles 6 y 7: Vacíos; 8-9 Bovino #10; 12-14: Bovino #23; 16-18: Bovino #41; 20-22: Bovino # 46; 23-25: Bovino #12; muestras de amplicones, no digeridos, digeridos con *Box I*, y digeridos con *Msp I*, respectivamente.

La Figura 5 representa los resultados obtenidos en las muestras reamplificadas por PCR PiroA/B en animales premunizados con *B. bigemina* en su primer muestreo correspondiendo al día -2 PI. En los carriles 2 (no digerido) y 3 (digerido con *Msp I*) se representan los controles de *B. bovis* observándose los resultados esperados: bandas de 390 pb (no digerido), y de 240 pb y 160 pb en el carril 3 digerido con *Msp I*. De forma similar, se observan las bandas esperadas cuando el control de *B. bigemina* que se utilizó es digerido con la enzima *Box I* (carril 5) donde aparecen bandas de 280 pb y 120 pb (débilmente visible ésta última). En los carriles 8 al 25 se representan los resultados obtenidos en muestras de los animales 10, 23, 41, 46 y 12 de los 18 animales probados. En las muestras de amplicón sin digerir se observa la banda de 390-395 pb característica de *Babesia* spp (carriles 8, 12, 16, 20 y 23). No se observa digestión de los amplicones cuando estos son digeridos con la enzima *Msp I* (carriles 10, 14, 18 y 25), mientras que cuando éstos son digeridos con la enzima *Box I* (carriles 9, 13, 17, 21 y 24) si se observan productos de la digestión. Se demuestra, entonces, que en las muestras correspondientes a los animales 10, 23, 41, 46 y 12 se obtienen bandas similares a los tamaños presentes en el control positivo para *B. bigemina*. En el caso particular del bovino 46 (carriles 20-22) aparentemente hay una contaminación de producto del carril 21 hacia los carriles 20 y 22, dado que el patrón producido es muy similar. En el cuadro 11 se encuentran los resultados globales de los 18 animales probados en con las muestras obtenidas el día -2 PI, donde se demuestra que los 18 animales son positivos a *B. bigemina* y resultado del estado portador alcanzado posterior a la premunición realizada 60 días antes de introducirse al potrero.

Una situación diferente se presenta cuando se analizan por PCR-RFLP las muestras de los animales colectadas el día 8 PI al potrero (Figura 6).



Figura 6. Análisis por PCR/RFLP de productos amplificados con oligonucleótidos PIRO-A/PIRO-B y digeridos con las enzimas *Box I* y *Msp I*. Carriles: 1: Marcador de 100 pb; 2-4: Control positivo *B. bigemina*; 5-7: Control positivo *B. bovis*; 8: Control negativo; 9-11: Bovino #10; 13-15: Bovino #23; 17-19: Bovino #41; 21-23: Bovino # 46. 2,5,9,13,17,21: Muestras de amplicones no digeridos; 3,6,10,14,18,22: Amplicones digeridos con *Box I*; 4,7,11,15,19,23: Amplicones digeridos con *Msp I*.

La Figura 6 corresponde a muestras representativas observándose los siguientes resultados: en los carriles 2-4 se representan los controles de *B. bigemina*, observándose las bandas esperadas de 280 pb y 120 pb solo cuando el amplicón es digerido con la enzima *Box I* (carril 3). Los controles de *B. bovis* se presentan en los carriles 5-7, y solo el amplicón digerido con *Msp I* (carril 7) presenta dos bandas de 240 pb y 160 pb. En los carriles 9 al 23 se representan los animales con ID 10, 23, 41 y 46 de los 18 bovinos introducidos a potrero infestado con garrapatas. En los carriles 9, 13, 17 y 21 son muestras de amplicón sin digerir, obteniéndose la banda de 390-395 pb característica de *Babesia* spp. En los carriles 10, 14, 18 y 22 son amplicones digeridos con la enzima *Box I*, de los cuales se puede observar que, de acuerdo con el patrón de digestión, los animales con ID 10 y 46 son positivos a *B. bigemina*. En los carriles 11, 15, 19 y 23 son muestras que fueron digeridas con la enzima *Msp I*, se determina que el patrón de digestión obtenido en la muestra del animal ID 46 (carril 19) corresponde a un patrón positivo a *B. bovis*. Para el caso del animal con ID 23 no se obtuvo un patrón de digestión definitivo dado que el amplicón original fue de muy baja calidad y concentración.

ID	DPI	-2		11		12		13		15		
		Enzima	Box I	Msp I	Box I	Msp I	Box I	Msp I	Box I	Msp I	Box I	Msp I
10			+	-			+	-				
23			+	-			-	-				
41			+	-				+				
46			+	+			+	-				
12			+	-			+	-				
15			+	-	+	-						
20			+	-	-	+						
22			+	-	+	+						
6			+	-	+	+						
25			+	-	+	-						
45			+	-	-	-						
112			+	-	+	+						
13			+	-	+	+						
28			+	-				-	-			
21			+	-				+	-			
19			+	-				-	-			
9			+	-					-	+		
7			+	-					+	-		

Cuadro 5. Resultados globales de los animales naturalmente infectados mediante la exposición a garrapata y analizados por la prueba de PCR-RFLP para discriminación de especie de *Babesia* en función de la digestión de amplicones con las enzimas Box I y Msp I.

En el cuadro 5 se presentan los resultados globales de los 18 animales (muestras correspondientes a los días 11, 12, 13 y 15 PI) de los cuales 7 de los 18 animales son positivos solo a *B. bigemina*, 3 de los 18 animales son positivos solamente a *B. bovis*, 4 de los 18 animales son positivos a ambas especies, y 4 de los 18 animales son aparentemente negativos en la prueba de PCR-RFLP. Esta aseveración resulta del hecho que todos los animales resultaron positivos a la prueba de PCR PiroA/B (ver cuadro 5), sin embargo, no se logró reamplificar suficiente material para llevar a cabo la digestión enzimática. Alternativamente, existe la posibilidad que el amplicón corresponda a otra especie de *Babesia* y/o *Theileria* presente en estos animales. Esto, derivado del hecho que se evidenciaron formas intraeritrocíticas sugerentes de piroplasmas cuando se realizó el examen microscópico de los frotis derivados de estos animales. Si los piroplasmas observados microscópicamente y los correspondientes amplicones obtenidos por la prueba de PCR PiroA/B corresponden a otra especie de *Babesia* y/o *Theileria* merece especial atención para investigarse en otro estudio, ya que a la fecha no se ha reportado en México, la presencia de otros piroplasmas que infecten a los bovinos, aparte de *B. bovis* y *B. bigemina*. Para poder realizar esto, se tendrá que verificar, mediante la clonación molecular

y secuenciación de los amplicones clonados, la naturaleza y homología de la secuencia para establecer pertenencia del amplicón a alguna especie en particular.

Se ha utilizado previamente, como blanco de detección por PCR, el gen de la β -tubulina para la detección temprana de *Babesia bigemina* y *Theileria annulata* (Cacciò et al, 2010). Considerando el análisis de la secuencia del fragmento del gen p-tubulina de varios aislados, se desarrolló un método de PCR-RFLP basado en las enzimas *Eco RI* y *Hind III* para la identificación de especies de *B. bigemina* y *T. annulata* (Singh et al, 2010).

De forma similar, estudios realizados anteriormente en China, establecieron un método basado en RFLP del gen RPS8, considerado como una herramienta de diagnóstico molecular confiable para la detección e identificación simultánea de especies bovinas de *Babesia* y *Theileria* (Tian, et al, 2015). El tamaño claramente diferente de los productos PCR-RFLP permitió una discriminación directa entre ocho especies de patógenos de los bovinos (*T. annulata*, *T. sinensis*, *T. sergenti*, *B. ovata*, *B. bovis*, *B. bigemina*, *B. major* y *Babesia* sp. Kashi).

CONCLUSIONES

Se logró implementar la prueba de PCR para detectar *Babesia spp* en las etapas prepatente y patente de la babesiosis bovina, mediante el uso de oligonucleótidos genéricos Piro-A y Piro-B. Se demuestra que la prueba de PCR para amplificación de ADN de *Babesia* sp utilizando oligonucleótidos que alinean al gen que codifica por el ARN ribosomal 18S, logra detectar una infección rea causada por la presencia de *Babesia bigemina* y/o *B. bovis* en animales experimentalmente inoculados. Trabajos previamente realizados utilizaron como molde ADN purificado a partir de parásitos cultivados *in vitro* (Carret, 1999; Carret et al, 1999).

De acuerdo con el análisis comparativo que se realizó en este estudio con las dos técnicas de detección directa se puede esgrimir que ambas técnicas son precisas y confiables. Sin embargo, es en términos de la especificidad de las pruebas y de la cantidad de muestras que pueden ser procesadas en un día por un solo analista donde aparecen claras diferencias. Es obvio que un microscopista puede analizar fácilmente 18 frotis de gota delgada observados en una jornada si se le dedica aproximadamente 10-15 minutos de microscopía óptica por frotis. Sin embargo, para lograr esto se necesita contar con una persona con experiencia para la detección y especiación de los parásitos. Por otro lado la prueba de PCR si bien es una técnica de elevado costo por los reactivos que utiliza, tiene la gran ventaja que en una jornada laboral de 8 hrs, y dada la (semi)automatización del procedimiento de amplificación del ADN, se puede tener un mayor número de muestras procesadas en un día.

El monitoreo de los 18 animales durante 15 días una vez introducidos aun potrero infestado con garrapatas, permitió obtener un total de 270 muestras o días/animal las cuales

fueron sometidas a análisis por las técnicas diagnósticas de microscopía óptica y PCR. El promedio en días que un animal fue detectado como positivo a *Babesia* spp por microscopía óptica fue de 7.06 días, mientras que por la prueba de PCR fue de 11.66 días. Con la prueba de PCR se identificó un mayor número de días en que un animal podría ser detectado como positivo a *Babesia*. Además, para la discriminación de infección entre ambas especies, utilizando la enzima *Box I* para digerir los productos de PCR obtenidos con los iniciadores genéricos PiroA - PiroB y correspondientes a las muestras de los animales premunizados con *B. bigemina* un mes antes de la introducción al potrero infestado con garrapatas (día -2), se pudo corroborar la infección por *B. bigemina* en 14 bovinos. De forma similar, pero utilizando la enzima *Msp I* para digerir los productos de PCR obtenidos con los iniciadores genéricos PiroA - PiroB y correspondientes a las muestras obtenidas entre los días 11- 15 post introducción al potrero infestado con garrapatas, se pudo corroborar la infección por *B. bovis* en los 18 bovinos experimentales.

En conclusión, se constata la aplicación de una prueba basada en PCR-RFLP para identificar las infecciones por *Babesia* en animales experimental y naturalmente infectados con *B. bovis* y/o *B. bigemina*. Este trabajo permite establecer una diferenciación de las especies *B. bovis* y/o *B. bigemina* con el uso de enzimas de restricción para digestión de un amplicón obtenido por PCR. La prueba puede ser implementada para el monitoreo de infección por *Babesia* spp para estimar el período prepatente y/o patente de la infección en animales premunizados y/o naturalmente infectados.

AGRADECIMIENTOS

Financiado parcialmente por CONACYT, Proyecto CB2017-2018 No. A1-S-43508; e INIFAP, Proyecto SIGI No. 1672534936

REFERENCIAS

Álvarez, J.A.; Rojas, C.; Figueroa, J.V. (2019). Diagnostic tools for the identification of *Babesia* sp. in persistently infected cattle. *Pathogens*. 9; 8(3):143.

Bock, R.E.; Jackson, L.; de Vos, A.J.; Jorgensen, W. (2004) Babesiosis of cattle. *Parasitology*. 129, 247-269.

Cacciò, S.; Cammà, C.; Onuma, M.; Severini, C. (2000). The beta-tubulin gene of *Babesia* and *Theileria* parasites is an informative marker for species discrimination. *Int. J. Parasitol.* 11:1181-1185.

Carret, C.M. 1999. *Babesia canis: caractérisation d'antigènes parasitaires solubles potentiellement impliqués dans l'immunoprotection induite chez le chien et analyse moléculaire du polymorphisme génétique des sous espèces*. Tesis de doctorado. Facultad de Farmacia, Universidad de Montpellier I. Montpellier, Francia.

Carret, C.; Walas, F.; Carcy, B.; Grande, N.; Précigout, É.; Moubri, K.; Schetters, T.P.; Gorenflo, A. (1999). *Babesia canis canis*, *Babesia canis vogeli*, *Babesia canis rossi*: Differentiation of the three subspecies by a Restriction Fragment Length Polymorphism analysis on amplified small subunit ribosomal RNA genes. *J. Eukaryotic Microbiol.* 46(3): 298-303.

Figueroa, J.V.; Chieves, L.P.; Johnson, G.S.; Buening, G.M. (1992). Detection of *Babesia bigemina*-infected carriers by polymerase reaction amplification. *J. Clin. Microbiol.* 30, 2576–2582.

Figueroa, J.V.; Chieves, L.P.; Johnson, G.S.; Buening, G.M. (1993). Multiplex polymerase chain reaction based assay for the detection of *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* DNA in bovine blood. *Vet. Parasitol.* 50, 69-81.

Figueroa, J.V.; Alvarez, J.A.; Canto, G.J.; Ramos, J.A.; Mosqueda, J.J.; Buening, G.M. (1996). Comparative sensitivity of two tests for the diagnosis of multiple hemoparasite infection of cattle. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 23, 117–127.

Lira Amaya, J.J.; Polanco Martínez, D.J.; Santamaría Espinosa, R.M.; Martínez García, G.; Rojas Martínez, C.; Álvarez Martínez, J.A.; Figueroa Millán, J.V. (2023). Use of a PCR-RFLP molecular test for the differentiation of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in the diagnosis of bovine babesiosis. En: Eduardo Eugênio Spears, Ed., “Agrárias: Pesquisa e Inovação nas Ciências que Alimentam o Mundo IX”. Aceptado para publicación.

Lopez M, Figueroa JV, Ramos JA, Mosqueda JJ, Rojas E, Vega CA, Alvarez JA. (2008). Infection and seroconversion of susceptible animals introduced into a babesiosis endemic area. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1149:131-135.

Martínez-García, G.; Santamaría-Espinosa, R.M.; Lira-Amaya, J.J.; Figueroa, J.V. (2021). Challenges in tick-borne pathogen detection: The case for *Babesia* spp. identification in the tick vector. *Pathogens* 10, no. 2: 92.

Morilla-González, A. 1981. Inmunología de la babesiosis. *Ciencia Veterinaria*, 3: 240-268.

Navarrete, I.; Serrano, F.J.; Reina, D. (2002). Parásitos hemáticos. En: M. Cordero del Campillo & R. A. Rojas Vazquez, edits. *Parasitología Veterinaria*. España: Mc Graw Hill, pp. 283-294.

OIE, World Organization for Animal Health (WOAH) (2021). Bovine Babesiosis; OIE WOAH Terrestrial Manual: Paris, France, 2021; Chapter 3.4.2; Available online: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.04.02_BABESIOSIS.pdf (accessed on 28 June 2022).

Olmeda, A S; Armstrong, P M; Rosenthal, B M; Valladares, B; del Castillo, A; de Armas, F; Miguelez, M; González, A; Rodríguez Rodríguez, J A; Spielman, A; Telford III, S R., (1997). A subtropical case of human babesiosis. *Acta Tropica*, Volumen 67, pp. 229-234.

Reyes-Sandoval, R.M.; Bautista-Garfias, C.R.; Castañeda-Arriola, R.O.; Vargas-Urióstegui, P.; Álvarez-Martínez, J.A.; Rojas-Martínez, C.; Mejía-Estrada, F.; Figueroa-Millán, J.V. (2016). Babesiosis: Field assessment of protection in cattle immunized with a mixture of *Babesia bovis* recombinant proteins. *Quehacer Científico en Chiapas*, 11(2):36-46.

SIAP. (2022). Población Ganadera/Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera/Gobiernogob.mx. Available online: www.gob.mx (accessed on 30 June 2022).

Singh, H.; Cheema, P.S.; Mishra, A.K.; Tewari, A.K.; Rao, J.R.; Ravindran, R.; Ray, D.; Bansal, G.C. (2010). β -tubulin gene based PCR-RFLP method for specific detection of *Babesia bigemina* and *Theileria annulata* isolates. *J. Appl. Anim. Res.* 37: 233-238.

Tian, Z.; Du, J.; Yang, J.; Liu, A.; Liu, X.; Liu, G.; Yin, H. (2015). A PCR-RFLP assay targeting RPS8 gene for the discrimination between bovine *Babesia* and *Theileria* species in China. *Parasit. Vectors.* 8:475.

Toussaint, M. (1906). La Ranilla y el *Piroplasma bigeminum*. En: *Comision de Parasitología Agrícola*. Mexico, DF: Secretaría de Fomento, pp. 5-12.

CAPÍTULO 6

DISPONIBILIDAD DEL HIERRO DE LOS SUELOS DE LA VEGA MEDIA DEL RIO SEGURA (MURCIA, SURESTE DE ESPAÑA)

Data de submissão: 08/03/2023

Data de aceite: 03/04/2023

Pura Marín Sanleandro

Dpto. Química Agrícola, Geología y Edafología. Facultad de Químicas. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo. Murcia

Ana María Gómez García

Juana M^a Gil Vázquez

Arantzazu Blanco Bernardeau

R&D Advisor – Researcher - Kveloce I+D+i (Senior Europa – Murcia)

M^a Asunción Alías Linares

Dpto. Química Agrícola, Geología y Edafología. Facultad de Químicas. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo. Murcia

calcáricos (IUSS-WRB, 2022) dedicados a uso industrial. Se estudia su pH, contenido en carbonato cálcico, hierro asimilable e hierro total, encontrándose que sólo una muy pequeña parte del hierro total es asimilable, con estos valores de pH y carbonato cálcico. Se presentan diferencias estadísticamente muy significativas entre ambos tipos de suelos en cuanto al hierro asimilable (0,001712 para $p < 0.001$) pero no en el hierro total. Respecto al uso, también hay diferencias significativas entre el uso agrícola y el industrial, pero no entre los suelos abandonados y los cultivados en la actualidad. El objetivo es conseguir un sistema agropolitano sostenible y resiliente.

PALABRAS CLAVE: Suelos agrícolas, huerta, hierro asimilable, hierro total, desarrollo sostenible.

RESUMEN: En el presente trabajo se estudia la disponibilidad del hierro de los suelos de la Vega Media del río Segura (Murcia), zona periurbana de huerta tradicional en la que están instalados muy variados cultivos hortofrutícolas y con zona industrial, ya que hay varios polígonos industriales. Los suelos presentes en la zona de estudio son Fluvisoles calcáricos, en uso o abandonados, y Regosoles

AVAILABILITY OF IRON FROM THE SOILS OF THE VEGA MEDIA DEL RIO SEGURA (MURCIA, SOUTHEAST OF SPAIN)

ABSTRACT: In the present paper, the availability of iron in the soils of the Vega Media of the Segura river (Murcia) is studied, a peri-urban area of traditional orchards in which a wide variety of fruit and

vegetable crops are installed and with an industrial zone, since there are several industrial estates. The soils present in the study area are calcareous Fluvisols, in use or abandoned, and calcareous Regosols (IUSS-WRB, 2022) dedicated to industrial use. Its pH and calcium carbonate content are studied, finding that only a very small part of the total iron is assimilable, at these pH values and calcium carbonate content. There are highly significant statistical differences between both types of soils in terms of assimilable iron (0.001712 for $p<0.001$) but not in total iron. Regarding use, there are also significant differences between agricultural and industrial use, but not between abandoned soils and those currently cultivated. The objective is to achieve sustainable and resilient agropolitan systems.

KEYWORDS: Agricultural soils, orchard, assimilable iron, total iron, sustainable development.

INTRODUCCIÓN

El reto al que se enfrenta la sociedad mundial, en general, y la sociedad murciana en particular, en las próximas décadas, es conseguir sistemas agropolitano desarrollados, sostenibles y resilientes (Batara et al. 2021). Debemos producir alimentos sanos para una población urbana que no para de crecer, con espacio físico cada vez menor para cultivar y con escasez de agua, particularmente en zonas áridas como la Región de Murcia, y todo ello en un escenario de cambio climático e incertidumbre económica y social, agravada por la pandemia mundial del covid-19 y la guerra de Ucrania.

Egea y Egea (2017) en su libro “Huerta de Murcia” consideran los beneficios directos de la Agricultura Urbana y Periurbana, a lo que hay que sumarle su enorme potencial para mitigar los efectos del cambio climático, reducir el consumo energético, contribuir a la salud ambiental y humana en las ciudades (Illeva et al., 2022; Reyes-Riveros et al., 2021), así como aumentar la integración social de los más pobres. En este sentido, el planeamiento urbanístico (Simón et al., 2012) debe articular las funciones productivas, ecológicas, paisajísticas y urbanas de los espacios agrarios periurbanos, estableciendo un gradiente entre el medio rural y el urbano.

El hierro es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre después de Si, O y Al, representa el 5.1 % de su peso total y su contenido en el suelo se estima en un 3.8 % (Lindsay, 1979). A partir de la meteorización de minerales primarios, como silicatos ferromagnéticos, se libera hierro soluble que podrá ser utilizado por los organismos, unirse a distintos ligandos orgánicos, o bien ser transformado a minerales secundarios tales como sulfuros, carbonatos, minerales de la arcilla, pero fundamentalmente óxidos e hidróxidos, que serán los que controlen principalmente la solubilidad de este elemento en el suelo (Lindsay, 1979; Murad y Fisher, 1988). Debido a la extremadamente baja solubilidad de los óxidos de Fe^{+3} en el rango de pH normal en suelos, el hierro liberado precipitará rápidamente como óxido o hidróxido. Colombo et al. (2014) realizaron una revisión bibliográfica con respecto a las reacciones bióticas y abióticas que pueden influir en la disponibilidad de hierro en los suelos.

La solubilidad de los minerales de hierro en los suelos es muy baja usualmente;

la interacción con plantas, microorganismos y sustancias orgánicas pueden favorecer la formación de complejos de hierro soluble, que incrementan su disponibilidad para las plantas. (Colombo et al., 2014).

Se pretende con este trabajo conocer la potencialidad agrícola férrea de estos suelos y relacionarla con los tipos y usos de los mismos para redirigir el cambio de usos. El objetivo final es llegar a una planificación racional del territorio dando a cada suelo su uso más adecuado de acuerdo con sus características intrínsecas y extrínsecas. Y todo ello enfocado a conseguir de la huerta murciana un sistema agropolitano sostenible y resiliente.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área seleccionada para el trabajo ha sido el sector central de la Vega Media del río Segura (Murcia), con una extensión aproximada de 65 km² e integrada por los términos municipales de Molina de Segura, Alguazas, Las Torres de Cotillas y Lorquí. (Figura 1). Se diseñó una malla de 1x1 km² y se realizó un muestreo de 68 muestras de capa arable (30 cm de profundidad).

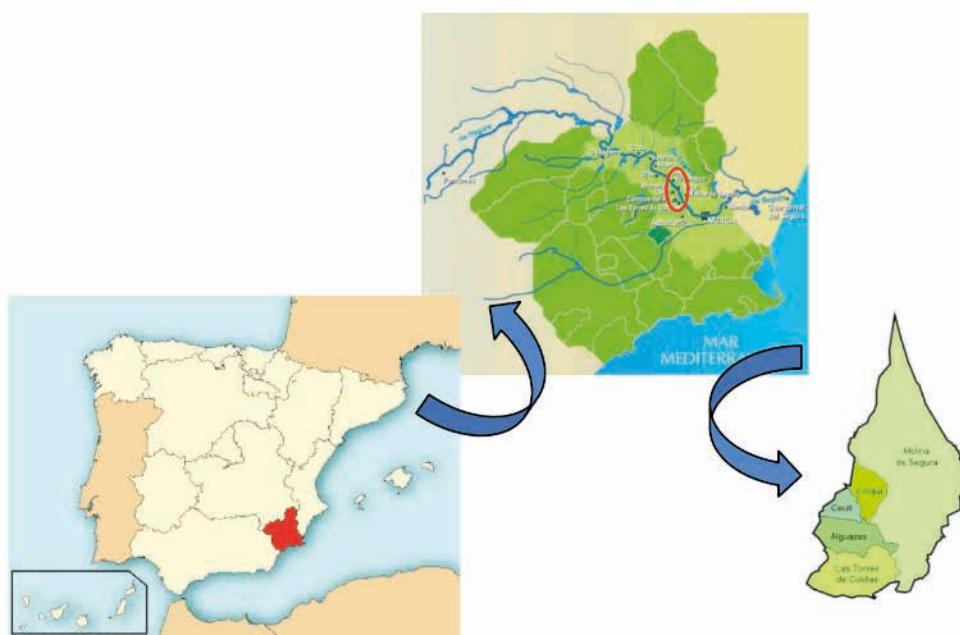


Figura 1. Localización de la zona de estudio

Se han realizado las determinaciones analíticas necesarias para la caracterización tipológica de los suelos estudiados según el sistema del IUSS Working Group WRB (2022). Para el pH se ha utilizado la medida en una suspensión 1:5 de suelo en agua. Para

determinar el carbonato cálcico se utilizó el método volumétrico del calcímetro de Bernard (USDA, 1996). Para determinar el hierro asimilable tras su extracción con solución 0,005M de DTPA, 0,01 M de CaCl_2 y 0,1 M de trietanolamina a pH de 7,3 (Lindsay y Norvell, 1978), se ha utilizado plasma acoplado inductivamente. Se seleccionó la digestión ácida con HCl y HNO_3 en horno microondas para determinar el hierro total. (Ure, 1996). La cuantificación se realizó mediante ICP también.

Con el fin de realizar un estudio estadístico a los resultados obtenidos de las muestras de capa arable se ha recurrido al paquete estadístico R (R Development Core Team, 2008) para analizar si las diferencias observadas entre las muestras respecto a las variables estudiadas eran significativas en cuanto al tipo y uso del suelo, mediante métodos no paramétricos (Kruskal-Wallis y Wilcoxon) al no poder asegurar la normalidad y la homocedasticidad de la variable analizada. Para la representación cartográfica, se utilizó QGIS 2.0 Dufour (Quantum GIS Development Team, 2013) que permite la interpolación de los valores por IDW (Ponderación inversa a la distancia).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Vega Media del río Segura, el paisaje rural ha sido transformado por la urbanización e industrialización. El paisaje regado disminuye debido a la expansión de los núcleos tradicionales, al disperso residencial de media densidad y a la creación de una serie de polígonos industriales (La Serreta, La Estrella, etc.).

En la zona estudiada se presentan dos tipos de suelos, que se encuentran en proporción similar: Fluvisoles Calcáricos y Regosoles Calcáricos (IUSS-WRB, 2022). Los Fluvisoles tienen un uso agrícola actual o bien se dedicaron a labores de cultivo en el pasado y ahora están en barbecho o abandonados. Los Regosoles Calcáricos están ubicados en polígonos industriales o áreas urbanas. Puntualmente aparecen Solonchaks hápicos en saladeras. Estos suelos han sido estudiados en detalle por Gómez García (2016).

Variable	Media		SD		Kruskal (df=2)	
	Fluvisol N=33	Regosol N=34	Fluvisol N=33	Regosol N=34	Chi-square	p value
pH	8,546	8,337	0,301	0,387	56067	0,06061
CaCO ₃	351,793	363,379	60,563	77,569	1606	0,448
Fe _{asim}	1,758	0,555	1,858	0,540	265556	0,001712***
Fe _{total}	11599,68	10553,33	2350,327	2041,302	45552	0,1025
ratioFe	0,000172	0,00005603	0,0002611	0,00006365		

Tabla 1. Estadística de las variables estudiadas en función del tipo de suelo: pH, carbonato cálcico (g/kg), hierro total (mg/kg) y hierro asimilable (mg/kg).

Variables	Uso						Kruskal (df=2)	
	Abandonado N=15		Cultivado N=20		Industrial N=33		Chi- cuadrado	p,value a =0,05
	media	SD	media	SD	media	SD		
CaCO ₃	360,44	51,60	346,46	65,59	362,20	78,46	1,396	0,4975
pH	8,55	0,34	8,55	0,27	8,32	0,38	6,998	0,03023*
Fe _{asim}	1,567	1,651	1,791	1,977	0,556	0,549	26,13	2,12E-006***
Fe _{total}	11890,350	2596,268	11289,950	2078,535	10572,780	2069,751	4,01	0,1349
ratioFe	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	24,594	0,000004565***

Tabla 2. Estadística de las variables estudiadas en función del uso del suelo. Test no paramétrico de Kruskal Wallis: CaCO₃ (g kg⁻¹), pH, Fe_{asim} (mg/kg), Fe_{total} (mg/kg).

El valor medio de pH en los Fluvisoles calcáricos es de 8,54, muy semejante al valor medio en los Regosoles calcáricos que es de 8,33, no presentándose diferencias estadísticamente significativas entre ellos (Tabla 1). Respecto al uso, se observan diferencias estadísticamente significativas entre los suelos cultivados actualmente y los dedicados a uso industrial; no observándose entre los suelos abandonados y los que se encuentran bajo cultivo según el test de Wilcoxon. La distribución de este valor se puede observar en la Figura 2 y corresponde a valores usuales en la Región de Murcia (Ramírez et al., 1999). Los valores obtenidos son los esperados, ya que estos suelos poseen altos contenidos en CaCO₃.

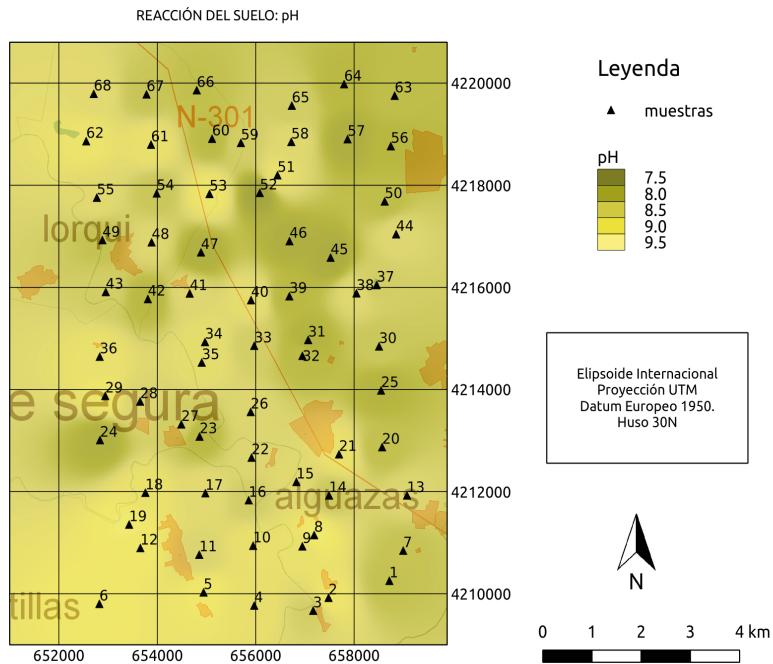


Figura 2. Interpolación del pH en la zona de estudio.

Los suelos objeto de estudio son muy calizos, de hecho se trata de Regosoles y Fluvisoles Calcáricos en ambos casos, con un contenido medio en carbonato cálcico de 363 g kg⁻¹ para Regosoles y 352 g kg⁻¹ para Fluvisoles. Presentan una distribución espacial homogénea en cuanto al contenido en carbonatos (Figura 3), no observándose diferencias estadísticamente significativas respecto al tipo de suelo ni respecto al uso del mismo.

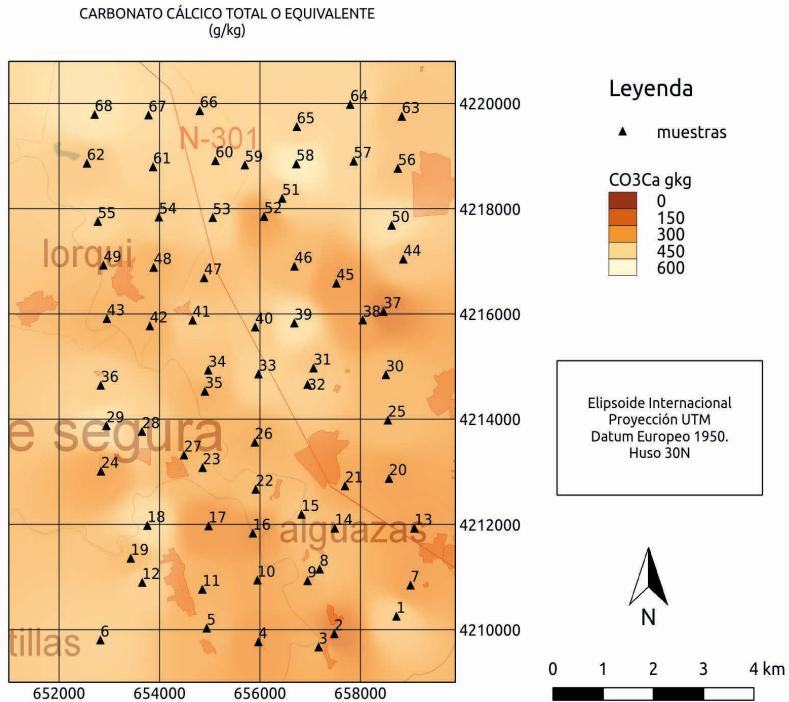


Figura 3. Interpolación de los carbonatos en la zona de estudio.

El contenido en carbonato cálcico presenta correlación negativa, estadísticamente significativa, con la mayor parte de los micronutrientes asimilables, justificable por la inmovilización de estos a pH elevado.

El hierro, cobre, manganeso y zinc, son considerados como micronutrientes para las plantas ya que son consumidos en pequeñas cantidades por ellas, pero imprescindibles para sus funciones vitales. Sus funciones en las plantas son generalmente catalíticas interviniendo en múltiples reacciones enzimáticas vitales para la planta, como la síntesis de la clorofila. Sin embargo, el exceso de micronutrientes en estado asimilable para las plantas puede ser tóxico, en pequeñas concentraciones, ya que el rango entre el nivel óptimo y el tóxico es muy estrecho.

Estos elementos son muy solubles a pH inferior a 5.5 y conforme aumenta el pH del suelo disminuye su solubilidad, de tal forma que en suelos con carácter alcalino, como son los de la zona de estudio con un pH en agua superior a 8 y próximo a 8.5, su absorción por las plantas es muy escasa, encontrándose la mayoría como formas no asimilables para la planta. Por ello se han determinado sus contenidos totales y asimilables, para conocer qué fracción del total se encuentra disponible para las plantas.

Los valores de hierro asimilable de los suelos muestreados pueden calificarse de muy bajos según la clasificación establecida por Lindsay y Norvell en 1978, que sigue

vigente según Cobrera (1993), por ser inferiores a 2 ppm, incluso en los suelos cultivados actualmente con un valor medio de 1.79 ppm (Tabla 2), presentándose diferencias estadísticamente muy significativas entre los suelos cultivados y los que se dedican a un uso industrial ($p=0.0000$). Estos valores de hierro asimilable son similares a los obtenidos por Marín en 1992 en los horizontes Ap de sus perfiles muestrados (1.65 ppm).

Su índice de asimilabilidad (Tabla 1) podemos decir que es prácticamente nulo, ya que de los valores medios de hierro total (11.600 ppm en Fluvisoles y 10.553 ppm en Regosoles), la parte asimilable es inferior al 0.01 % justificable por el elevado pH de estos suelos calizos, que hace que la práctica totalidad de este elemento se encuentre inmovilizada en forma de óxidos e hidróxidos precipitados e insolubles. Esta baja disponibilidad de hierro es la responsable de la clorosis férrica que afecta a la vegetación, ya que cuando hay carencia de hierro en la formación de la hoja, la molécula de la clorofila no puede proporcionar el verdor. Debido a este problema con la inmovilidad del hierro se fertiliza con quelatos que los mantienen en disolución. Por otra parte, el papel de la materia orgánica también es muy positivo, ya que la formación de quelatos entre la materia orgánica y el hierro favorece su paso a formas disponibles.

Vidal et al. (2004) estudiaron el comportamiento de los metales pesados en Fluvisoles calcáricos dedicados a la agricultura en la Vega Baja del río Segura y consideran probable que la movilidad de los metales pesados estuviera influenciada por la fracción mineral a la que estaban unidos.

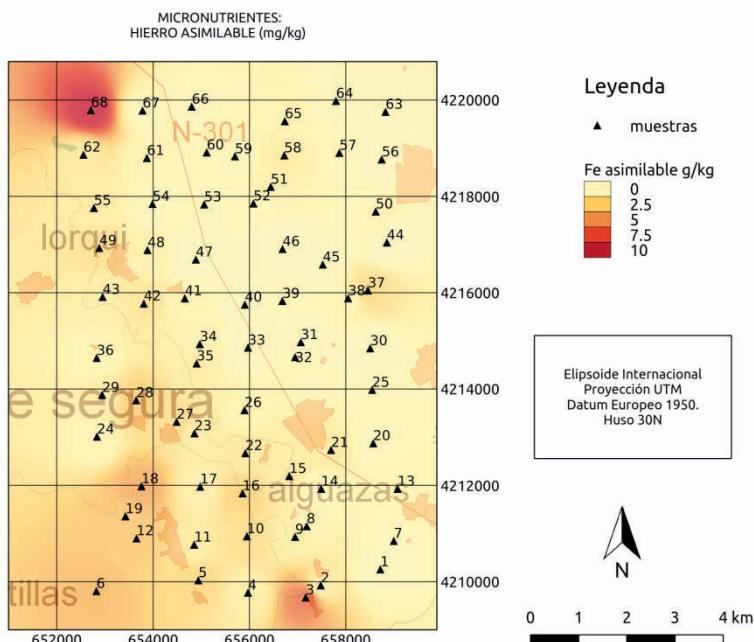


Figura 4. Interpolación de hierro asimilable en la zona de estudio

El hierro asimilable, cuya distribución espacial se presenta en la Figura 4, presenta una correlación positiva estadísticamente significativa con carbono orgánico (0.349 para $p<0.001$) y nitrógeno total (0.354 para $p<0.01$). Presenta una correlación negativa estadísticamente significativa con calcio soluble (-0.348 para $p<0.01$) y los sulfatos (-0.329 para $p<0.01$).

El hierro total, cuya distribución espacial se presenta en la Figura 5, presenta correlación estadísticamente significativa con el carbono orgánico (0.35 para $p<0.01$) y nitrógeno total (0.361 para $p<0.01$). Asimismo hierro total tiene una correlación negativa con el contenido en carbonato cálcico (-0.511 para $p<0.001$) y con la conductividad eléctrica (-0.319 para $p<0.01$).

El hierro total tiene correlación positiva con manganeso total (0.695) y zinc total (0.517) ambos con $p<0.001$.

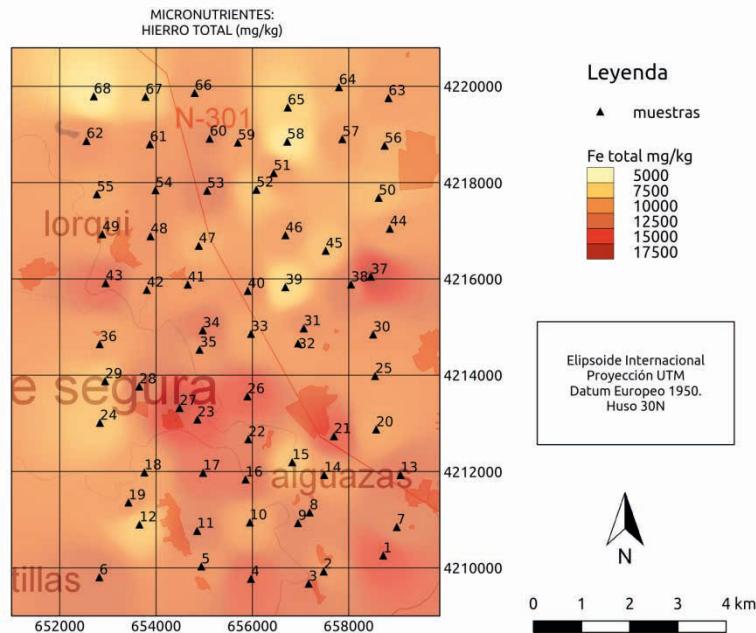


Figura 5. Interpolación del hierro total en la zona de estudio.

CONCLUSIONES

Los suelos estudiados presentan valores muy bajos de hierro asimilable, respecto al hierro total, debido a su elevado pH y carácter calizo. No hay diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tipos y usos de suelos en cuanto al contenido en hierro total, pero si la hay en cuanto al hierro asimilable. Se recomienda una fertilización férrica controlada y aplicar fertilizantes de bajo índice salino para no incrementar la salinidad del

suelo. También sería necesario realizar mejoras en las técnicas de riego ya que, debido a las características climáticas de la zona, el tipo de suelo y la calidad de las aguas de riego, debería sustituirse el riego a manta por el riego por goteo. También sería recomendable introducir variedades de cultivo con mejoras genéticas que toleren mejor la salinidad y la sequía.

REFERENCIAS

- Batara, S.; Haeruddin, S.; Hamsina, H.; Muhammad, I. y Despry Nur Annisa, A. (2021). **Rural Agribusiness-based Agropolitan Area Development and Environmental Management Sustainability: Regional Economic Growth Perspectives.** *International Journal of Energy Economics and Policy*, 11(1), 142-157.
- Cobertera, E. (1993). **Edafología aplicada. Suelos, producción agraria, planificación territorial e impactos ambientales.** Ediciones Cátedra.
- Colombo,C.; Palumbo, G.; He, J.Z.; Pinton, R. y Cesco, S. (2014). **Review on iron availability in soil: interaction of Fe minerals, plants, and microbes.** *Journal of Soils Sediments*, 14, 538-548
- Development Team. (2013). QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation.
- Egea Fernández, J.M. y Egea Sánchez, J.M. (2017). **Huerta de Murcia: hacia un sistema agropolitano sostenible y resiliente.** 42lineas digital.
- Gómez García, A. (2016). **Caracterización de los suelos de usos agrícola e industrial de la comarca de Molina de Segura (Murcia) para una planificación racional del territorio.** [Tesis doctoral]. Universidad de Murcia. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=154809>
- Ilieva, R.T.; Cohen, N.; Israel, M.; Specht, K.; Fox-Kämper, R.; Fargue-Lelièvre, A.; Ponižy, L.; Schoen, V.; Caputo, S.; Kirby, C.K.; Goldstein, B.; Newell, J.P. y Blythe, C. (2022). **The Socio-Cultural Benefits of Urban Agriculture: A Review of the Literature.** *Land*, 11(5), 622.
- Working Group WRB. (2022). **World Reference Base for Soil Resources. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps.** International Union of Soil Sciences (IUSS).
- Lindsay, W.L. y Norvell, W.A. (1978). **Development of a Dtpa Soil Test for Zinc, Iron, Manganese, and Copper.** *Soil Science Society of America Journal*, 42, 421-428.
- Lindsay, W.L. (1979). **Chemical equilibria in soils.** Wiley.
- Marín, P. (1992). **Características generales y aspectos mineralógicos de la fertilidad en potasio de los suelos del sector meridional de la Vega Alta del Segura (Murcia).** [Tesis Doctoral]. Universidad de Murcia. <https://digitum.um.es/digitum/handle/10201/32748>
- Murad, E. y Fisher, W.R. (1988). **The Geochemical Cycle of Iron.** Iron in Soils and Clay Minerals. (pp. 1-18). Reidel Publishing Company.

Ramírez, I.; Vicente, M.; García, J.A. y Vaquero, A. (1999). **Mapa digital de suelos de la Región de Murcia.** Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Región de Murcia.

R Development Core Team: A language and environment for statistical computing. (2008). R Foundation for Statistical Computing.

Reyes-Riveros, R.; Altamirano, A.; De La Barrera, F.; Rozas-Vásquez, D.; Vieli, L. y Meli, P. (2021). **Linking Public Urban Green Spaces and Human Well-Being: A Systematic Review.** *Urban Forestry & Urban Greening*, 61, 127105.

Simón, M.; Zazo, A. y Morán, N. (2012). **Nuevos enfoques en la planificación urbanística para proteger los espacios agrarios periurbanos.** *Ciudades: Revista del Instituto Universitario de Urbanística de la Universidad de Valladolid*, 15, 151-166.

Ure, A.M. (1996). **Single extraction schemes for soil analysis and related applications.** *The Science of the Total Environment*, 178, 3-10.

United States Department of Agriculture (USDA). (1996). **Soil survey laboratory methods manual.** Washington D.C. U.S. Department of Agriculture, National Resources Conservation Services, National Soil Survey Centre, Soil Survey Investigations, Report No. 42.

Vidal Otón, J.; Pérez Sirvent, C.; Martínez Sánchez, M.J. y Navarro, M.C.. (2004). **Origin and behaviour of heavy metals in agricultural Calcaric Fluvisols in semiarid conditions.** *Geoderma*, 121, 257-270.

CAPÍTULO 7

PRUEBAS DE ANTAGONISMO *IN VITRO* CON HONGOS ASOCIADOS AL SÍNTOMA DE MARCHITEZ EN AGUACATE EN HUERTO ORGÁNICO Y CONVENCIONAL EN MICHOACÁN

Data de aceite: 03/04/2023

José Luciano Morales García

Universidad Michoacana De San Nicolás
De Hidalgo
Facultad De Agrobiología “Presidente
Juárez”
Uruapan Michoacán

Héctor Daniel Hurtado Chávez

Universidad Michoacana De San Nicolás
De Hidalgo
Facultad De Agrobiología “Presidente
Juárez”
Uruapan Michoacán

Karina Lizeth Morales Montelongo

Universidad Michoacana De San Nicolás
De Hidalgo
Facultad De Agrobiología “Presidente
Juárez”
Uruapan Michoacán

Edna Esquivel Miguel

Universidad Michoacana De San Nicolás
De Hidalgo
Facultad De Agrobiología “Presidente
Juárez”
Uruapan Michoacán

RESUMEN: La tristeza del aguacate (*Persea americana* Mill.), es una enfermedad causada por un complejo de

hongos que habitan de forma natural en el suelo, los cuales atacan la raíz y cuello de la planta causando un marchitamiento de la misma, además de un bajo rendimiento y baja calidad del fruto. Esta enfermedad se disemina con rapidez causando un daño económico a los productores. El objetivo de este estudio fue identificar los principales hongos asociados a la tristeza del aguacate y su capacidad antagónica. Se realizaron muestreos dirigidos en plantas con síntoma de tristeza en huertos con manejo convencional y orgánico, en distintos municipios productores en el estado de Michoacán. Se aislaron, purificaron e identificaron los hongos presentes en las raíces muestreadas. Como resultado se obtuvieron 32 aislamientos, de los cuales resultaron más frecuente *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp., *Trichoderma* sp., *Verticillium* sp. y *Rhizoctonia* sp., se realizaron bioensayos de antagonismo *in vitro* para determinar su capacidad antagónica. La sepa de *Trichoderma* sp. obtuvo mayor capacidad antagónica en las confrontaciones impidiendo el crecimiento de los patógenos. Los resultados muestran que en los huertos orgánicos hay más interacción de organismos en la raíz-suelo en un total de 24 organismos de los

cuales son más comunes *Phytophthora* sp. *Fusarium* sp. *Verticillium* sp. *Rhizoctonia* sp. y *Trichoderma* sp. a diferencia del manejo convencional que solo se encontraron 8 organismo de los cuales son más comunes fueron *Phytophthora* sp. y *Fusarium* sp. Siendo más severo y notorio el síntoma de tristeza del aguacatero.

PALABRAS CLAVE: *Persea americana*, raíz, *Trichoderma* sp, patógenos.

IN VITRO ANTAGONISM TESTS WITH ASSOCIATED FUNGI WITH THE WILTING SYMPTOM IN AVOCADO INORGANIC AND CONVENTIONAL ORCHARDS IN MICHOACÁN

ABSTRACT: La tristeza del aguacate (*Persea americana* Mill.) es una enfermedad causada por un complejo de hongos naturalmente en el suelo, que atacan la raíz y el cuello de la planta, causando que se debilite, además de bajar la cosecha y la calidad del fruto. Esta enfermedad se propaga rápidamente causando daño económico a los productores. El objetivo de este estudio fue identificar los principales hongos asociados con la tristeza del aguacate y su capacidad antagonista. Se realizó muestreo dirigido en plantas con síntomas de tristeza en plantaciones con manejo convencional y orgánico, en Michoacán. Los hongos presentes en las raíces muestreadas fueron aislados, purificados e identificados. Como resultado, se obtuvieron 32 aislados, de los cuales *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp., *Trichoderma* sp., *Verticillium* sp. y *Rhizoctonia* sp., en *vitro* antagonismo bioensayos fueron realizados para determinar su capacidad antagonista. Se sabe de *Trichoderma* sp. que obtuvo mayor capacidad antagonista en confrontaciones, previniendo el crecimiento de patógenos. Los resultados muestran que en plantaciones orgánicas hay más interacción entre organismos en el suelo-raíz en un total de 24 organismos de los cuales *Phytophthora* sp. *Fusarium* sp. *Verticillium* sp. *Rhizoctonia* sp. y *Trichoderma* sp. Diferente al manejo convencional, solo se encontraron 8 organismos, de los cuales los más comunes fueron *Phytophthora* sp. y *Fusarium* sp. siendo más severo y notorio el síntoma de tristeza del árbol de aguacate.

KEYWORDS: *Persea americana*,root, *Trichoderma* sp, patógenos.

INTRODUCCIÓN

El aguacate (*Persea americana* Mill.) actualmente se cultiva en 70 países, México ocupa el primer lugar en plantación comercial con 224,422 hectáreas y una producción de 2,393,849 Toneladas (FAOSTAT, 2020).

El aguacate mexicano es uno de los productos más exitosos de la exportación agroalimentaria nacional, por lo que México es el principal proveedor de este alimento en el mercado internacional con una participación de 45% del valor de las exportaciones mundiales (Sagarpa, 2018).

Sin embargo, el incremento de enfermedades causadas por un gran número de hongos fitopatógenos resulta ser una gran limitante para este cultivo, lo que obliga a los agricultores a aplicar grandes cantidades de agroquímicos durante décadas.

Los hongos fitopatógenos del suelo los encontramos ocasionando daños en todos los suelos de los ecosistemas y agroecosistemas del mundo. Algunos géneros y especies

presentan una gran capacidad de adaptación y se encuentran ampliamente distribuidos, mientras que otros presentan características de adaptación más limitadas o bien son sumamente especializados, lo cual restringe su distribución (Gil-Martínez *et al.*, 2021).

La rizósfera está compuesta principalmente de microorganismos no patógenos. La gran densidad y el aumento de las interacciones microbianas, dañinas y benéficas, pueden ser especialmente importantes para los patógenos del suelo, ya que los organismos productores de enfermedades deben penetrar la rizósfera para iniciar la infección. Las interacciones biológicas pueden conducir a la eliminación o supresión del patógeno o, bajo ciertas condiciones, pueden ser benéficas. Las excreciones radiculares y tejidos muertos afectan, por sí mismo, directa o indirectamente al patógeno por los cambios originados en la flora saprofita (Gil-Martínez *et al.*, 2021).

La Tristeza del Aguacate es la enfermedad más importante y destructiva de este cultivo en el mundo, ataca árboles de todas las edades, incluyendo los de vivero, destruye las raicillas delgadas provocando la muerte del árbol (Morales, 2013). Los síntomas similares generados por los diferentes agentes causales y la carencia de un diagnóstico preciso, han generado prácticas inadecuadas de manejo, encaminados solo al control de *Phytophthora cinnamomi* Rans, como único agente causal (Morales, 2011). El efecto del mal manejo de la marchitez ha ocasionado pérdidas cuantiosas; resultando en el decaimiento y muerte de los árboles en meses o pocos años, después de la siembra (Ciro *et al.*, 2006; Tamayo, 2007; Aproare Sat, 2009; Duque, 2011; Vásquez *et al.*, 2011).

Esta enfermedad se caracteriza por que las hojas muestran una tendencia a arrugarse como si les faltara agua, con una defoliación del árbol, los brotes no crecen normalmente las hojas recién formadas son pequeñas y de color amarillo, en la fructificación los frutos son abundantes pero pequeños y de mala calidad, las ramas mueren de la punta hacia la base, las raíces secundarias de los arboles afectados se ennegrecen volviéndose de una consistencia quebradiza (Morales, 2013).

En la zona radical se observa la ausencia de raicillas y las raíces más viejas y gruesas desarrollan en su interior manchas de color castaño-rojizo cuando el árbol presenta un estado avanzado de la enfermedad. Cuando la enfermedad se detecta en sus inicios únicamente se observa que las raíces absorbentes se tornan de un color oscuro, se vuelven quebradizas y finalmente mueren. Los síntomas mencionados anteriormente se detectan fácilmente en época de lluvias (Morales, 2011).

La Tristeza del Aguacate es un problema fitosanitario grave, en el estado de Michoacán ocasiona daños en plantaciones del 8 al 15%, afectando económicamente a productores (Morales, 2013).

Dada la importancia de esta enfermedad y control inadecuado, el objetivo de esta investigación fue aislar e identificar los principales hongos asociados a la tristeza del aguacate y evaluar la capacidad antagónica “*in vitro*” de los organismos asociados al síntoma de tristeza.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de muestras

La colecta de muestras de tejido se realizó en huertos con manejo convencional y manejo orgánico en los municipios de San juan nuevo, Tingambato, Peribán y Uruapan, realizando un muestreo dirigido a arboles con síntoma de tristeza en diferentes puntos de los huertos, se colectaron muestras de 10 árboles de cada huerto. Las raíces presentaban un color rojizo-café, blanquecinas y de aspecto quebradizo. Las muestras se tomaron en el área de goteo, que es donde se presenta una mayor interacción microbiana y flujo de raíces a una profundidad de 40 cm. Se trajeron trozos de raíz de aproximadamente 3 a 4 cm de grosor, se depositaron en bolsas de papel nuevas, etiquetadas y almacenadas temporalmente en una hielera hasta la llegada al laboratorio de fitopatología para su posterior procesamiento. Al tomar la muestra de cada árbol se procedió a desinfectar la pala con alcohol al 96 %.

Aislamiento de los microorganismos

Para el aislamiento de los organismos se tomaron fragmentos de las raíces colectadas se lavaron con agua del grifo y jabón para eliminar restos de tierra, hojas y organismos macroscópicos, se cortaron las raíces en secciones de 4x4 mm con una navaja de bisturí. Para la desinfestación se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio al 2 %, con una duración de 60 segundos con agitación constante, después se enjugaron tres veces con agua destilada estéril durante 45 segundos, se colocaron en toallas de papel estéril para quitar el exceso de humedad. Se sembraron cinco fragmentos de tejido en cajas Petri con medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar, Bioxon®) de manera equidistante en los puntos cardinales norte, sur, este, oeste y centro, posteriormente se sellaron con parafilm para evitar la contaminación por organismos no deseados, se almacenaron en una cámara bioclimática a una temperatura de 28°C en la oscuridad y 80% de humedad relativa durante 72 horas.

Purificación y multiplicación

Con la finalidad de realizar la caracterización morfológica e identificación de los diferentes aislados obtenidos, se tomó de cada caja Petri, los aislamientos que presentaban diferencias entre sí y se transfirieron a medio de cultivo PDA. La técnica de purificación fue por punta de hifa por duplicado, se colocó en el centro de la caja Petri, fueron selladas con Kleen-Pack y se incubaron a 28°C en cámara bioclimática.

Identificación de los microrganismos

Una vez obtenido el crecimiento micelial del material vegetativo enfermo se prepararon montajes en porta objetos, posteriormente, se identificaron mediante características morfológicas utilizando claves taxonómicas de acuerdo con Barnett y Hunter (2006); Se

identificaron distintos organismos presentes en las muestras, observando sus estructuras de reproducción y micelio, de los cuales resultaron más frecuente los géneros *Fusarium*, *Phytophthora*, *Trichoderma* y *Verticillium*.

Pruebas de antagonismo

Para las confrontaciones de las cepas de hongos se tomaron las más frecuentes que fueron: *Fusarium* spp. *Phytophthora* sp. *Verticillium* sp. *Cilindrocarpon* sp. *Rhizoctonia* sp. y *Trichoderma* sp. Los cuales son patógenos que causan enfermedades a excepción del género *Trichoderma* que es un hongo considerado antagonista de fitopatógenos.

Las pruebas se realizaron en confrontación 1:4 combinando las cepas al azar, con el fin de elegir aquellos que mostraran actividad antagónica. Se colocaron discos de 0.5 cm de cada uno de los hongos a ensayar, en los puntos cardinales norte, sur, este, oeste y centro en cajas Petri con medio de cultivo PDA, se incubaron en cámara bioclimática donde crecieron los aislamientos a 28° C en obscuridad total.

Toma de datos

Para la evaluación de los datos obtenidos de las pruebas de diferentes combinaciones de hongos, se midió el diámetro de crecimiento del micelio de la colonia cada 24 h durante 12 días, se obtuvo el porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) con la fórmula propuesta por Ezziyyani *et al.* (2004) PICR= (R1-R2)/R1X100, donde R1 es el radio mayor (radio del patógeno testigo) R2 es el radio menor (radio del patógeno en enfrentamiento con el antagonista).

Análisis estadístico

Para determinar la capacidad antagónica de los diferentes aislamientos de hongos se aplicó un diseño experimental completamente al azar, con ocho tratamientos, tres repeticiones y un testigo absoluto. Se realizó un análisis estadístico (ANOVA) y comparación de medias de Tukey, con un nivel de significancia de ($P<0.05$), utilizando el programa (SAS OnDemand for Academics).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación morfológica

Se obtuvieron 32 especies diferentes asociadas al síntoma de las tristeza del aguacate, de las cuales las más frecuentes fueron *Fusarium* spp. *Phytophthora* sp. *Verticillium* sp. *Cilindrocarpon* sp. *Rhizoctonia* sp. y *Trichoderma* sp (Cuadro 1).

MUNICIPIO	ESPECIES	
	HUERTOS ORGÁNICOS	HUERTOS CONVENCIONALES
Uruapan	<i>Trichoderma</i> sp. <i>Phytophthora</i> sp. <i>Fusarium</i> sp. I, <i>Fusarium</i> sp. II, <i>Fusarium</i> sp. III, <i>Fusarium</i> sp. IV <i>Verticillium</i> sp. <i>Rhizoctonia</i> sp.	
Peribán de Ramos		<i>Fusarium</i> sp. I <i>Fusarium</i> sp. II <i>Trichoderma</i> sp. <i>Phytophthora</i> sp. <i>Cylindrocarpon</i> sp.
San Juan Nuevo	<i>Trichoderma</i> sp. <i>Fusarium</i> sp. <i>Fusarium</i> sp. II <i>Phytophthora</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.
Tingambato	<i>Fusarium</i> sp. <i>Verticillium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp. <i>Fusarium</i> sp. II <i>Verticillium</i> sp.

Cuadro 1. Especies aisladas en los diferentes municipios muestreados.

Fusarium sp. fue el hongo que se aisló con mayor frecuencia representando el 56.7% de los aislamientos, esta especie se presentó en la mayoría de los arboles muestreados concordando con Carranza y Morales (2015) quienes realizaron muestreos en la franja aguacatera en el estado de Michoacán México, y en el total de sus aislamientos reporta que el género *Fusarium* fue el que presentó el porcentaje más alto de incidencia, reportando las especies *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme*, *F. sporotrichioides*, *F. sanbucinum*, *F. tabacinum*.

***Fusarium* spp**

El género *Fusarium* desarrollo colonias de color purpura, naranja, amarrillo, rojo, blanco- grisáceo y su crecimiento de aspecto algodonoso. Presento abundantes microconidios unicelulares, ovoides con 2 a 3 septos, macroconidios cilíndricos rectos y curvados, la célula basal es redondeada, los conidióforos formando monofialides cortas y largas, desarrollaron clamidosporas generalmente solas o en pares.

***Phytophthora* sp**

Las cepas aisladas de este género presentaron crecimiento característico arrosetado o en forma de camelia muy similar al tipo de crecimiento de *P. cinnamomi*. Los aislados obtenidos de este fitopatógeno presentaron micelio cenocítico con hinchamientos en las hifas, presentó abundante formación y germinación de clamidosporas con característica

típica con pared gruesa. Las diferentes cepas de este oomiceto variaron en tasa de crecimiento y con base en las estructuras morfológicas se coincidió ampliamente con lo reportado por Cedeño *et al.* (2021)

***Verticillium* sp**

Se caracterizó por presentar crecimiento algodonoso de elevación media, con coloración inicial café, que conforme pasaba el tiempo se tornaba a café claro y halos concéntricos de color café. A nivel microscópico se detectó conidióforos ramificados en ángulos agudos y de forma verticilada, con conidios unicelulares redondeados. Estas características son propias del género *Verticillium*. Estos resultados corresponden a lo descrito por Castaño (2015) en la descripción de especies de *Verticillium* sp. atacando diversos cultivos de importancia económica.

***Rhizoctonia* sp**

La cepa de *Rhizoctonia* sp. presentó micelio aéreo característico que se tornó de pigmentación marrón, en medio de cultivo PDA, formó micelio hialino septado, con ramificaciones desarrolladas en ángulo de 90° entre la hifa principal. Los diámetros de las hifas se presentaron de 4.1 a 8.9 µm, lo que corresponde con Barnett y Hunter (2006).

***Cylindrocarpon* sp**

Se caracterizó por tener un crecimiento lento, de aspecto lanoso y frondoso, con coloración verde pardo hasta amarillo. Microscópicamente se caracterizó por tener esporas rectilíneas, cilíndricas, rectas, de extremos redondeados, de gran tamaño, formadas sobre conidióforos ramificados en forma de árbol o coremio, clamidosporas formando cadenas, lo que concuerda con Barnett y Hunter (2006).

***Trichoderma* sp**

De acuerdo con los criterios de identificación taxonómica de Barnett y Hunter (2006), las especies del género *Trichoderma* se compararon con claves taxonómicas e identificadas por sus características morfológicas. Las especies de *Trichoderma* sp., presentaron colonias color verde claro a oscuro con textura polvosa a algodonosa, con micelio septado, conidióforo y conidios de color verde, mostraron diversas ramificaciones en forma piramidal, en algunos casos se observa la formación de dos a tres ramas laterales y presentaron micelio aéreo.

Las esporas y fialides, estructuras características corresponden a especies del género *Trichoderma*, presentaron formas y tañidos característicos de las especies de *T. harzianum*, *T. asperellum* y *T. viride* correspondiente a lo reportado por diferentes autores (Barnett y Hunter 2006; De Hoog, 2000; Romero-Arenas *et al.*, 2017; Chaverri *et al.*, 2015; Jaklitsch *et al.*, 2015).

Pruebas de antagonismo

Trichoderma sp

En las pruebas de confrontación de *Trichoderma* sp., con los tratamientos ensayados, ningún tratamiento logró inhibir el crecimiento del micelio de este hongo (Figura 1).



Figura 1. Efecto del antagonismo de la cepa de *Trichoderma* sp. en confrontación 1:4.

Phytophthora sp

En las confrontaciones de *Phytophthora* sp. contra todos los tratamientos ensayados, se obtuvo que *Trichoderma* sp. y *Verticillium* sp. lograron el mayor PICR del 100% y fue estadísticamente significativo. En estudios realizados por Espino *et al.* (2017) se demostró efecto antagónico de *Trichoderma* sp. contra *Phytophthora* sp. concordando con estos resultados (Figura 2).

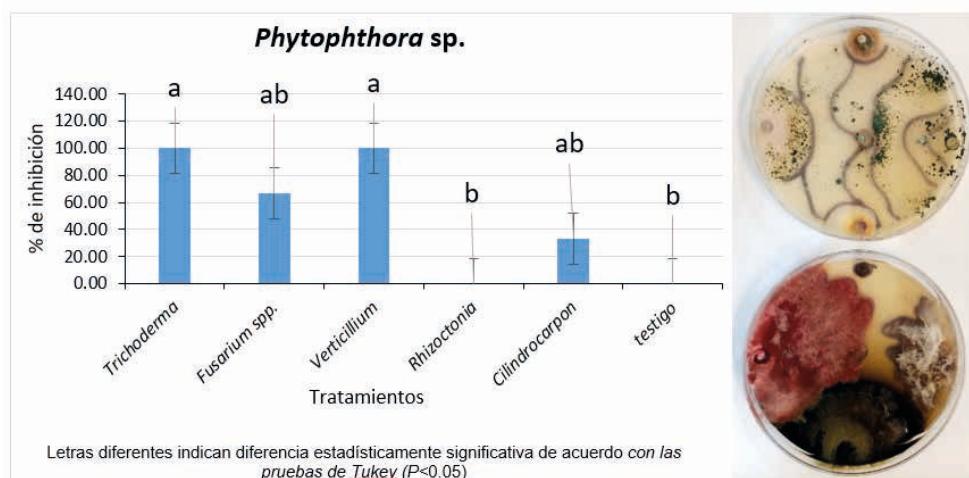


Figura 2. Efecto del antagonismo de la cepa de *Phytophthora* sp. en confrontación 1:4.

Fusarium spp

En las confrontaciones de *Fusarium* spp., el tratamiento con *Trichoderma* sp. logró el mayor porcentaje de inhibición de micelio con un PICR de 76.31% estadísticamente significativo, mientras que el tratamiento de *Cylindrocarpon* sp. no inhibió el crecimiento de micelio de este patógeno (Figura 3).

Los resultados no coinciden con los reportados por Espino *et al.* (2017), donde se observaron efectos de inhibición de *Trichoderma* sp. de solo el 24.60% contra *Fusarium moniliforme* y una resistencia a la colonización (parasitismo) de la cepa de *Trichoderma* sp.

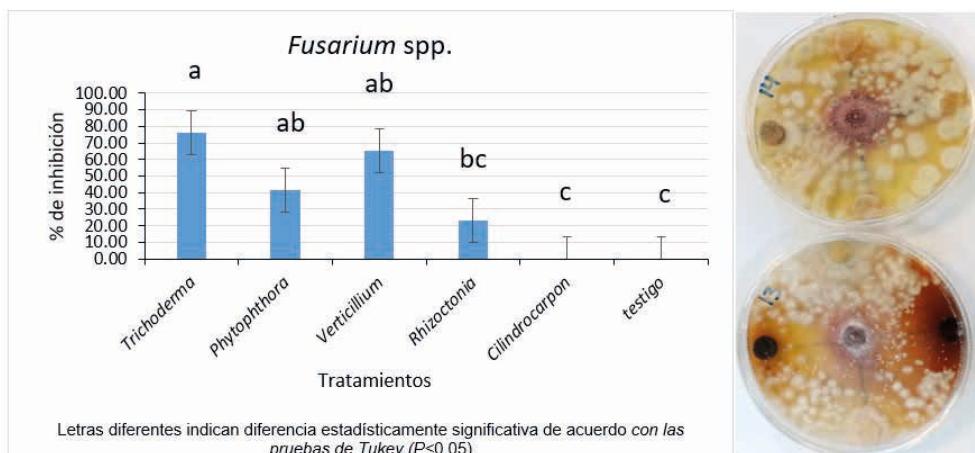


Figura 3. Efecto del antagonismo de la cepa de *Fusarium* spp.

Verticillium sp

En las confrontaciones de *Verticillium* sp., los tratamientos con *Trichoderma* sp., *Phytophthora* sp. y *Fusarium* spp. obtuvieron el mayor PICR de 90.48%, 85% y 66% respectivamente y fue estadísticamente significativo. Los resultados coinciden con lo reportado por Martis (1998) que encontró que diferentes cepas de *Trichoderma* sp., como *T. viride*, *T. koningii*, *T. harzianum* y *T. aureoviride*, inhibieron el crecimiento micelial de *Verticillium dahliae* debido a la producción de metabolitos. Observando varios tipos de interferencia de hifas (Figura 4).

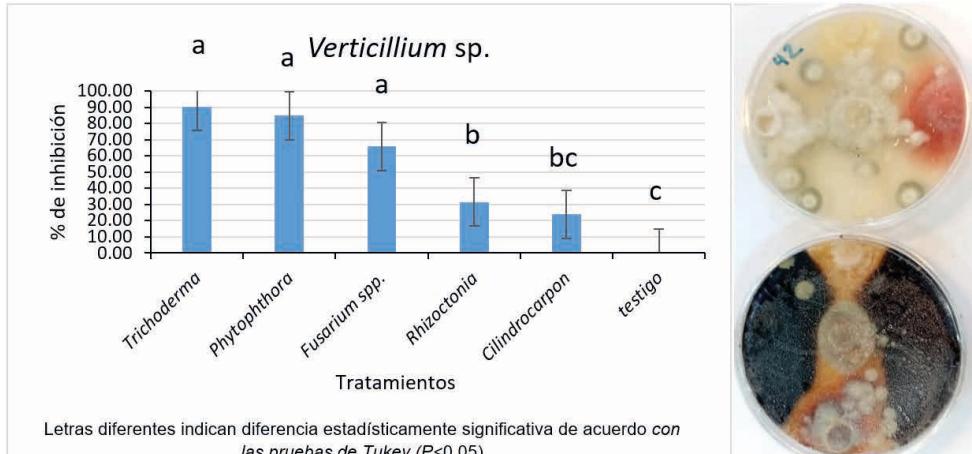


Figura 4. Efecto del antagonismo de la cepa de *Verticillium* sp. en confrontación 1:4.

Rhizoctonia sp

En las confrontaciones de *Rhizoctonia* sp., se obtuvo que los tratamientos de *Trichoderma* sp., *Phytophthora* sp. y *Fusarium* spp. tuvieron un PICR similar y fue estadísticamente significativo por sobre los demás tratamientos (Figura 5).

La inhibición que presento *Trichoderma* sp. contra *Rhizoctonia* sp. concuerda con lo reportado por Boracio (2012) quien encontró que en el cultivo de jitomate atacado por *Rhizoctonia* sp., *Trichoderma* sp. logró inhibir el crecimiento de este patógeno causante de la marchitez en el cultivo de jitomate.

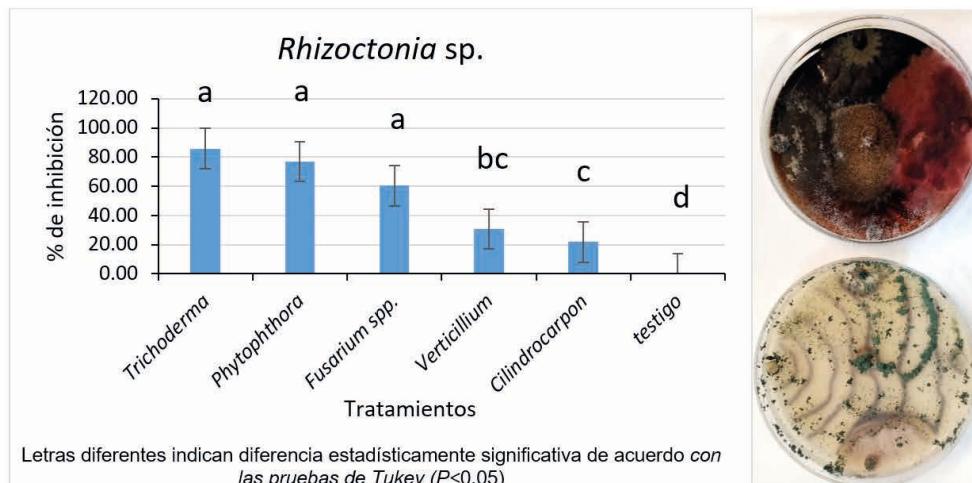


Figura 5. Efecto del antagonismo de la cepa de *Rhizoctonia* sp. en confrontación 1:4.

Cylindrocarpon sp.

En las confrontaciones con *Cylindrocarpon* sp. los tratamientos con *Trichoderma* sp. y *Phytophthora* sp. obtuvieron el mayor PICR del 100% y fue estadísticamente significativo. Lo que coincide con Riquelme (2006) que observó una inhibición por parte *Trichoderma* spp. contra *Cylindrocarpon* spp. en el cultivo de la vid (Figura 6).

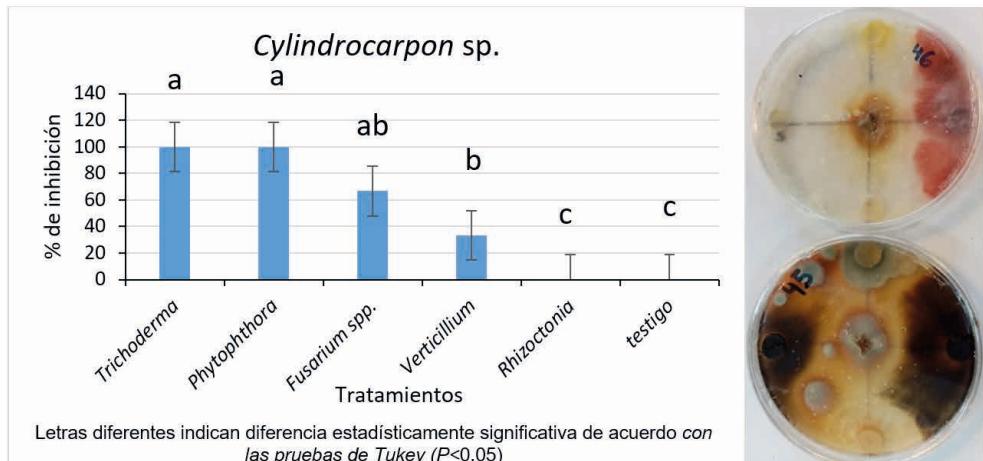


Figura 6. Efecto del antagonismo de la cepa de *Cylindrocarpon* sp. en confrontación 1:4.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron 32 especies asociadas al síntoma de la tristeza del aguacate de las cuales las más frecuentes fueron *Fusarium* spp., *Phytophthora* sp., *Trichoderma* sp., *Verticillium* sp., *Rhizoctonia* sp.

El género *Trichoderma* obtuvo mayor capacidad antagónica en las confrontaciones, teniendo una eficacia sobre los fitopatógenos que causan la marchitez del aguacatero.

Las pruebas con este microrganismo antagonista han demostrado la existencia de alternativas biológicas para el control de enfermedades de la raíz del aguacate en condiciones de laboratorio.

REFERENCIAS

Aproare S. 2009. Línea base o diagnóstico de campo. Informativo el aguacate, 2(1):5-7.

Barnett, H. L. and Hunter, B. B. 2006. Illustrated genera of imperfect fungi. 4th Edition, The American Phytopathological Society, St. Paul Minnesota.

Barocio, C. N. 2012. Evaluación de vermicomposta de gallina para el manejo de enfermedades de la raíz de jocotome. Instituto Politécnico Nacional, Jiquila, Mich., México. <http://articulo.ipn.mx/handle/123456789/12255>

Carranza, R. Y., & Morales, G. J. 2015. Aislamiento, identificación y patogenicidad de hongos asociados a la raíz de aguacate (*Persea americana* Mill.) con síntoma de tristeza en Michoacán. *VIII Congreso Mundial de la Palta*, 189-193. https://www.avocadosource.com/wac8/section_03/carranzarojasy2015.pdf

Castaño, J. 2015. *Principios básicos de hongos fitopatógenos*. Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.

Cedeño M. Á. V., Romero M., R. F., Auhing A. J. A., Mendoza L. A. F., Abasolo P. F. y Canchignia M. H. F. 2020. Caracterización de *Phytophthora* spp. y aplicación de rizobacterias con potencial en biocontrol de la enfermedad de la mazorca negra en *Theobroma cacao* variedad CCN-51. *Scientia Agropecuaria*, 11(4), 503 512. <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.04.05>

Ceja-Torres, L. F., Téliz-Ortiz, D., Osada-Kawasoe, S., & Morales-García, J. L. 2000. Etiología, Distribución e Incidencia del Cancro del Aguacate *Persea americana* Mill. en Cuatro Municipios del Estado de Michoacán, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, file:///C:/Users/Dany%20.LAPTOP-CORODOJI/Documents/MATERIAS%20DE%20INGENIERIA/6%20HONGOS%20FITOPATOGENOS/cancro%20del%20aguacatero.pdf.

Chaverri, P., Branco, F., R., Jaklitsch, W., Gazis, R., Degenkolb, T., & Samuels, G. J. 2015. *Systematics of the Trichoderma harzianum species complex and the re-identification of commercial biocontrol strains*. Mycologia. doi: 10.3852/14-147.

Ciro D., Rendón K. & Navarro R. A. 2006. Reconocimiento de la pudrición de raíces (*Phytophthora cinnamomi*) en aguacate (*Persea americana*) en Antioquia. Revista Universidad Católica de Oriente, 22:41-51.

De Hoog, G. S.; Guarro, J.; Gene, J. and Figueras, M. J. 2000. Atlas of clinical fungi, 2nd edition. entaalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht. Mycological research. 106(4):507-511. Doi:10.1017/S0953756202226167.

Duque D. S. 2011. Asfixia radicular: estrategias de manejo en Colombia. En: Memorias del VII Congreso Mundial del Aguacate. Cairns Australia. P 12-24

Espino-Cerda, Á., Morales-García, J. L., Pedraza-Santos, M. E., & Morales-Montelongo, K. L. 2017. Pruebas de antagonismo con hongos asociados al síntoma de marchitez de arboles de aguacate en Michoacán, México. *Memorias del V Congreso Latinoamericano del Aguacate*, 173-180.

Ezziyyani, M., Sid Ahmed, A., Pérez, C., Requena, M., & Candela, M. 2006. Control biológico por microorganismos antagonistas. *Revista Horticultura*, 8-15.

FAOSTAT. 2017. *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura*. Obtenido de <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>

Gil-Martínez M, López-García Á, Domínguez MT, Kjøller R, Navarro-Fernández CM, Rosendahl S, Marañón T (2021). Soil fungal diversity and functionality are driven by plant species used in phytoremediation. *Soil Biology and Biochemistry*, 153: 108102. <http://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.108102>

Jaklitsch, W.M. and Voglmayr, H. 2015. Biodiversity of Trichoderma (Hypocreaceae) in Southern Europe and Macaronesia. *Studies in Mycology*. 80:1-87. Doi.org/10.1016/j.simyco. 2014.11.001.

Martins, C. M. 1998. *Antagonismo IN VITRO de Trichoderma spp. A Verticillium dahliae KLEB.* Escuela Superior de Agricultura "Iuiz de Queiroz", Sao Paulo.

Morales, G. J. L. 2013. *foro veracruzano de fruticultura y cultivos.* Obtenido de <http://www.concitrver.com/1erForoVeracruzanoDeFruticulturayCultivos/03-12-13%20presentaciones%20Martes/Dr.%20Jos%C3%A9Luciano%20Morales%20Garc%C3%ADa/Plagas%20y%20Enfermedades%20del%20aguacate.pdf>

Morales-Garcia, J. L. 2011. Enfermedades de importancia económica en el cultivo de aguacate. *III Congreso Latinamericano del aguacate memorias.*

Riquelme, W. A. 2006. Evaluación in vitro de tres cepas del genero trichoderma spp. para el control de los hongos phopsis viticola y *Cylindrocarpon* spp. causante de pudrición de estacas de vid. Universidad de Talca, chile.

Romero-Arenas, O.; Amaro, J. L.; Damián, M. A.; Valencia de Ita, M. A.; Rivera, A. y Huerta, M. 2017. Biopreparados de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Phytophthora capsici* en el cultivo de tomate de Puebla, México. *Información Técnica Económica Agraria.* 113(4):313-324. [Doi.org/10.12706/itea.2017.019](https://doi.org/10.12706/itea.2017.019).

SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación Obtenido de: <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/michoacan/boletines/Paginas/B0342015.aspx>

Tamayo, M. P. 2007. Enfermedades del Aguacate. Ponencia presentada en el marco del Encuentro Nacional de la Cadena Productiva del Aguacate, 51-70. Obtenido de <http://132.248.9.34/hevila/Revistapolitecnica/2007/no4/2.pdf>

Vásquez L, Ríos G, Londoño M & Torres M. 2011. Caracterización biofísica y socioeconómica del sistema de producción de aguacate cv Hass en los departamentos de Antioquia, Caldas, Risaralda y Quindío. Corporación Colombiana de investigación CORPOICA. 54 p.

CAPÍTULO 8

DESENVOLVIMENTO DE *Bactrocera carambolae* EM MUNICÍPIOS DO AMAPÁ CONSIDERANDO DEMANDAS TÉRMICAS E DIETAS FRUTÍFERAS E ARTIFICIAL

Data de submissão: 14/03/2023

Data de aceite: 03/04/2023

Maria Conceição Peres Young Pessoa

Embrapa Meio Ambiente

Jaguaruána, São Paulo

<http://lattes.cnpq.br/7609273004875279>

Cristiane Ramos de Jesus

Embrapa Amapá

Macapá, Amapá

<http://lattes.cnpq.br/7128144851170964>

Rafael Mingoti

Embrapa Territorial

Campinas, São Paulo

<http://lattes.cnpq.br/3479283038505977>

Beatriz de Aguiar Giordano Paranhos

Embrapa Semiárido

Petrolina, Pernambuco

<http://lattes.cnpq.br/6606136052148527>

Ricardo Adaime da Silva

Embrapa Amapá

Macapá, Amapá

<http://lattes.cnpq.br/7470289013873915>

José Victor Torres Alves Costa

Superintendência Federal de Agricultura,

Pecuária e Abastecimento no Amapá

Macapá, Amapá

<http://lattes.cnpq.br/8127154694823949>

Maria Clara Huttembergue

Bolsista Embrapa Meio Ambiente/

Graduanda Ciências Biológicas

PUCCampinas (período: janeiro a agosto/2021)

Jaguaruána, São Paulo

<http://lattes.cnpq.br/9544619266598149>

OBSERVAÇÃO: Publicação autorizada pelo DSV/SDA-MAPA em 13/12/2022 por Despacho Processo SEI n. 21000.050281/2018-59 SEI n. 25546903/ Atividade autorizada pelo DSV/SDA-MAPA em 23/04/2019 por Ofício n. 28/2019/ CGPP/DSV/DAS/Mapa (Processo SEI n. 21000.050281/2018-59 SEI n. 7101489).

RESUMO: *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae) é uma praga quarentenária presente em algumas áreas municipais dos estados do Amapá, Pará e Roraima sob controle governamental. Informações disponíveis em literatura apresentaram tanto suas necessidades térmicas (limiar inferior de desenvolvimento e soma de graus-dias) para as fases imaturas (ovo, larva e pupa) quanto o período médio de pré-oviposição da fêmea (fpo) em carambola (*Averrhoa carambola*), goiaba (*Psidium guajava*) e em dieta artificial de criação. Zoneamentos

obtidos pela Embrapa (SEG 40.18.03.007.00.00) indicaram locais brasileiros mais propícios ao seu maior desenvolvimento, possibilitando a prospecção de mais informações sobre o inseto nessas áreas. Este trabalho estimou gerações anuais de *B. carambolae* considerando temperaturas máximas e mínimas médias mensais de dois municípios do estado do Amapá, Macapá e Oiapoque, obtidas de temperaturas disponibilizadas pelo Instituto Nacional de Meteorologia. As estimativas também consideraram as necessidades térmicas e os tempos de fpo, separadamente para carambola, goiaba e dieta artificial obtidas em literatura. Os graus-dias foram calculados utilizando a calculadora da Universidade da Califórnia (UC-IPM) em cada município, considerando as necessidades térmicas das fases imaturas. O tempo de desenvolvimento de cada fase imatura e de ovo até o aparecimento da primeira fêmea-ativa foram apresentados por geração. Sete gerações completas de *B. carambolae* foram obtidas para ambos municípios considerando fpo em condição de laboratório, enquanto nove gerações em goiaba e seis em carambola.

PALAVRAS-CHAVE: Praga quarentenária; proteção de cultivos; graus-dias; mosca-das-frutas; Brasil.

DEVELOPMENT OF *Bactrocera carambolae* ON MUNICIPALITIES OF AMAPÁ CONSIDERING THERMAL REQUIREMENTS AND FRUIT CROPS AND ARTIFICIAL DIETS

ABSTRACT: *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae) is a quarantine pest present in some municipality areas of Amapá (AP), Pará (PA), and Roraima (RR) States, Brazil, under governmental control. Information available in literature presented both its thermal requirements (lower development threshold and the sum of degree-days) for immature stages (egg, larvae and pupae) and mean period of pre-egglaying female (fpo) in star fruit (*Averrhoa carambola*), guava (*Psidium guajava*), and in artificial diet. Zoning maps obtained by Embrapa (SEG 40.18.03.007.00.00) indicated the most propitious Brazilian places to reach its greater development, enabling the prospection of further information regarding the insect in those areas. This work estimated the annual generations of *B. carambolae* considering monthly maximum and minimum averages of temperatures from two municipalities of the Amapá state, Macapá and Oiapoque, obtained from temperatures provided by National Institute of Meteorology. The estimates also considered the insect thermal requirements and its time of fpo separately for star fruit, guava, and artificial diet obtained in literature. Degree-days were calculated using the University of California calculator (UC-IPM) in each municipality, considering the thermal requirements of immature phases. Developmental time of each immature phase and from egg to the first mature female were presented by generation. Seven completed generations of *B. carambolae* were obtained for both municipalities considering fpo on artificial diet conditions, while nine generations on guava, and six on star fruit.

KEYWORDS: Quarantine pest; crop protection; degree days; fruit fly; Brazil.

1 | INTRODUÇÃO

A mosca-da-carambola *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock (Diptera: Tephritidae) é um inseto-praga polífago nativo da Ásia (Indonésia, Malásia e Tailândia)

(LEMOS et al., 2014 citando WHITE e ELSON-HARRIS, 1992). Seu primeiro registro no Brasil deu-se em 1996 no município do Oiapoque, estado do Amapá, seguido pela detecção nos estados do Pará (2007) e de Roraima (2010) (LEMOS et al., 2014). Desde a detecção do inseto no país, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) vem implementando planos emergenciais, de erradicação, contenção e monitoramento, por meio das respectivas Superintendências Federais de Agricultura (SFA) estaduais dos estados com áreas atacadas, contando com apoio de outras instituições estaduais, municipais, de pesquisa, entre outras. Essas ações, coordenadas pelo “Subprograma de Prevenção, Contenção, Supressão e Erradicação da praga *Bactrocera carambolae*” do Mapa, vêm viabilizando a identificação do comportamento de *B. carambolae* nas condições nacionais e impedindo a sua dispersão para outros estados brasileiros, sendo atualmente disciplinadas por Instrução Normativa (IN) do Mapa (IN nº 28, de 20/julho/2017).

Informações de novos hospedeiros nativos de *B. carambolae* no país, assim como sobre sua biologia em diferentes hospedeiros e em condição controlada de laboratório, monitoramento em campo, estimativa de tendência de desenvolvimento e impacto de dispersão para áreas sensíveis à fruticultura nacional e ainda não acometidas pela praga, entre outras, vêm sendo disponibilizadas, ressaltando a importância de manutenção dos programas oficiais existentes (AMARAL et al., 2021; BELO et al., 2020; CARTAXO et al., 2020; CASTILHO et al., 2019; PASINATO et al., 2019; SOUSA et al., 2019; LIMA et al., 2018; ADAIME et al., 2016; JESUS-BARROS, ADAIME e BARROS NETO, 2016; JESUS-BARROS et al., 2017, 2016; PESSOA et al., 2016a; LEMOS et al., 2014).

Hospedeiros de *B. carambolae*, tais como os frutos de carambola (*Averrhoa carambola*) e goiaba (*Psidium guajava*) são sinalizados como amplamente encontrados, ao longo do ano, nos estados brasileiros em que a praga está presente, muitas vezes distribuídos em áreas urbanas com potencial para abrigar o inseto (CASTILHO et al., 2019; JESUS-BARROS et al., 2016).

Além de fatores antrópicos, que contribuem para a dispersão da praga, fatores abióticos também interferem na maior predisposição local aos insetos-pragas, favorecendo um maior número de gerações anuais ou de descendentes (ODUM, 2004; SILVEIRA NETO et al, 1976;). Neste contexto, a influência da temperatura como fator abiótico que notadamente interfere na dinâmica populacional de insetos-pragas, seja na quantidade de gerações ou no tempo de duração e/ou disponibilidade das diferentes fases de seu ciclo de vida, vem sendo destacada (CUI et al., 2018; PAES et al., 2018; DANJUMA et al., 2014; SILVA, 2010; SÁ et al., 2009; BESERRA et al, 2009; PEREIRA e BERTI-FILHO, 2009; CORREA et al., 2008; ODUM, 2004; PESSOA, 1994; SALVADORI e PARRA, 1990; SILVEIRA NETO et al, 1976).

Desse modo, a duração do tempo de desenvolvimento (em dias) de cada fase do ciclo de vida de *B. carambolae* podem ser distintas em cada geração ocorrida em um mesmo ano, dado que sazonalidades locais específicas são capazes de se manifestar de

forma diferenciada nas demandas de sobrevivência do inseto.

A disponibilidade de dados biológicos de insetos-pragas, assim como o maior acesso a essa informação científica na Internet, vêm favorecendo o maior uso de métodos numéricos com foco na prospecção de potenciais nichos ecológicos, na elaboração de zoneamentos de áreas aptas e em estimativas de durações das principais fases de desenvolvimento do ciclo de vida de insetos-pragas, sejam pragas quarentenárias [presentes (PQP) ou ausentes (PQA)] ou exóticas de importância econômica, como também de seus potenciais agentes de controle biológico (PEREIRA et al., 2022; GARCIA et al., 2022; MINGOTI et al., 2022a,b,c,2021a,b,c; PESSOA et al., 2022,2019a,b,2016a,b,c,2014; DAMASCENO et al., 2021; JACOMO et al., 2020).

A prospecção das quantidades de gerações e de durações de fases do ciclo de vida de vários insetos-pragas vêm sendo fundamentada em informações de suas respectivas demandas térmicas, expressas por seus limiares térmicos e somas térmicas de desenvolvimento necessárias para mudanças das fases de vida (SILVA, 2010; SALVADORI e PARRA, 1990; SILVEIRA NETO et al., 1976). Desse modo, a influência de temperaturas máximas e mínimas de diferentes locais são consideradas nas avaliações de pragas exóticas agrícolas, tais como as já apresentadas para *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) (PESSOA et al, 2022), *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae) em condições climáticas dos estados de Amapá e Roraima (PESSOA et al., 2016b), de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em condições dos Estados de São Paulo, Mato Grosso do Sul e Brasil (PESSOA et al, 2019a,b ; PESSOA et al., 2016a; PESSOA, MARINHO-PRADO e SÁ, 2014, 2013), além das aplicações para o bicho do algodoeiro, *Anthonomus grandis* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae) em condições do estado de São Paulo (PESSOA, 1994).

Informações de demandas térmicas e limiares inferiores das fases imaturas de *B. carambolae* estão disponíveis em literatura (DANJUMA et al., 2014), assim como informações biológicas do inseto em carambola (*Averrhoa carambola*) e goiaba (*Psidium guajava*) (CASTILHO et al., 2019; JESUS-BARROS et al., 2017).

Este trabalho apresenta estimativas de gerações anuais de *Bactrocera carambolae* por demandas térmicas em dois cultivos-hospedeiros (carambola e goiaba) e em condição controlada de laboratório, considerando temperaturas máximas e mínimas médias mensais nos municípios de Macapá e Oiapoque no estado do Amapá.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Os dois municípios, a saber Macapá e Oiapoque, foram avaliados separadamente. Dados médios mensais de temperaturas máximas (Tmax) e mínimas (Tmin) anuais foram recuperados das seguintes estações climáticas do BDMEP/INMET: Macapá 82098 (dezembro/1967 a maio/2019) e Oiapoque A242 (setembro/2008 a dezembro/2016). Os

dados recuperados foram disponibilizados em planilha Microsoft Excel, por município, e reorganizados para viabilizar a obtenção de médias mensais das Tmin e Tmax e gráficos. As demandas térmicas [temperatura base inferior (Tb) (em °C) e as somas térmicas necessárias para mudanças de fases imaturas de vida (em graus-dias (GD) estimados em °C)] de *B. carambolae* utilizadas foram as disponibilizadas por Danjuma et al. (2014), a saber Tb de 12,4 °C, 11,2 °C e 11,6 °C e somas térmicas de 25,1 GD, 161,9 GD e 184,3 GD, ambas respectivamente para ovo, larva e pupa. Os tempos de desenvolvimentos médios da fêmea pré-ovipositora de *B. carambolae* (fpo) em carambola e goiaba aqui considerados foram os apresentados por Castilho et al. (2019) em: a) carambola: $28,88 \pm 11,90$ dias; e b) goiaba: $15,2 \pm 8,09$ dias. Para o inseto em dieta controlada de laboratório ($T = 26 \pm 1$ °C, UR= $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h) foi considerada fpo de $25,15 \pm 3,54$ dias (JESUS-BARROS et al., 2017). O programa de cálculo de graus-dias da Divisão de Agricultura e Recursos Naturais da Universidade da Califórnia-Davis (UNIVERSITY OF CALIFORNIA-DAVIS, 2022) foi utilizado, considerando cada fase do inseto separadamente. Com base nesses resultados, cada cenário municipal foi avaliado separadamente por cultivo hospedeiro e/ou laboratório, acompanhando os acumulados térmicos diários e considerando as respectivas somas térmicas das fases imaturas e fpo durante o período de 1 janeiro a 31 de dezembro. As durações (em dias) dos tempos de desenvolvimentos de ovo, larva, pupa, fase imatura total e de ovo até o aparecimento de fêmeas ativas por geração foram obtidas, sendo posteriormente determinadas suas respectivas médias e os intervalos de variações (menor e maior valores).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos por municípios avaliados são apresentados a seguir.

A1) Município de Macapá

O gráfico das Tmax e Tmin médias mensais de Macapá é apresentado a seguir (**Figura 1**), onde notam-se ligeiros decréscimos na Tmin a partir de maio até agosto. Para Tmax observam-se elevações a partir de março até o mês de outubro, quando começa a cair até fevereiro.

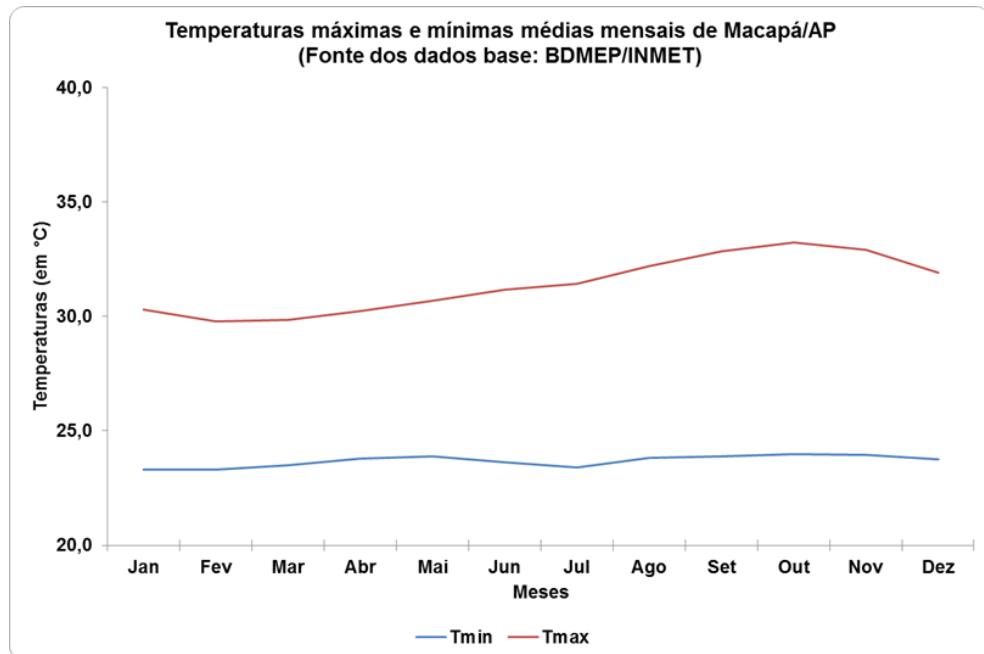


Figura 1. Temperaturas máxima e mínima médias mensais de Macapá

As variações climáticas se refletiram na duração das fases de desenvolvimento do inseto nas gerações de *B. carambolae* ocorridas durante o período de janeiro a dezembro nos cultivos de carambola, goiaba e em dieta artificial (**Tabelas 1, 2 e 3**).

No cenário de *B. carambolae* considerando fpo em carambola (**Tabela 1**) os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas foram determinados, considerando as fases completas no período de um ano, por: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,0 \pm 0,8$ dias, variando de 9 a 11 dias; e c) pupa = $11,6 \pm 0,5$ dias, variando de 11 a 12 dias. A fase imatura média foi de $23,6 \pm 1,3$ dias, variando de 22 a 25 dias, e o período de tempo médio da postura até a ocorrência da fêmea ativa de $52,8 \pm 1,2$ dias, variando de 51 a 54 dias. O tempo necessário da postura até a ocorrência da fêmea ativa neste cenário foi mais elevado do início de janeiro até o início da segunda quinzena de abril, ou seja, nas 1^a e 2^a gerações, uma vez que a elevação da Tmax a partir de abril foi notada na fase de larva da 3^a geração, influenciando no menor tempo da fase imatura e da postura até o aparecimento da fêmea ativa da 3^a geração. A nova elevação observada para a Tmax média a partir de julho foi compensada pela elevação da Tmin média registrada no mesmo período, não implicando em alterações no tempo de duração da 4^a geração quando comparada à 3^a (**Tabela 1**).

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger.	2 1-2jan	11 3-13jan	12 14-25jan	25 1-25jan	54 1jan-23fev
2 ^a ger.	2 24-25fev	11 26fev-8mar	12 9-20mar	25 24fev-20mar	54 24fev-18abr
3 ^a ger.	2 19-20abr	10 21-30abr	12 1-12mai	24 19abr-12mai	53 19abr-10jun
4 ^a ger.	2 11-12jun	10 13-22jun	12 23jun-4 jul	24 11jun-4 jul	53 11jun-2ago
5 ^a ger.	2 1-4ago	10 5-14ago	11 15-25ago	23 1-25ago	52 1ago-23set
6 ^a ger.	2 24-25set	9 26set-4out	11 5-15out	22 24set-15out	51 24set-13nov
7 ^a ger.	2 14-15nov	9 16-24nov	11 25nov-5dez	22 14nov-5dez	Fêmea pré-ovipositora com 26 dias 5-31dez

Tabela 1. Gerações de *Bactrocera carambolae* em carambola no período de um ano, em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Macapá.

Entretanto, de agosto até outubro notaram-se elevações nas Tmax, que influenciaram as fases de pupa da 5^a geração (15-25 agosto) e de larva da 6^a geração, que apresentou o menor tempo dessa fase de desenvolvimento quando comparada às ocorridas nas gerações anteriores. A nova queda de Tmax, observada a partir de novembro, não interferiu nos tempos de desenvolvimentos observados para a 7^a geração. Nesta geração manteve-se o tempo de duração de 22 dias, observado para a fase imatura da 6^a geração, porém até o final do período observado notou-se que fêmea pré-ovipositora (com 26 dias de idade) estariam presentes em desenvolvimento.

No cenário de *B. carambolae* em goiaba em condição térmica de Macapá (**Tabela 2**), dado o menor tempo de desenvolvimento da fêmea pré-ovipositora, quando comparado ao de carambola, foram observadas tendências à ocorrência de nove gerações completas, com a 10^a geração em desenvolvimento ao final do período de um ano, apresentando pupas em desenvolvimento com 75,4 GD acumulados (ou 4 dias de idade).

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1ª ger.	2 1-2jan	11 3-13jan	12 14-25jan	25 1-25jan	40 1jan-9fev
2ª ger.	2 10-11fev	11 12-22fev	12 23fev-6mar	25 10fev-6mar	40 10fev-21mar
3ª ger.	2 22-23mar	11 24-3abr	12 4-15abr	25 22mar-15abr	40 22mar-30abr
4ª ger.	2 1-2mai	10 3-12mai	12 13-24mai	24 1-24mai	39 1mai-8jun
5ª ger.	2 9-10jun	10 11-20jun	12 21jun-2jul	24 9jun-2jul	39 9jun-17jul
6ª ger.	2 18-19jul	10 20-29jul	12 30jul-10ago	24 18jul-10ago	39 18jul-25ago
7ª ger.	2 26-27ago	10 28ago-6set	11 7-17set	23 16ago-17set	38 26ago-2out
8ª ger.	2 3-4out	9 5-13out	11 14-24out	22 3-24out	37 3out-8nov
9ª ger.	2 9-10nov	9 11-19nov	11 20-30nov	22 9-30nov	37 9nov-15dez
10ª ger.	2 16-17dez	10 18-27dez	Pupa com 75,4 GD ou 4 dias 28-31dez	Incompleta	Incompleta

Tabela 2. Gerações de *Bactrocera carambolae* em goiaba no período de um ano, em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Macapá.

Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas foram os seguintes: a) ovo= $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,1 \pm 0,7$ dias, variando de 9 a 11 dias; c) pupa = $11,7 \pm 0,5$ dias, variando de 11 a 12 dias; d) fase imatura média= $23,8 \pm 1,2$ dias, variando de 22 a 25 dias; e e) postura até a ocorrência da fêmea ativa = $38,8 \pm 1,2$ dias, variando de 37 a 40 dias. As mesmas considerações sobre as Tmax e Tmin médias mensais de Macapá (**Figura 1**) foram observadas neste cenário, onde maiores períodos de tempo da postura até ocorrência de fêmea ativa deram-se da 1ª a 3ª gerações, ou seja, de janeiro a abril.

O cenário de desenvolvimento de *B. carambolae* em condição térmica de Macapá, considerando o tempo de desenvolvimento de fpo obtido em dieta artificial ($T= 26 \pm 1^{\circ}\text{C}$, UR= $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h), foi disponibilizado (**Tabela 3**). Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas foram determinados, considerando para: a) ovo= $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,1 \pm 0,6$ dias, variando de 9 a 11 dias; e c) pupa = $11,5 \pm 0,8$ dias, variando de 10 a 12 dias (**Tabela 3**). A fase imatura média foi de $23,6 \pm 1,2$ dias, variando de 22 a 25 dias, e o período de tempo médio da postura até a ocorrência da fêmea ativa de $48,7 \pm 1,3$ dias, variando de 47 a 50 dias (**Tabela 3**).

Desse modo, nesse cenário notaram-se tendências à obtenção de períodos de duração médio do tempo de postura até o aparecimento de fêmea inferiores aos registrados em carambola, que variou de 51 a 54 dias, e superiores àqueles obtidos em goiaba, que variou de 37 a 40 dias (**Tabelas 1 e 2**).

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger.	2 1-2jan	11 3-13jan	12 14-25jan	25 1-25jan	50 1jan-19fev
2 ^a ger.	2 20-21fev	11 22fev-4mar	12 5mar-16mar	25 20fev-16mar	50 20fev-10abr
3 ^a ger.	2 11-12abr	10 13-22abr	12 23abr-4mai	24 11abr-4mai	49 11abr-29mai
4 ^a ger.	2 30-31mai	10 1-10jun	12 11-22jun	24 30mai-22jun	49 30mai-17 jul
5 ^a ger.	2 18-19jul	10 20-29jul	12 30jul-10ago	24 18jul-10ago	49 18jul-4set
6 ^a ger.	2 5-6set	10 7-16set	10 17-26set	22 5-26set	47 5set-21out
7 ^a ger.	2 22-23out	9 24out-1nov	11 2-12nov	22 22out-12nov	47 22out-7dez
8 ^a ger.	2 8-9dez	10 10-19dez	11 20-30dez	23 8-30dez	Fêmea pré-ovipositora com 1 dia 31dez

Tabela 3. Gerações de *Bactrocera carambolae* em dieta artificial no período de um ano, considerando condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Macapá.

A2) Município de Oiapoque

O gráfico das Tmax e Tmin médias mensais obtidas para o município de Oiapoque, a partir dos dados bases do INMET, é apresentado a seguir (**Figura 2**). Observaram-se elevações nas Tmax e Tmin no período de março a maio, quando se inicia o decréscimo de ambas até junho. Apartir deste mês, a Tmin apresenta ligeiro decaimento, concomitantemente a elevação da Tmax, até julho, quando se observa uma mais acentuada elevação da Tmax, que persiste até o mês de outubro. Porém de agosto a setembro a Tmin permanece constante, apresentando na sequência um leve decaimento até novembro, quando volta a ter elevação inversamente ao observado para a Tmax, que decai acentuadamente. Essas variações de temperaturas e amplitudes térmicas observadas se refletem na duração das fases de desenvolvimento de *B carambolae* ocorridas nas gerações obtidas, por demandas térmicas, durante o período de janeiro a dezembro, quando considerados fpo em carambola, goiaba e dieta em condição controlada de laboratório (**Tabelas 4, 5 e 6**).

Temperaturas máximas e mínimas médias mensais do Oiapoque/AP
(Fonte dos dados base: BDMEP/INMET)

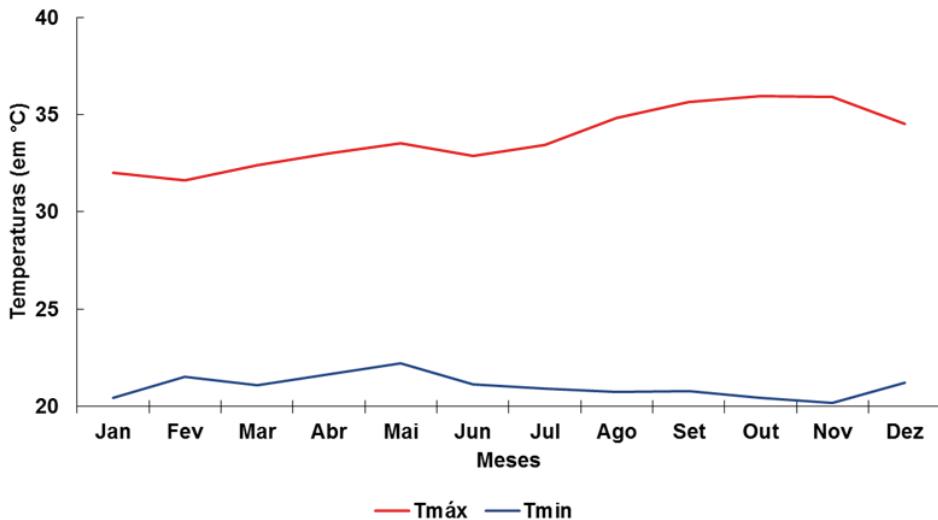


Figura 2. Temperaturas máxima e mínima médias mensais do Oiapoque

No cenário de *B. carambolae* considerando fpo em carambola em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais do Oiapoque, no período de um ano, foram estimadas seis gerações completas, tendo ao término sua sétima geração com fêmeas pré-ovipositoras em desenvolvimento (com 23 dias de idade) (**Tabela 4**). A 1^a geração foi a que demandou maior tempo da oviposição à ocorrência de fêmea ativa (55 dias). Nesta mesma fase, a grande elevação da Tmax concomitante ao decréscimo da Tmin registrada de julho a novembro (**Figura 2**) se refletiu nas menores durações observadas para as 5^a e 6^a gerações (52 dias). Os tempos médios de desenvolvimentos obtidos no período de um ano foram determinados, a saber para: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,3 \pm 0,5$ dias, variando de 10 a 11 dias; c) pupa = $11,7 \pm 0,8$ dias, variando de 11 a 13 dias; d) fase imatura = $24,0 \pm 1,2$ dias, variando de 23 a 26 dias; e f) postura até a fêmea ativa = $53,2 \pm 1,2$ dias, variando de 52 a 55 dias.

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger.	2 1-2jan	11 3-13jan	13 14-26jan	26 1-26jan	55 1jan-24fev
2 ^a ger.	2 25-26fev	11 27fev-9mar	12 10-21mar	25 25fev-21mar	54 25fev-19abr
3 ^a ger.	2 20-21abr	10 22abril-1mai	12 1-13mai	24 20abril-13mai	53 20abril-11jun
4 ^a ger.	2 12-13jun	10 14-23jun	12 24jun-5jul	24 12jun-5jul	53 12jun-3ago
5 ^a ger.	2 4-5ago	10 6-15ago	11 16-26ago	23 4-26ago	52 4ago-24set
6 ^a ger.	2 25-26set	10 27set-6out	11 7-17out	23 25set-17out	52 25set-15nov
7 ^a ger.	2 16-17nov	10 18-27nov	11 28nov-8dez	23 16nov-8dez	Fêmea pré-ovipositora com 23 dias 9-31dez

Tabela 4. Gerações de *Bactrocera carambolae* em carambola no período de um ano, considerando condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais do Oiapoque.

Quando observado os resultados do cenário de *B. carambolae* considerando fpo em goiaba, nove gerações completas foram estimadas para o período de um ano, onde ao término ainda estaria em desenvolvimento pupas (com 59,21 GD acumulados ou 3 dias de idade) da 10^a geração (**Tabela 5**). A 1^a geração também demandou maior tempo da oviposição à ocorrência de fêmea ativa (41 dias), enquanto o menor tempo foi observado para a 4^a e para as ocorrendo da 7^a a 9^a gerações (38 dias). A influência da diminuição da Tmax concomitantemente à da Tmin ocorrida de maio a junho, assim como a elevação da Tmax registrada principalmente a partir de agosto, pode ser constatada na obtenção deste menor tempo observado. De forma geral, os tempos médios de desenvolvimentos obtidos para *B. carambolae* em goiaba no período de um ano foram determinados para: a) ovo = 2,0 \pm 0,0 dias; b) larva = 10,3 \pm 0,5 dias, variando de 10 a 11 dias; c) pupa = 11,6 \pm 0,7 dias, variando de 11 a 13 dias; d) fase imatura = 23,9 \pm 1,1 dias, variando de 23 a 26 dias; e f) postura até a fêmea ativa = 38,9 \pm 1,1 dias, variando de 38 a 41 dias.

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger.	2 1-2jan	11 3-13jan	13 14-26jan	26 1-26jan	41 1jan-10fev
2 ^a ger.	2 10-11fev	11 12-23fev	12 24fev-7mar	25 10fev-7mar	40 10fev-22mar
3 ^a ger.	2 23-24mar	11 25mar-4abr	11 5abr-15abr	24 23mar-15abr	39 23mar-30abr
4 ^a ger.	2 1-2mai	10 3-12mai	11 13-23mai	23 1-23mai	38 1mai-7jun
5 ^a ger.	2 8-9jun	10 10-19jun	12 20jun-1jul	24 8jun-1jul	39 8jun-16jul
6 ^a ger.	2 17-18jul	10 19-28jul	12 29jul-9ago	24 17jul-9ago	39 17jul-24ago
7 ^a ger.	2 25-26ago	10 27ago-5set	11 6-16set	23 25ago-16set	38 26ago-1out
8 ^a ger.	2 2-3out	10 4-13out	11 14-24out	23 2-24out	38 2out-8nov
9 ^a ger.	2 9-10nov	10 11-20nov	11 21nov-1dez	23 9nov-1dez	38 9nov-16dez
10 ^a ger.	2 17-18dez	10 19-28dez	Pupa com 59,21 GD ou 3 dias 29dez-31dez	Incompleta	Incompleta

Tabela 5. Gerações de *Bactrocera carambolae* em goiaba no período de um ano, considerando condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais do Oiapoque

Por sua vez, o desenvolvimento de *B. carambolae* considerando o fpo em dieta artificial nas condições térmicas do Oiapoque indicou possibilidade de ocorrência de até sete gerações completas, com a oitava geração ainda em desenvolvimento na fase de pupa (com 156,7 GD acumulados ou 9 dias) ao término do período de um ano (**Tabela 6**). Os tempos médios de desenvolvimentos das fases avaliadas foram determinados, sendo que para: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,3 \pm 0,5$ dias, variando de 10 a 11 dias; c) pupa = $11,9 \pm 0,7$ dias, variando de 11 a 13 dias; d) fase imatura = $24,1 \pm 1,1$ dias, variando de 23 a 26 dias; e e) postura até fêmea ativa = $49,1 \pm 1,1$ dias, variando de 48 a 51 dias. A maior duração da postura até o aparecimento de fêmea ativa neste cenário foi de 51 dias (1^a geração), enquanto os menores foram observados nas 6^a e 7^a gerações (48 dias em ambas); que ocorreram no período de 6 de setembro até 10 de dezembro, onde registraram-se aumentos da Tmax e diminuição da Tmin e, posteriormente, de decréscimo de Tmax concomitantemente a elevação da Tmin.

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger.	2 1-2jan	11 3-13jan	13 13-26jan	26 1-26jan	51 1jan-20fev
2 ^a ger.	2 21-22fev	11 23fev-5mar	12 6-17mar	25 21fev-17mar	50 21fev-11abr
3 ^a ger.	2 12-13abr	10 14-23abr	12 24abr-5mai	24 12abr-5mai	49 12abr-30mai
4 ^a ger.	2 31mai-1jun	10 2-11jun	12 12-23jun	24 31mai-23jun	49 31mai-18jul
5 ^a ger.	2 19-20jul	10 21-30jul	12 31jul-11ago	24 19jul-11ago	49 19jul-5set
6 ^a ger.	2 6-7set	10 8-17set	11 17-28set	23 6-28set	48 6set-23out
7 ^a ger.	2 24-25out	10 26out-4nov	11 5-15nov	23 24out-15nov	48 24out-10dez
8 ^a ger.	2 11-12dez	10 13dez-22dez	Pupa com 156,7 GD ou 9 dias 23dez- 31dez	Incompleta	Incompleta

Tabela 6. Gerações de *Bactrocera carambolae* em dieta artificial no período de um ano, considerando condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais do Oiapoque.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Não foram observadas variações nos tempos de duração estimados para a fase de ovo de *B. carambolae*, permanecendo a fase com dois dias de duração independentemente da geração ocorrida nos cenários com fpo em frutos hospedeiros (carambola e goiaba) ou em dieta artificial, considerando as condições térmicas mensais médias dos municípios estudados (Macapá e Oiapoque) no período de janeiro a dezembro.

Embora tenham sido observadas as mesmas quantidades de gerações completas para ambos municípios nos hospedeiros e dieta artificial avaliados, a saber 6 gerações em carambola, 9 gerações em goiaba e 7 gerações em dieta artificial, as fases larval e pupal de *B. carambolae* e, consequentemente suas fases imatura completa e de postura até a ocorrência de fêmea ativa ocorridas nas gerações observadas, sofreram influência das amplitudes térmicas médias municipais conforme cenário avaliado. Desse modo, apesar do Oiapoque apresentar as temperaturas máximas médias mensais mais elevadas, quando comparado àquelas do município de Macapá, suas amplitudes térmicas mensais resultaram, de forma geral, em um desenvolvimento ligeiramente mais lento das fases citadas; destacadamente observado no resultado final considerando dieta artificial, onde ao final do período avaliado foram observadas pupas da 8^a geração em desenvolvimento no Oiapoque, enquanto neste mesmo cenário para Macapá foram observados adultos dessa

mesma geração.

Os resultados apresentados apoiam as estratégias de manejo da praga quarentenária presente *B. carambolae* em condições do estado do Amapá.

REFERÊNCIAS

- ADAIME, R. A. da; JESUS-BARROS, C. R. de; BARIANI, A.; LIMA, A. L.; CRUZ, K. R.; CARVALHO, J. P. **Novos registros de hospedeiros da mosca-da-carambola (*Bactrocera carambolae*) no Estado do Amapá**, Brasil. Macapá: Embrapa Amapá, 2016. 5 p. (Embrapa Amapá. Comunicado técnico, 146).
- AMARAL, E. J. F. do; SOUSA, M. do S. M. de; SANTOS, J. E. V. dos; COSTA, L. M.; MELEM JUNIOR, N. J.; TOLEDO, J. J. de; ADAIME, R. Effect of soil class and moisture on the depth of pupation and pupal viability of *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock (1994). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 65, n. 1 p. 1-8, 2021.
- BELO, A. P. D.; ROCHA, L. M. da S.; CORRÊA, J. M. G.; FERREIRA, R. M. dos A.; COSTA-NETO, S. V. da; SOUSA, M. do S. M. de; ADAIME, R.; LEMOS, L. do N. New host plants records of *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock, 1994 and *Anastrepha spp.* (Diptera: Tephritidae) in Brazil. **Entomological Communications**, v. 2, ec02036, 2020.
- BESERRA, E. B.; FERNANDES, C. R. M.; SILVA, S. A. de O.; SILVA, L. A. da; SANTOS, J. W. dos. Efeito da temperatura no ciclo de vida, exigências térmicas e estimativas do número de gerações anuais de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Iheringia, Sér. Zool.** v.99, n.2, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0073-47212009000200004>
- CARTAXO, P. H. de A.; LOPES, G. N.; GONZAGA, K. S.; SANTOS, J. P. de O.; CARTAXO, A. da S. B.; MAGALHÃES, J. V. A.; BATISTA, M. C.; ARAÚJO, D. B. *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock (Diptera: Tephritidae): Riscos para a Fruticultura Brasileira, **Research Society and Development**, v.9, n. 8, e780986608, 2020 (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6608>
- CASTILHO, A. P.; PASINATO, J.; SANTOS, J. E. V. dos; COSTA, A. e S. da; NAVA, D. E.; JESUS, C. R. de; ADAIME, R. Biology of *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae) on four hosts. **Revista Brasileira de Entomologia**, 63, 2019. p. 302-307.
- CORREA, R. L. B.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SOUZA, B.; CIVIDANES, F. J. Efeito de diferentes temperaturas e exigências térmicas da cochonilha-branca *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae) em cafeeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.75, n.1, 2008, p.53-58.
- CUI, J.; ZHU, S.; BI, R.; XU, W.; GAO, Y.; SHI, S. Effect of Temperature on the Development, Survival, and Fecundity of *Heliothis viresplaca* (Lepidoptera: Noctuidae), **Journal of Economic Entomology**, v.111, n.4, August 2018, pp 1940–1946.
- DAMACENO, T. G.; MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S. Uso da classificação climática Thornthwaite em estimativa de nicho ecológico de *Bactrocera dorsalis* no Brasil In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 15., 2021, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto de Zootecnia, 2021. 12 p. Evento online. CIIC 2021.
- DANJUMA, S.; THAOCHAN, N; PERMKAM, S. ; SATASOOK, C. Effect of temperature on the development and survival of immature stages of the carambola fruit fly, *Bactrocera carambolae*, and the Asian papaya fruit fly *Bactrocera papaya*, reared on guava diet. **Journal of Insect Science**, 14, issue 1, 2014. v.14, Issue 1, 2014. pp.1-16 (Article 126).

GARCIA, J. B.; MINGOTI, R.; MARINHO-PRADO, J. S.; PARANHOS, B. A. G.; PESSOA, M. C. P. Y. Zoneamento de áreas brasileiras favoráveis ao parasitoide *Tetrastichus giffardianus* e a *Bactrocera dorsalis*. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16., 2022, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agronômico, 2022. Evento online. CIIC 2022. N° 22504. p. 1-12.

JACOMO, B. DE O.; MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S. Avaliação do efeito do Threshold do Maxent em estimativas de áreas climáticas aptas a dois insetos-pragas exóticos. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 14., 2020, Campinas. **Anais...** Campinas: Embrapa Informática Agropecuária, 2020. 2 p.

JESUS-BARROS, C. R. de; MOTA JÚNIOR, L. de O.; COSTA, A. e S. da; PASINATO, J.; ADAIME, R. Fecundidade e longevidade de *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock (Diptera: Tephritidae). **Biota**, v. 30, n. 4, p. 7-13, Dec. 2017.

JESUS-BARROS, C. R. de; ADAIME, R.; BARROS NETO, E. L. de. **Ocorrência estacional e estratificação vertical de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em goiabeiras (*Psidium guajava* L.) cultivadas em sistema agroflorestal no Amapá**, Brasil. Macapá: Embrapa Amapá, 2016. 22 p (Embrapa Amapá. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 93).

JESUS-BARROS, C. R. de; SILVA, R. A. da; LIMA, A. L.; BARIANI, A.; BOTTON, M.; PARANHOS, B. A. J. Avanços nas pesquisas sobre a mosca-da-carambola no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 26; CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE ENTOMOLOGIA, 9., 2016, Maceió. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa, 2016. p. 46.

LEMOS, L. do N.; ADAIME, R.; JESUS-BARROS, C. R. de; DEUS, E. da G. de New hosts of *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae) in Brazil. **The Florida Entomologist**, Florida, v. 97, n. 2, p. 841-843, June, 2014. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/104409/1/CPAF-AP-2014-New-hosts-of-Bactrocera.pdf> Acesso: 3 jan. 2022.

LIMA, A. L.; BARIANI, A.; JESUS-BARROS, C. R. de; COSTA, J. V. T. A.; MELÉM JUNIOR, N. J.; ADAIME, A. **Impactos da possível dispersão da mosca-da-carambola para regiões exportadoras de frutas**. Macapá, AP: Embrapa Amapá, 2018. 6p. (Nota Técnica. 001).

MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; JACOMO, B. de O.; MARINHO-PRADO, J. S.; PARANHOS, B. A. G. Territorial zoning of Brazilian areas favorable to *Anastrepha curvicauda* (Diptera: Tephritidae) in papaya crop. **Journal of Agricultural Sciences Research**, v. 2, n. 3, 2022a. 10 p.

MINGOTI, R.; MARINHO-PRADO, J. S.; PESSOA, M. C. P. Y.; SIQUEIRA, C. DE. A.; PARANHOS, B. A. J.; JESUS-BARROS, C. R. de. **Zoneamentos territoriais mensais de áreas brasileiras favoráveis a um maior desenvolvimento de *Bactrocera dorsalis***. Campinas: Embrapa Territorial, 2022b. 53p. (Embrapa Territorial. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 38).

MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S.; JACOMO, B. de O.; PARANHOS, B. A. G.; SIQUEIRA, C. de A.; DAMACENO, T. G. *Ganaspis brasiliensis* como alternativa de biocontrole de *Drosophila suzukii* no Brasil.I. Zoneamento territorial de áreas favoráveis. In: TULLIO, L. (Org.). **Investigación, tecnología e innovación en ciencias agrícolas 2**, 2022c. Ponta Grossa, PR: Atena, 2022. cap. 9. p. 114-128.

MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; SIQUEIRA, C. DE A.; MARINHO-PRADO, J. S. Zoning map of favorable areas for the major occurrence of *Thaumastocoris peregrinus* in Brazil. **Journal of Agricultural Science and Technology A**, v. 11, p. 84-92, 2021a.

MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S.; SIQUEIRA, C. DE A.; RAMOS, G. G.; JACOMO, B. DE O. Zoneamentos mensais de áreas favoráveis a *Aleurocanthus woglumi* no Brasil. In: MOURA, P. H. A. (Org.). **Responsabilidade social, produção e meio ambiente nas ciências agrárias 2.** Ponta Grossa, PR: Atena, 2021b. p. 114-127. cap. 11. p. 114-127.

MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S.; SIQUEIRA, C. DE A.; RAMOS, G. G.; JACOMO, B. DE O.; DAMACENO, T. G. Áreas com favorabilidade mensal à ocorrência de Drosófila da Asa Manchada no Brasil. RIBEIRO, J. C. (Org.) **A face transdisciplinar das ciências agrárias.** Ponta Grossa, PR: Atena, 2021c. Cap. 21.

ODUM, E. P. **Fundamentos de ecologia.** 7. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2004. 927 p.

PAES, J. P. P.; LIMA, V. L. S.; PRATISSOLI, D.; CARVALHO, J. R.; PIROVANI, V. D.; BUENO, R. C. O. F. Thermal requirements, development and number of generations of *Duponchelia fovealis* (Zeller) (Lepidoptera: Crambidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 2018, 90 (2 Suppl. 1) 2447:2457. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201820160891>

PASINATO, J.; REDAELLI, R. L.; BOTTON, M.; JESUS-BARROS, C. R de Biology and fertility life table of *Bactrocera carambolae* on grape and acerola. **Revista Brasileira de Entomologia**, 63, 2019. p.217-223.

PEREIRA, C. C.; MINGOTI, R.; MARINHO-PRADO, J. S.; PARANHOS, B. A. G.; PESSOA, M. C. P. Y. Zoneamento territorial de áreas favoráveis ao melhor desenvolvimento de *Diachasmimorpha longicaudata*. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16., 2022, Campinas. **Anais...Campinas:** Instituto Agronômico, 2022. Evento online. CIIC 2022. N° 22501. p. 1-10.

PEREIRA, M. J. B.; BERTI-FILHO, E. Exigências térmicas e estimativa do número de gerações da broca-do-fruto Annona (*Cerconota anonella*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.8, p.2278-2284, 2009.

PESSOA, M. C. P. Y.; MINGOTI, R.; PARANHOS, B. A. J.; MARINHO-PRADO, J. S.; RAMOS, G. G. *Ganaspis brasiliensis* como alternativa de biocontrole de *Drosophila suzukii* no Brasil. II. Estimativas de desenvolvimento por demandas térmicas. In: TULLIO, L. (org.). **Investigación, tecnología e innovación en ciencias agrícolas.** Ponta Grossa: Atena, 2022. cap. 10, p. 129-148.

PESSOA, M. C. P. Y.; AVILA, C. J.; FLUMIGNAN, D. L. LUCHINI, G. A.; BORGHESI, R. Estimativas de fases imaturas de *Helicoverpa armigera* em Dourados e Ponta Porã em apoio ao biocontrole. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO (SICONBIOL), 16., 2019a, Londrina. **Anais... Londrina:** SEB; UEL; Embrapa, 2019. p. 454.

PESSOA, M. C. P. Y.; AVILA, C. J.; MARINHO-PRADO, J. S.; LUCHINI, G. A.; SOUZA, E. C. S.; RICHETTI, A.; FLUMIGNAN, D. L. **Nível de dano de Helicoverpa armigera em fase vegetativa de soja (safra 2016/2017) em Ponta Porã.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2019b. 24p. (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 85).

PESSOA, M. C. P. Y.; PRADO, J. S. M.; MINGOTI, R.; LOVISI FILHO, E.; SILVA, A. de S.; MOURA, M. S. B. de; SILVA FILHO, P. P. da; SA, L. A. N. de; PRADO, S. de S.; SPADOTTO, C. A.; FARIA, A. R. **Estimativas de potencial adaptação de Bactrocera carambolae Drew & Hancock (Praga Quarentenária A2) - Estudo de caso para dois perímetros irrigados do Vale do Rio São Francisco.** Campinas, SP: Embrapa Gestão territorial 2016a. 2 p. (Nota Técnica/Nota Científica).

PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S.; SÁ, L. A. N. de; MINGOTI, R.; HOLLER, W. A.; SPADOTTO, C. A. Priorização de regiões do cerrado brasileiro para o monitoramento de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 5, p. 697-701, 2016b.

PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S.; MINGOTI, R.; PRADO, S. de S.; LOVISO FILHO, E.; SA, L. A. N. de; SPADOTTO, C. A.; FARIAS, A. R. **Avaliação de potencial desenvolvimento de *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae) e de três bioagentes de controle exóticos em condições climáticas da Região Norte do Brasil - Estados do Amapá e Roraima**, Campinas: Embrapa Gestão Territorial, 2016c. 2p. (Nota Técnica/Nota Científica).

PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S.; SA, L. A. N. de. **Avaliação do potencial desenvolvimento de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultivo de soja na região de Barretos - norte do estado de São Paulo**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2014. 27p. (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 63).

PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S.; SÁ, L. A. N. de. Desenvolvimento de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em tomateiro no sudoeste de São Paulo: avaliação por exigências térmicas. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 13., 2013, Bonito. Faça bonito: use controle biológico: **anais**. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 1p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/98595/1/2013RA003.pdf>

PESSOA, M. C. P. Y. **Simulação e inteligência artificial aplicadas ao estudo da dinâmica populacional do bicudo do algodoeiro na região de Campinas, SP**. Campinas: UNICAMP, 1994. 208f. Tese Doutorado. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/209583/1/1994TS-Pessoa-Simulacao-2812.pdf>

SÁ, L. A. N. de; PESSOA, M. C. P. Y.; SAQUI, G. L.; ROCHA, A. B. O. Avaliação das constantes térmicas das fases de desenvolvimento do psílideo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* em laboratório. **Revista Agrogeoambiental**, Inconfidentes, v.1, n.2, p.31-38, 2009.

SALVADORI, J.R.; PARRA, J.R.P. Efeito da temperatura na biologia e exigências térmicas de *Pseudaletia sequax* (Lepidoptera: Noctuidae), em dieta artificial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 25, n. 12, 1990. p.1693-1700,

SILVA, D. M. da. **Efeito de altas temperaturas sobre aspectos biológicos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner** (Lepidoptera: Noctuidae) e no potencial de infecção por *Bacillus thuringiensis* Berliner. Curitiba, PR: Pós-Graduação em Ciências Biológicas/Universidade Federal do Paraná, 2010, 67p. (Dissertação de Mestrado). Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/24067/Dissertacao%20final%202010-UFPR.%20Debora%20Mello%20da%20Silva.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

SILVEIRA NETO, S; NAKANO, O.; BARBIN, D; VILLA-NOVA, N. A. **Manual de Ecologia dos Insetos**. Piracicaba, SP: Editora Agronômica Ceres Ltda., 1976. 419p.

SOUSA, M. do S. M. de; SANTOS, J. C. R. dos; JESUS, C. R. de; YOKOMIZO, G. K. I.; DEUS, E. da G. de; PEREIRA, J. F.; ADAIME, R. Goiabeiras comuns contribuem para expansão da área de distribuição de *Bactrocera carambolae* na Amazônia brasileira. In: PACHECO, J. T. R.; KAWANISHI, J. Y.; NASCIMENTO, R. do (Org.). **Meio ambiente e desenvolvimento sustentável**. Ponta Grossa: Atena, 2019. cap. 18. p. 196-206. (Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável; v. 2).

UNIVERSITY OF CALIFORNIA- DAVIS. **Statewide integrated pest management program- Weather, models, & degree-days**, California, USA: University of California (UC)-Davis/Agriculture and Natural Resources (ANR). 2012. Disponível em: <http://ipm.ucdavis.edu/WEATHER/index.html>, Acessado em: janeiro /2022.

WHITE, I. M.; ELSON-HARRIS, M. **Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics**. Melksham, UK, CAB International, Redwork Press Ltd. 1992. 601 p.

CAPÍTULO 9

ZEÓLITO NA FERTILIZAÇÃO DE CULTURAS AGRÍCOLAS DE SEQUEIRO. POLÍTICA PÚBLICA PARA O ESTADO DE TLAXCALA

Data de aceite: 03/04/2023

Andrés María Ramírez

El Colegio de Tlaxcala, A.C.

Víctor Volke Haller

Colegio de Postgraduados

Gerardo Juárez Hernández

El Colegio de Tlaxcala, A.C.

que insta os Ministérios da Economia e Agricultura, Pecuária, Desenvolvimento Rural, Pescas e Alimentação em 2016 a promover, no âmbito das suas respectivas competências, a utilização de zeólitos naturais como fertilizante.

PALAVRAS-CHAVE: Zeólito Clinoptilolite, política pública, custos dos fertilizantes, culturas básicas.

RESUMO: Os zeólitos naturais são minerais aluminossilicatos hidratados com cátions alcalinos ou alcalino-terrosos com elevada capacidade de troca catiónica e elevada capacidade de hidratação e desidratação sem modificar a sua estrutura porosa e tridimensional, com canais internos. Entre os seus campos de aplicação mais vastos encontra-se a agricultura; estas propriedades permitem-lhe tornar-se uma alternativa para melhorar a fertilização na agricultura de sequeiro. No México, embora a sua utilização remonte aos anos 80, é ainda um insumo desconhecido na agricultura de sequeiro. A importância deste insumo pode ser vista na recente nota sobre o aumento de 75% de fertilizantes importados. O objectivo é tomar o veredicto da Comissão Permanente do Congresso da União H.

RESUMEN: Las zeolitas naturales son minerales aluminosilicatos hidratados con cationes alcalinos o alcalinotérreos con alta capacidad de intercambio catiónico y de hidratación y deshidratación sin modificar su estructura porosa, tridimensional, con canales internos. Entre sus campos más amplios de aplicación está la agricultura; esas propiedades le permiten constituirse en una alternativa para mejorar la fertilización en agricultura de condiciones de temporal. En México, aunque su uso se remonta a la década de 1980, es aún un insumo desconocido en la agricultura de secano. La importancia del insumo puede verse en la nota reciente acerca del incremento en 75% de los fertilizantes importados¹. El objetivo es retomar el veredicto de la Comisión Permanente del H. Congreso de la Unión

¹ <https://www.jornada.com.mx/notas/2023/01/23/economia/se-disparo-75-el-valor-de-importaciones-de-fertilizantes->

que exhorta a las Secretarías de Economía y la de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación en 2016 a promover, en el ámbito de sus respectivas facultades, el uso de zeolitas naturales como fertilizante.

PALABRAS CLAVE: Zeolita Clinoptilolita, política pública, costos del fertilizantes, cultivos básicos.

1 | INTRODUÇÃO

Os zeólitos são minerais com um elevado potencial de utilização, por exemplo, na agricultura. De acordo com Méndez-Argüeyo e Lira-Saldivar (2019²) e Flores et al. (2007) citados por María e Hernández (2021), são uma família de minerais aluminossilicatos com cavidades de dimensões moleculares de 3 a 10 Å (angstroms) que contêm iões (Na⁺, K⁺ e Ca²⁺, entre outros) e moléculas de água com liberdade de movimento, o que favorece a sua capacidade de troca iônica (principalmente cátions) de forma reversível, sem alterar a sua estrutura. Segundo De Gracia et al. (1996) e Ming e Allen, (2001), estes minerais caracterizam-se por: a) baixa densidade cristalina (1,91 a 2,30 Mg/m³), b) alta capacidade de troca catiónica (200 a 300 cmol/kg), c) grande facilidade de hidratação e desidratação, já que o volume poroso representa 18 a 50% do volume total e, d) baixa resistência à abrasão e à pulverização. Entre os diferentes tipos de zeólitos, clinoptilolite e modernite distinguem-se pela sua utilidade na agricultura (Nus & Brauen, 1991; Huang & Petrovic, 1994[citado por Álvarez, 2018]; Ming & Allen, 2001).

A eficiência dos fertilizantes é um dos aspectos geralmente ignorados quando se desenvolvem e divulgam recomendações de fertilização das culturas. A eficiência da utilização do azoto foi estimada em 33 %³. Uma das principais utilizações dos zeólitos na agricultura é tornar os fertilizantes azotados mais eficientes, devido à sua propriedade química de reter o amónio na sua estrutura. Os zeólitos actuam fixando nutrientes, fornecidos através de fertilizantes para evitar a lixiviação; os nutrientes fixos serão lentamente libertados e imediatamente absorvidos pelas raízes (Wulandari et al., 2019). Uma das possíveis razões para a baixa utilização de zeólitos na fertilização das culturas é a escassa informação sobre a sua gestão, tal como a sugestão de misturá-los directamente com fertilizantes, especialmente ureia, antes de serem espalhados ou aplicados em terras agrícolas. Contudo, também pode actuar com outros macro fertilizantes, tais como o fósforo. Segundo Zheng et al. (2019), numa investigação que estudou o zeólito e o seu efeito no fósforo do arroz irrigado, o zeólito permitiu a aplicação de quantidades mais baixas de fertilizante P em campos de arroz, com benefícios para o fornecimento de P remanescente e atenuação da poluição devido ao excesso de P, redução do uso de água, melhoria da absorção de P e do rendimento de grãos no arroz, e redução dos riscos ambientais (p.1).

-en-2022/

2 <https://www.scielo.org.mx/pdf/era/v6n17/2007-901X-era-6-17-191.pdf>

3 <https://www.smcsmx.org/simposio-nitrogeno-2020>

A melhoria da eficiência da utilização de fertilizantes fosfatados é relevante tendo em conta que, segundo Cordell et al. (2009), a agricultura moderna depende do fósforo derivado da rocha fosfática, que é um recurso não renovável cujas reservas globais actuais podem ser esgotadas em 50-100 anos, e que, como declarado por Fageria et al. (2017), o fósforo obtido de rocha fosfática é um recurso natural não renovável, e a sua utilização judiciosa e eficiente na agricultura é essencial para melhorar o rendimento das culturas, reduzir os custos de produção e refrear a poluição ambiental.

Li et al. (2013), utilizaram zeólito carregado com azoto e potássio no cultivo de couve em condições de estufa; verificaram que os teores de N e K nos solos foram mantidos a um nível elevado (mais de 15% N no solo e mais de 250 ppm K no solo⁴); Os resultados indicam que o NK-Z tem um grande potencial como fertilizante de libertação lenta que reduz a poluição através da prevenção da lixiviação para as águas subterrâneas, ou seja, pode manter os níveis necessários de N e K durante mais tempo do que o fertilizante comum, ao mesmo tempo que fornece uma reserva de nutrientes de longa duração (pp. 1977-1981).

Também, de acordo com Aainaa et al. (2018) devido às suas cargas alcalinas e negativas, o zeólito poderia melhorar a disponibilidade de P no solo através da atenuação do pH do solo, reduzindo o Al permutável e a acidez do solo, levando a uma menor fixação de P por oxidróxidos metálicos.

Soca e Daza (2015) referem que os tamanhos de clinoptilolite de 3 e 5 mm aplicados no arroz e no milho, reduziram a volatilização do azoto amoniacial em 50% favorecendo a retenção de NH4+ e outros catiões que entram nos fertilizantes; este tamanho de zeólito corresponde ao de ureia e P como superfosfato triplo de cálcio (ver⁵, e⁶). Na investigação sobre o milho, Ahmed et al. (2010) descobriram que a utilização de fertilizantes inorgânicos misturados com zeólito aumentou significativamente a absorção de N, P e K, e a sua eficiência de utilização em folhas, caule e raízes; concluem que a utilização de zeólito poderia ser benéfica no que diz respeito à retenção de nutrientes no solo e à sua eficiência de utilização.

O zeólito também pode ser utilizado para remover metais pesados. Shaheen et al. (2012) estudaram o comportamento de sorção dos zeóliticos naturais (clinoptilolite) em relação ao cádmio (Cd), cobre (Cu), níquel (Ni), chumbo (Pb) e zinco (Zn) para considerar a sua aplicação nas águas residuais industriais; o zeólito sorveu cerca de 32, 75, 28, 28, 99 e 59% das concentrações metálicas de Cd, Cu, Ni, Pb e Zn, respectivamente (ou seja: Pb > Cu > Zn > Cd > Ni) (p.362).

Maria e Volke (2020) relataram os resultados dos rendimentos médios do trigo com fertilizante azotado (NF), zeólito e micorriza em nove locais em Guanajuato e nove em Tlaxcala no ciclo Outono-Inverno 2010; avaliaram 25% zeólito+75%NF com e sem

4 <https://www.agroecologiatornos.com/como-realizar-un-buen-analisis-del-suelo-para-el-cultivo/>

5 <https://www.fertinova.mx/sites/default/files/fichas%20t%C3%A9cnicas.pdf>

6 <https://www.fertinova.mx/sites/default/files/ficha%20superfosfato%20de%20calcio%20triple.pdf>

micorriza (Tr2⁷ , Tr1, respectivamente) contra 0% zeólito+100%NF com e sem micorriza (Tr4, Tr3). Em termos de rendimento de grãos, em ambas as fases Tr3 e Tr4 superaram Tr1 e Tr2, mas sem diferença estatística; os valores mais elevados de eficiência do uso de azoto (Todeschini et al.,2015) referem que a Eficiência do Uso de Azoto (NUE), (rácio entre o rendimento de grãos e a quantidade de nutrientes fornecidos pelo fertilizante) foi mais elevado para Tr1 e Tr2 em ambas as fases; o rácio benefício-custo (BCR) também em ambas as fases foi melhor para Tr3 e Tr1, mas sem diferença estatística.

2 | POLÍTICAS PÚBLICAS

É comum que os termos “política pública” e “política governamental” sejam utilizados indistintamente, atribuindo-lhes o mesmo significado. Por conseguinte, é importante estabelecer um conceito nesta investigação que não deixe espaço para uma interpretação diferente quando se menciona a política pública.

Lange et al. (2013) declaram que:

A dimensão política engloba o aspecto processual da governação e refere-se aos actores e processos de interacção inerentes a um modo de governação. A dimensão política denota o aspecto estrutural da governação, entendida como as “regras do jogo” institucionais que moldam as interacções dos actores. A dimensão política engloba o conteúdo da governação; refere-se à formulação e implementação de políticas e, portanto, aos objectivos e instrumentos da orientação política para os resultados (p.409).

Esta última definição é a que diz respeito à presente investigação, ou seja, política como acções com objectivos e metas claros, que fazem parte das estratégias governamentais corporizadas em programas (Patiño, 2020). Um exemplo bem conhecido deste tipo de política pública é o sistema INIFAP-Colegio de Postgraduados Milpa intercalada con árboles frutales (MIAF), que o Governo Federal implementou no México através do programa Sembrando Vida (Anónimo, 2020).

Em 2023, os programas de apoio ao mundo rural, pela SADER⁸ , são

- Produção para o Bem-Estar.
- Fertilizantes para o Bem-Estar.
- Preços garantidos.
- Bienpesca.
- Abastecimento rural.
- Abastecimento de leite social.

A segunda das anteriores é onde se situa a política pública sobre a relevância do

7 Tr=Tratamiento

8 <https://www.gob.mx/agricultura/acciones-y-programas/programas-de-la-secretaria-de-agricultura-y-desarrollo-rural-2023>

uso de zeólito e micorriza.

Políticas públicas para o meio rural em Tlaxcala

Para os Produtores Agrícolas

- Programa Para Apoiar e Promover o Sector Agrícola “Paisa”.
- Projecto de Formação Fitossanitária e Campanha “Campo Limpo”.
- Projecto de Recolha de Água Para Uso Agrícola e Conservação do Solo.
- Projecto de Reflorestação do Estado.
- Projecto de Repovoamento e Utilização Sustentável de Maguey No Estado de Tlaxcala.
- Projecto Para a Renovação e Manutenção de Maquinaria Para Uso Agrícola.

No primeiro dos programas acima mencionados, é indicado:

Neste programa, os produtores agrícolas registados são apoiados para adquirir os seus insumos agrícolas básicos (sementes, fertilizantes, produtos de gestão orgânica e agroquímicos) com um subsídio parcial que lhes permite reduzir os seus custos de produção, ou seja, uma percentagem é absorvida pelo Governo do Estado e a outra parte é coberta pelo produtor⁹.

Vale a pena notar que as políticas de apoio do governo Tlaxcala ao mundo rural se referem geralmente à utilização de insumos da chamada Revolução Verde (fertilizantes inorgânicos, sementes melhoradas, herbicidas, insecticidas), sem prestar muita atenção às características socioeconómicas dos agricultores e produtores, embora estes, involuntariamente, tendam a favorecer esta filosofia (ver ¹⁰).

Não foi encontrada nenhuma política pública que considere a utilização de zeólito em combinação com fertilizantes inorgânicos, a fim de reduzir a contaminação do solo e da água pelo lixiviado destes fertilizantes e que também ajudaria a reduzir o custo de cultivo da componente fertilizante, que representa 20% do custo total de produção do cultivo de milho em Tlaxcala¹¹.

Os trabalhos visavam a adopção de uma política pública em que a Terceira Comissão de Finanças e Crédito Público, Agricultura e Desenvolvimento, Comunicações e Obras Públicas no Congresso da União, em Maio de 2016 (Congresso da União, 2016), exorta o Ministério da Agricultura, Pecuária, Pescas, Desenvolvimento Rural e Alimentação (hoje Ministério da Agricultura e Desenvolvimento Rural), Ministério do Ambiente, Ministério da Economia e Ministério da Saúde, a promover a utilização de fertilizantes compostos de zeólito e a sugerir-lo para o estado de Tlaxcala.

9 <http://siatlaxcala.gob.mx/index.php/agricultura-paisa>

10 <https://www.lajornadadeorient.com.mx/tlaxcala/sistema-producto-maiz-pide-al-gobierno-apoyo-para-productores-con-insumos-y-financiamiento-para-sembrar/>

11 <https://docplayer.es/storage/26/7851366/1626892476/uuBTldflr6Ktktl1cHQw2Q/7851366.pdf>

3 I USO POTENCIAL DO ZEÓLITO NA AGRICULTURA EM TLAXCALA

Maria e Volke (2021) relatam os resultados da aplicação de zeolite com e sem micorrizas em dois locais do Altiplano mexicano (Tlaxcala e Puebla) e nas suas conclusões, relativamente ao Tlaxcala, onde se verificou uma condição de seca durante todo o ciclo do milho, observam que:

No sítio de Colonia Francisco Villa, a substituição de 12,5, 25,0 e 37,5% de N por zeolite clinoptilolite em todos os fertilizantes deu os maiores rendimentos, mas os maiores rendimentos líquidos foram obtidos com 25,0% de substituição, seguidos de 37,5 e 12,5% de substituição, com uma taxa total de rendimento do capital de 0,57-0,62 para a substituição de 25,0%. Mycorrhiza diminuiu o rendimento com todos os fertilizantes (p.13).

Em Tlaxcala, nos anos 2018, 2019, 2020 as culturas de milho, cevada e trigo ocuparam em média 85,6% da área total semeada, 56,0% correspondente ao milho em grão. Nesse período, a superfície média plantada com milho em condições de pluviosidade era de 112.142 hectares, representando 86,5%, e sob irrigação, os restantes 13,5%.

A fertilização tradicional do milho é normalmente 92-46-00 (N-P-K), o que equivale a 92 kg de N e 46 kg de P por hectare, o que é alcançado com 200 kg de ureia e 100 kg de superfosfato triplo de cálcio; isto implica que pelo menos 22.428 toneladas de ureia são utilizadas para fertilizar os 112.142 hectares em condições de pluviosidade. A zeólita poderia substituir 5.607 toneladas de ureia em Tlaxcala, que teria de ser substituída pela mesma quantidade por zeólita clinoptilolite, como a de Tehuacán, Puebla, a fim de reduzir os custos.

Além disso, deve considerar-se que, para além de reduzir os custos dos fertilizantes e a contaminação das águas subterrâneas, a substituição da ureia por zeolite clinoptilolite permite reduzir a elevada dependência do México deste fertilizante azotado, que, segundo CEDRSSA (2019), a ureia é o fertilizante com o maior volume e valor das importações totais de fertilizantes (48,7 e 45,9%, respectivamente).

Finalmente, deveria ser realizada mais investigação de campo sobre a fertilização das culturas em Tlaxcala, dado que a informação de base indica um teor muito baixo de matéria orgânica no solo (menos de 1,5%), presença de erosão (favorecida pelo desaparecimento das fronteiras nas parcelas), baixa disponibilidade de gado para gerir o estrume, etc., o que pode limitar a resposta aos insumos agroecológicos, tais como micorrizas, zeólitos, compostos, etc.

4 I CONCLUSÕES

O benefício da utilização de zeólito em combinação com fertilizantes na produção de culturas foi documentado, melhorando a eficiência da utilização de fertilizantes azotados e reduzindo assim a lixiviação de nitratos que contaminam as águas subterrâneas. Em Tlaxcala, há provas de tal efeito com 25% da substituição de fertilizante azotado por zeólito

clinoptilolite no cultivo de milho de sequeiro. Embora tenham sido identificadas políticas públicas destinadas a apoiar os produtores rurais, estas ainda têm uma visão produtivista do tipo Revolução Verde e concentram-se em fertilizantes químicos, sementes híbridas e pesticidas para o milho. A zeólito é um mineral aluminossilicato que é abundante no México e pode ajudar a reduzir os volumes importados, principalmente de ureia, o fertilizante mais utilizado na produção de culturas. Com base na política pública que a Terceira Comissão de Finanças e Crédito Público, Agricultura e Desenvolvimento, Comunicações e Obras Públicas submeteu a um ponto de acordo no Congresso da União em Maio de 2016 (Congreso de la Unión, 2016), no qual instou o Ministério da Agricultura, Pecuária, Pescas, Desenvolvimento Rural e Alimentação (hoje o Ministério da Agricultura, Pecuária, Pescas, Desenvolvimento Rural e Alimentação), o Ministério da Agricultura, Pecuária, Pescas, Desenvolvimento Rural e Alimentação (hoje o Ministério da Agricultura, Pecuária, Pescas, Desenvolvimento Rural e Alimentação), Desarrollo Rural y Alimentación (actualmente Ministério da Agricultura e Desenvolvimento Rural), Ministério do Ambiente, Ministério da Economia e Ministério da Saúde para promover a utilização de fertilizantes à base de zeólito, sugere-se que esta seja assumida como uma política pública local no estado de Tlaxcala para permitir a utilização de zeólito clinoptilolite na fertilização de milho de sequeiro.

AGRADECIMENTOS

Para o Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agrícolas y Pecuarias; à La Tercera Comisión de Hacienda y Crédito Público, Agricultura y Fomento, Comunicaciones y Obras Públicas, del Congreso de la Unión.

REFERÊNCIAS

Aainaa, H.N., Ahmed, O.H., Ab Majid, N.M. (2018). Effects of clinoptilolite zeolite on phosphorus dynamics and yield of Zea Mays L. cultivated on an acid soil. *PLoS ONE* 13 (9), 1-19, e0204401.

Ahmed O. H, Sumalatha G. & Muhamad A. M. N. (2010). Nitrogen, potassium and phosphorus uptake and use efficiency, *International Journal of the Physical Sciences*, 5(15), 2393-2401

Anónimo. (2020). Sader recomienda Sistema Milpa Intercalado con Árboles Frutales (MIAF) para incrementar ingresos a productores y mitiga cambio climático. [en línea]. Disponible en <https://www.voragine.com.mx/2020/08/25/recomienda-sader-sistema-milpa-intercalado-con-arboles-frutales-miaf-para-incrementar-ingresos-a-productores-y-mitiga-cambio-climatico/> [fecha de revisión 25 de agosto de 2020].

CEDRSSA, Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Sociedad Alimentaria. (2019). Fertilizantes. Notas sobre fertilizantes. Cámara de Diputados CDMX.

Congreso de la Unión. (2016). Dictamen a la proposición con punto de acuerdo por el que se exhorta a la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca, Desarrollo Rural y Alimentación, Secretaría de Medio Ambiente, Secretaría de Economía y Secretaría de Salud, a promover el uso de fertilizantes orgánicos que se compongan de zeolita. LXIII Legislatura. CDMX.

Cordell,D., Drangert, J-O., White, S. (2009). The story of phosphorus: global food security and food for thought, *Global Environmental Change*, 19 (2) 292–305

De Gracia de LRG, Núñez E R, Etchevers B JD, Bell M. (1996). Respuesta de Lolium perenne a dos rocas fosfóricas con tres tamaños de partícula adicionadas de azufre o zeolita en un andosol, *Agrociencia*, 30 (4), 459-468

Fageria, N. K., He, Z. L., & Baligar, V. C. (2017). Phosphorus Management in Crop Production, CRC Press Taylor & Francis Group

Flores MA, Galvis SA, Hernández MTM, De León G F y Payán ZF. (2007). Efecto de la adición de zeolita (clinoptilolita y Mordenita) en un andosol sobre el ambiente químico edáfico y el crecimiento de avena, *INTERCIENCIA INCI*, 32(10), 692-696

Lange P, Driessen PPJ, Sauer A, Bornemann B, Burger P (2013). Governing Towards Sustainability – Conceptualizing modes of governance, *Journal of Environmental Policy & Planning*, 15:3, 403-425.

Li J, Wee Ch, and Sohn B. (2013). Effect of Ammonium- and Potassium-Loaded Zeolite on Kale (*Brassica alboglabra*) Growth and Soil Property, *American Journal of Plant Sciences*, 4(10), 1976-1982

María R A, Volke H V. (2020). Fertilizante nitrogenado adicionado con zeolita para mejorar la eficiencia de uso del nitrógeno. In: Saynes-Santillán V., Fernández-Luqueño F., Ortiz-Monasterio-Rosas J. I. (Eds.). Uso Eficiente de Nitrógeno en la Agricultura. México. pp. 93-97

María R A. y Volke H V. (2021). Respuesta de maíz de temporal a zeolita, fuentes de fertilizantes nitrogenados y micorriza. Enviado a la Revista *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*

Méndez-Argüello, B. & Lira-Saldivar, R. H. (2019). Uso potencial de la zeolita en la agricultura sustentable de la nueva revolución verde, *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 6(17), 191-193

Ming DW, & Allen ER. (2001). Use of natural zeolites in agronomy, horticulture and environmental soil remediation, *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 45(1), 619–654.

Nus JL, & Brauen E. (1991). Clinoptilolitic Zeolite as an Amendment for Establishment of Creeping Bentgrass on Sandy Media. *HortScience* 26(2),117-119

Patiño C J. (2020). Diagnóstico de las prácticas organizativas para la implementación del Programa Cholula Pueblo Mágico, integrado por dos unidades municipales. Tesis Maestría. El Colegio de Tlaxcala, A.C. México.

Shaheen SM, Derbalah A S, and Moghanm F S. (2012). Removal of Heavy Metals from Aqueous Solution by Zeolite in Competitive Sorption System. *International Journal of Environmental Science and Development*, 3(4), 362-367

Soca M, y Daza T M C. (2015). La zeolita y su efecto en la eficiencia del nitrógeno en arroz y maíz. *Ciencia Agropecuaria* (23), 60-64

Todeschini ME, Simionato M A, Maciel TD, Bornhofen E, Finatto T, Storck L. y Benin G. (2016). Nitrogen use efficiency in modern wheat cultivars. *Bragantia*, 75 (3), 1-11

Wulandari R, Hanum H. and Hasanah Y. (2019). The effect of nitrogen fertilizer, zeolite and fresh straw to increase total-N, cation exchange capacity (CEC) of rice crop, Conf. Ser.: *Earth Environ. Sci.* (260), 3-6

Zheng J, Chen T, Chi D, Xia G, Wu Q, Liu G, Chen W, Meng W, Chen Y. and Siddique K H M. (2019). Influence of Zeolite and Phosphorus Applications on Water Use, P Uptake and Yield in Rice under Different Irrigation Managements, *Agronomy*, 9 (537), 1-16

CAPÍTULO 10

DESENVOLVIMENTO DE *Bactrocera carambolae* POR DEMANDAS TÉRMICAS EM DIFERENTES ALIMENTOS EM CONDIÇÕES TÉRMICAS DO PARÁ E RORAIMA

Data de submissão: 14/03/2023

Data de aceite: 03/04/2023

Maria Conceição Peres Young Pessoa

Embrapa Meio Ambiente

Jaguaruána, São Paulo

<http://lattes.cnpq.br/7609273004875279>

Ricardo Adaime da Silva

Embrapa Amapá

Macapá, Amapá

<http://lattes.cnpq.br/7470289013873915>

Rafael Mingoti

Embrapa Territorial

Campinas, São Paulo

<http://lattes.cnpq.br/3479283038505977>

Beatriz de Aguiar Giordano Paranhos

Embrapa Semiárido

Petrolina, Pernambuco

<http://lattes.cnpq.br/6606136052148527>

Maria Clara Hutterbergue

Bolsista Embrapa Meio Ambiente/

Graduanda Ciências Biológicas

PUCCampinas (período: janeiro a

agosto/2021)

Jaguaruána, São Paulo

<http://lattes.cnpq.br/9544619266598149>

Cristiane Ramos de Jesus

Embrapa Amapá

Macapá, Amapá

<http://lattes.cnpq.br/7128144851170964>

José Victor Torres Alves Costa

Superintendência Federal de Agricultura,

Pecuária e Abastecimento no Amapá

Macapá, Amapá

<http://lattes.cnpq.br/8127154694823949>

OBSERVAÇÃO: Publicação autorizada pelo DSV/SDA-MAPA em 13/12/2022 por Despacho Processo SEI n. 21000.050281/2018-59 SEI n. 25546903/ Atividade autorizada pelo DSV/SDA-MAPA em 23/04/2019 por Ofício n. 28/2019/ CGPP/DSV/DAS/Mapa (Processo SEI n. 21000.050281/2018-59 SEI n. 7101489).

RESUMO: *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae) é uma praga quarentenária presente (PQP) sob controle governamental brasileiro em áreas dos estados do Amapá (AP), Pará (PA) e Roraima (RR). As necessidades térmicas (limiar inferior de desenvolvimento e soma de graus-dias) de suas fases imaturas (ovo, larva e pupa) e os períodos médios de pré-oviposição da fêmea (fpo) em carambola (*Averrhoa carambola*), goiaba (*Psidium guajava*) e em dieta artificial para a criação em laboratório estão disponíveis em literatura. Zoneamentos disponibilizados pela Embrapa indicaram municípios brasileiros mais favoráveis

à maior ocorrência de *B. carambolae*. Este trabalho estimou o desenvolvimento de *B. carambolae* considerando suas demandas térmicas em quatro municípios do PA e dois de RR indicados com aptidão. As durações dos períodos de ovo, larva, pupa, imaturo completo e ovo à fêmea ovipositora (ou fêmea ativa) foram obtidos considerando as exigências térmicas do inseto e a fpo, separadamente por alimento (carambola, dieta artificial ou goiaba) em cada cenário municipal avaliado. Os graus-dias acumulados por fase, durante o período de um ano (janeiro a dezembro), foram calculados em calculadora da Universidade da Califórnia (UC-Davis), levando em conta as temperaturas máximas e mínimas médias mensais municipais, as quais foram obtidas a partir das temperaturas disponibilizadas pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Sete gerações completas de *B. carambolae* foram observadas em dieta artificial, seis predominantemente em carambola e nove em goiaba. Os tempos médios de desenvolvimento das fases de vida consideradas foram determinados e as fases imaturas foram avaliadas (ANOVA, testes F e Tukey a 10% de significância), identificando diferenciações nas durações médias nos municípios estudados. Os resultados obtidos apoiam as políticas públicas de manejo local de *B. carambolae*.

PALAVRAS-CHAVE: Praga quarentenária; proteção de cultivos; graus-dias; Tephritidae; mosca-das-frutas.

DEVELOPMENT OF *Bactrocera carambolae* ESTIMATED BY THERMAL REQUIREMENTS IN DIFFERENT FOODS UNDER PARÁ AND RORAIMA THERMIC CONDITIONS

ABSTRACT: *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae) is a present quarantine pest (PQP) under Brazilian governmental control in areas of Amapá (AP), Pará (PA), and Roraima (RR) States. Thermal requirements (lower development threshold and the sum of degree-days) of its immature stages (egg, larvae and pupae) and the mean period of pre-egglaying female (fpo) in star fruit (*Averrhoa carambola*), guava (*Psidium guajava*), and artificial diet for laboratorial rearing are available in literature. Zoning maps provided by Embrapa indicated Brazilian municipalities most propitious to greater occurrence of *B. carambolae*. This work estimated the development of *Bactrocera carambolae* considering its thermal requirements in four municipalities of PA and in two of RR indicated as propitious. The duration of egg, larval, pupa, complete immature, and of egg to egglaying female (or active female) were obtained considering the insect thermal requirements, separately by food (star fruit, artificial diet, and guava), in each evaluated municipal scenarios. The degree-days accumulated by each phase, during a one-year period (January to December), were calculated using the University of California calculator (UC Davis), taking into account the monthly maximum and minimum averages of temperatures of each municipality, which were obtained from temperatures provided by National Institute of Meteorology (INMET). Seven completed generations of *B. carambolae* were observed in artificial diet, six, predominantly, in star fruit, and nine in guava. The average development times of the considered life stages were determined and the immature stages were evaluated (ANOVA, F and Tukey tests at 10% of significance), identifying differences in the mean durations in the studied municipalities. The obtained results support the public policies for the local management of *B. carambolae*.

KEYWORDS: Quarantine pest; crop protection; degree days; Tephritidae; fruit fly.

1 | INTRODUÇÃO

A mosca-da-carambolae *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock (Diptera: Tephritidae) é um inseto-praga polífago nativo da Ásia (CASTILHO et al., 2019; PASINATO et al., 2019; SOUSA et al., 2019; JESUS-BARROS et al., 2017; LEMOS et al., 2014). Seu primeiro registro no Brasil deu-se em 1996 no município do Oiapoque/AP), seguido pela detecção nos estados do Pará (2007) e Roraima (2008) (LEMOS et al., 2014). Desde a detecção do inseto no país, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) vem implementando planos emergenciais, de erradicação, contenção e monitoramento, por meio das respectivas Superintendências Federais de Agricultura (SFA) nos estados, contando com apoio de instituições federais, estaduais, municipais, de ensino e de pesquisa, entre outras. Essas ações, coordenadas pelo “Subprograma de Prevenção, Contenção, Supressão e Erradicação da praga *Bactrocera carambolae*” do Mapa, vêm viabilizando a identificação do comportamento do inseto nas condições nacionais e impedindo a sua dispersão para outros estados brasileiros, sendo atualmente disciplinadas por Instrução Normativa (IN) do Mapa (IN nº 28, de 20/julho/2017).

Informações de novos hospedeiros nativos de *B. carambolae* no país, assim como sobre sua biologia em diferentes hospedeiros e em condição controlada de laboratório, monitoramento em campo, estimativa de tendência de desenvolvimento e impacto de dispersão para áreas sensíveis à fruticultura nacional e ainda não acometidas pela praga, entre outras, vem sendo disponibilizadas, ressaltando a importância de manutenção dos programas oficiais existentes (AMARAL et al., 2021; BELO et al., 2020; CASTILHO et al., 2019; PASINATO et al., 2019; SOUSA et al., 2019; LIMA et al., 2018; JESUS-BARROS et al., 2017, 2016a,b; JESUS-BARROS, ADAIME e BARROS NETO, 2016; PESSOA et al., 2016; LEMOS et al., 2014).

Cultivos hospedeiros de *B. carambolae*, tais como carambola (*Averrhoa carambolae*) e goiaba (*Psidium guajava*) são sinalizados como amplamente encontrados ao longo do ano nos estados brasileiros em que a praga está presente, muitas vezes distribuídos em áreas urbanas com potencial para abrigar o inseto ao longo do ano (CASTILHO et al., 2019; JESUS-BARROS et al., 2016).

Além de fatores antrópicos, que contribuem para a dispersão da praga, fatores abióticos também interferem na maior predisposição local ao inseto, favorecendo um maior número de gerações anuais ou de descendentes. Do mesmo modo, a duração do tempo de desenvolvimento (em dias) de cada fase do ciclo de vida de *B. carambolae* podem ser distintas em cada geração ocorrida em um mesmo ano, dado que sazonalidades locais específicas podem se manifestar de forma diferenciada nas demandas de sobrevivência do inseto. Neste contexto, a influência da temperatura como fator abiótico que notadamente interfere na dinâmica populacional de insetos-praga, seja na quantidade de gerações ou no tempo de duração e/ou disponibilidade das diferentes fases de seu ciclo de vida, vem sendo

destacada (BESERRA et al., 2009; PEREIRA e BERTI-FILHO, 2009; PESSOA, 2019, 2016, 2014, 1994; SALVADORI e PARRA, 1990; SILVEIRA NETO et al., 1976).

A disponibilidade de dados biológicos de insetos-pragas, assim como o maior acesso a essas informações científicas na Internet, vêm favorecendo o maior uso de métodos numéricos com foco na prospecção de potenciais nichos ecológicos, na elaboração de zoneamentos de áreas aptas e em estimativas de durações das principais fases de desenvolvimento do ciclo de vida de insetos-pragas, sejam pragas quarentenárias [presentes (PQP) ou ausentes (PQA)] ou exóticas de importância econômica. Entre as aplicações desses métodos citam-se as que utilizaram técnicas de sensoriamento remoto e de modelagem matemática e computacional (MINGOTI et al., 2021a; JACOMO et al., 2020), incluindo com foco em pragas exóticas de importância econômica e quarentenárias que vem sendo viabilizadas pelo Projeto DefesaInsetos (Embrapa SEG 40.18.03.007.00.00) (DAMASCENO et al., 2021; JACOMO et al., 2021, 2020; MINGOTI et al., 2022, 2021b,c).

A estimativa do número de gerações e de durações de fases do ciclo de vida de vários insetos-pragas vêm sendo fundamentada em informações de suas respectivas demandas térmicas, fundamentadas nos limiares térmicos de desenvolvimento e somas térmicas necessárias para mudanças de fase de vida. Desse modo, a influência de temperaturas máximas e mínimas de diferentes locais são consideradas nas avaliações. Como aplicações, citam-se as já apresentadas para *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae) em condições climáticas dos estados do Amapá e de Roraima (PESSOA et al., 2016a), de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em condições dos estados de São Paulo (PESSOA, MARINHO-PRADO e SÁ, 2014, 2013) e do Mato Grosso do Sul (PESSOA et al., 2019a,b) e do bicudo do algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) em condições do estado de São Paulo (PESSOA, 1994).

Informações de demandas térmicas e limiares inferiores das fases imaturas de *B. carambolae* estão disponíveis em literatura (DANJUMA et al., 2014), assim como informações biológicas do inseto em carambola (*A. carambola*), goiaba (*P. guajava*) e dieta artificial (CASTILHO et al., 2019; JESUS-BARROS et al., 2017; BARIANI et al., 2016). Este trabalho apresenta estimativas de gerações anuais de *B. carambolae* por demandas térmicas em dois cultivos-hospedeiros (carambola e goiaba) e em dieta artificial, considerando temperaturas máximas e mínimas médias mensais de seis municípios, a saber Macapá/AP, Oiapoque/AP, Breves/PA, Monte Alegre/PA, Boa Vista/RR e Caracaraí/RR.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Municípios pertencentes aos estados do Pará (PA) e Roraima (RR), a saber, Breves/PA (BRV), Marabá//PA (MRB), Monte Alegre/PA (MTA), Tucuruí/PA (TCR), Boa Vista/RR (BVT) e Caracaraí/RR (CRC) foram avaliados separadamente; sendo Monte Alegre/PA

considerado “zona tampão”. Dados médios mensais de temperaturas máximas (Tmax) e mínimas (Tmin) anuais foram recuperados das seguintes estações climáticas do BDMEP/INMET: Boa Vista 82024 (período disponível: jan/1961 a mai/2019), Caracaraí 82042 (período disponível: set/1978 a mai/2019), Breves 82188 (período disponível: out/1968 a mai/2019), Marabá a240 (período disponível: jan/2000 a dez/2019), Monte Alegre 82181 (período disponível: abr/1974 a mai/2019) e Tucuruí a229 (período disponível: jan/2000 a dez/2019). Os dados recuperados foram disponibilizados em planilha Microsoft Excel, por município, e reorganizados para viabilizar as obtenções de dados médios mensais das Tmin e Tmax e gráficos. As demandas térmicas [temperatura base inferior (Tb), em °C, e as somas térmicas necessárias para mudanças de fases imaturas de vida em graus-dias, GD, estimados em °C] de *B. carambolae* utilizadas foram as disponibilizadas por Danjuma et al. (2014), a saber: Tb de 12,4°C, 11,2°C e 11,6°C e somas térmicas de 25,1 GD, 161,9 GD e 184,3 GD, ambas respectivamente para ovo, larva e pupa. Os tempos de desenvolvimentos médios de pré-oviposição para a fêmea de *B. carambolae* (fpo) em carambola e goiaba aqui considerados foram os apresentados por Castilho et al. (2019) em: a) carambola: $28,88 \pm 11,90$ dias; e b) goiaba: $15,2 \pm 8,09$ dias. Para o inseto em dieta artificial ($T = 26 \pm 1^\circ\text{C}$, UR= $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h) foi considerada fpo de $25,15 \pm 3,54$ dias (JESUS-BARROS et al., 2017). A dieta artificial considerada foi relatada por Bariani et al. (2016). O programa de cálculo de graus-dias da Divisão de Agricultura e Recursos Naturais da Universidade da Califórnia-Davis (UNIVERSITY OF CALIFORNIA-DAVIS, 2022) foi utilizado, considerando cada fase do inseto separadamente. Com base nesses resultados, cada cenário municipal foi avaliado separadamente por cultivo hospedeiro e/ou dieta artificial, acompanhando os acumulados térmicos diários e considerando as respectivas somas térmicas das fases imaturas e fpo durante o período de 1 janeiro a 31 de dezembro. As durações (em dias) dos tempos de desenvolvimentos das fases de ovo, larva, pupa, imatura total e de ovo até o aparecimento de fêmeas ativas, por geração, foram obtidas, sendo posteriormente determinadas as respectivas estatísticas básicas. Análise de variância (ANOVA) e testes F e de Tukey, ao nível de significância de 10%, foram realizados para comparação de médias das fases imaturas estimadas para os municípios avaliados, por alimento (carambola, dieta artificial e goiaba), em software R v. 4.2.1 em ambiente RStudio v. 1.0.153.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos por municípios dos estados avaliados são apresentados a seguir.

A) Estado do Pará

Para o estado do Pará foram avaliados os municípios de Breves, Marabá, Monte Alegre e Tucuruí, sendo Monte Alegre considerado como “zona tampão” para *B. carambolae* pelo programa de erradicação em curso na região.

A1) Município de Breves

O gráfico obtido para as Tmax e Tmin médias mensais de Breves/PA é apresentado a seguir (**Figura 1**). As Tmax variaram de 31,1 a 33,3 °C durante o ano, apresentando média anual de $32,3 \pm 0,8$ °C. As maiores Tmax ocorreram de agosto a outubro, com variação de 33,1 a 33,3 °C, enquanto as menores no período de janeiro a abril, com variação de 31,1 a 31,5 °C. Quando considerados os valores das Tmin do município, estes variaram de 22,0 a 22,7 °C durante o ano, com média anual de $22,3 \pm 0,2$ °C. Os maiores valores de Tmin predominaram de abril a maio, variando de 22,6 a 22,7 °C, enquanto o menor valor foi registrado de agosto a setembro (22,0 °C). As maiores amplitudes térmicas mensais ocorreram no período de agosto a outubro, variando de 11,1 a 11,2 °C, e as menores foram registradas de fevereiro a abril (8,8 a 8,9 °C); com média de amplitude térmica anual de $10,0 \pm 0,9$ °C.

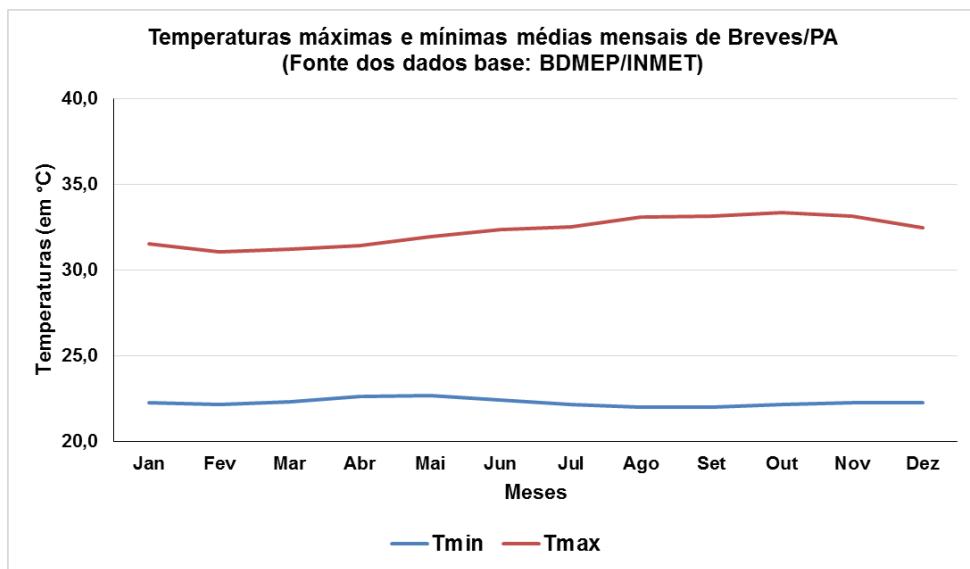


Figura 1. Temperaturas máxima e mínima médias mensais de Breves/ PA

No cenário de desenvolvimento de *B. carambolae* com fpo em carambola e em condição térmica do município de Breves/PA, durante o período de um ano, foi estimada a ocorrência de até seis gerações completas, com a 7^a geração apresentando adultos (com fpo ainda em desenvolvimento, com 22 dias) no final do período avaliado (**Tabela 1**). Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas foram determinados, considerando as fases completas observadas no período avaliado, por: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,3 \pm 0,5$ dias, variando de 10 a 11 dias; e c) pupa = $11,9 \pm 0,4$ dias, variando de 11 a 12 dias. A fase imatura média foi de $24,1 \pm 0,7$ dias, variando de 23 a 25 dias, e o período de

tempo médio da postura até a ocorrência da fêmea ativa de $53,2 \pm 0,8$ dias, variando de 52 a 54 dias. O tempo necessário da postura até a ocorrência da fêmea ativa neste cenário foi mais elevado do início de janeiro até o início da segunda quinzena de abril, ou seja, nas 1^a e 2^a gerações. No período de janeiro a abril foram observadas as menores amplitudes térmicas do município de Breves, que variaram de 8,8 a 9,2 °C (em média $8,9 \pm 0,2$ °C), implicando no maior tempo de desenvolvimento demandados pelas fases larvais das 1^a e 2^a gerações (11 dias) ocorridas nesse mesmo período.

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger	02 01-02jan	11 03-13jan	12 14-25jan	25 01-25jan	54 01jan-23fev
2 ^a ger	02 24-25fev	11 26fev-08mar	12 09-20mar	25 24fev-20mar	54 24fev-18abr
3 ^a ger	02 19-20abr	10 21-30abr	12 01-12mai	24 19abril-12mai	53 19abril-10jun
4 ^a ger	02 11-12jun	10 13-22jun	12 23jun-04 jul	24 11jun-04 jul	53 11jun-02ago
5 ^a ger	02 03-04ago	10 05-14ago	12 15-26ago	24 03-26ago	53 03ago-24set
6 ^a ger	02 25-26set	10 27set-06out	11 07-17out	23 25set-17out	52 25set-15nov
7 ^a ger	20 16-17nov	10 18-27nov	12 28nov-09dez	24 16nov-09dez	Fêmea fpo com 22 dias 16nov-31dez

Tabela 1. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando carambola em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Breves/PA.

Considerando o cenário de desenvolvimento de *B. carambolae* com fpo em goiaba em condição térmica de Breves/PA, durante o período de um ano, foram estimadas nove gerações completas, estando a 10^a geração, com pupas em início de desenvolvimento (com 4,76 GD) ao final do período avaliado (**Tabela 2**). Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas foram determinados, considerando as fases completas no período avaliado, por: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,3 \pm 0,5$ dias, variando de 10 a 11 dias; e c) pupa = $11,8 \pm 0,4$ dias, variando de 11 a 12 dias. A fase imatura média foi de $24,1 \pm 0,8$ dias, variando de 23 a 25 dias, e o período de tempo médio da postura até a ocorrência da fêmea ativa de $39,1 \pm 0,8$ dias, variando de 38 a 40 dias. O tempo necessário da postura até a ocorrência da fêmea ativa neste cenário foi mais elevado do início de janeiro até o início da segunda quinzena de abril, ou seja, nas 1^a, 2^a e 3^a gerações de *B. carambolae* em goiaba. Desse modo, as mesmas observações sobre o efeito da amplitude térmica

no maior desenvolvimento da fase larval de *B. carambolae*, já citadas anteriormente para o período de janeiro a abril, novamente se refletem neste cenário. O maior número de gerações da praga em goiaba de janeiro a abril dá-se em função do menor tempo de fpo de *B. carambolae* em goiaba, quando comparado ao demandado para fpo em carambola.

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger	02 01-02jan	11 03-13jan	12 14-25jan	25 01-25jan	40 01jan-10fev
2 ^a ger	02 11-12fev	11 13-23fev	12 24fev-07mar	25 11fev-07mar	40 11fev-22mar
3 ^a ger	02 23-24mar	11 25mar-04abr	12 05abr-16abr	25 23mar-16abr	40 23mar-01mai
4 ^a ger	02 02-03mai	10 04-13mai	12 14-25mai	24 02-25mai	39 02mai-09jun
5 ^a ger	02 10-11jun	10 12-21jun	12 22jun-03 jul	24 10jun-03 jul	39 10jun-18 jul
6 ^a ger	02 19-20jul	10 21-30jul	12 31jul-11ago	24 19jul-11ago	39 19jul-26ago
7 ^a ger	02 27-28ago	10 29ago-07set	12 08-19set	24 27ago-19set	39 27ago-04out
8 ^a ger	02 05-06out	10 07-16out	11 17-27out	23 05-27out	38 05out-11nov
9 ^a ger	02 12-13nov	10 14-23nov	11 24nov-04dez	23 12nov-04dez	38 12nov-19dez
10 ^a ger	02 20-21dez	10 22-31dez	Pupa incompleta (com 4,76 GD ou início do desenv.) 29-31dez	Incompleta	Incompleta

Tabela 2. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando goiaba em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Breves/PA.

No cenário de *B. carambolae* com fpo em dieta artificial e em condição térmica de Breves/PA, no período de um ano, foram estimadas sete gerações completas, estando a 8^a geração com pupas em desenvolvimento (com 162,56 GD ou 10 dias) ao final do período avaliado (**Tabela 3**).

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1ª ger	2 01-02jan	11 03-13jan	12 14-25jan	25 01-25jan	50 01jan-19fev
2ª ger	2 20-21fev	11 22fev-04mar	12 05-16mar	25 20fev-16mar	50 20fev-10abr
3ª ger	2 11-12abr	10 13-22abr	12 23abr-04mai	24 11abr-04mai	49 11abr-29mai
4ª ger	2 30-31mai	10 01-10jun	12 11-22jun	24 30mai-22jun	49 30mai-17 jul
5ª ger	2 18-19jul	10 20-29jul	12 30jul-10ago	24 18jul-10ago	49 18jul-04set
6ª ger	2 05-06set	10 07-16set	11 17-27set	23 05-27set	48 05set-22out
7ª ger	2 23-24out	10 25out-03nov	11 04-14nov	23 23out-14nov	48 23out-09dez
8ª ger	2 10-11dez	10 12-21dez	Pupa incompleta (com 162,56 GD ou 10 dias) 21-31dez	Incompleta	Incompleta

Tabela 3. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando dieta artificial em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Breves/PA.

Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas foram determinados, considerando as fases completas no período de um ano, por: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,3 \pm 0,5$ dias, variando de 10 a 11 dias; e c) pupa = $11,7 \pm 0,5$ dias, variando de 11 a 12 dias. A fase imatura média foi de $24,0 \pm 0,8$ dias, variando de 23 a 25 dias, e o período de tempo médio da postura até a ocorrência da fêmea ativa de $49,0 \pm 0,8$ dias, variando de 48 a 50 dias. O tempo necessário da postura até a ocorrência da fêmea ativa neste cenário foi mais elevado do início de janeiro até o início da segunda quinzena de março, ou seja, nas 1ª e 2ª gerações. Estes foram influenciados pela fpo em dieta artificial como também pelas amplitudes registradas no período de janeiro a março. Nele foram observadas baixas amplitudes térmicas em Breves, que variaram de 8,9 a 9,2 °C (em média $9,0 \pm 0,2$ °C), como também de valores de Tmax em média de $31,3 \pm 0,2$ °C, variando de 22,2 a 22,3 °C, e de Tmin em média de $22,3 \pm 0,1$ °C, variando de 31,1 a 31,5 °C, que implicaram no maior tempo de desenvolvimento demandados pelas fases larvais das 1ª e 2ª gerações (11 dias); ocorridas nesse mesmo período.

A2) Município de Marabá

As Tmax e Tmin médias mensais de Marabá/PA foram determinadas e apresentadas (**Figura 2**). Observou-se que durante o ano as Tmax variaram de 32,9 a 36,3 °C, apresentando média anual de $34,3 \pm 1,3$ °C. As maiores Tmax ocorreram de agosto a

outubro, com variação de 36,0 a 36,3 °C, enquanto as menores no período de janeiro a março, com variação de 32,9 a 33,4°C. Quando considerados os valores das Tmin do município, estes variaram de 17,9 a 21,9 °C durante o ano, com média anual de $20,6 \pm 1,3$ °C. Os maiores valores de Tmin predominaram de março a maio, variando de 21,6 a 21,9 °C, enquanto os menores valores foram registrados de junho a agosto, variando de 17,9 a 19,8 °C. As maiores amplitudes térmicas mensais ocorreram no período de julho a setembro, variando de 16,0 a 17,8 °C, enquanto as menores foram registradas de março a abril (11,4 a 11,6 °C), com média de amplitude térmica anual de $13,7 \pm 2,1$ °C.

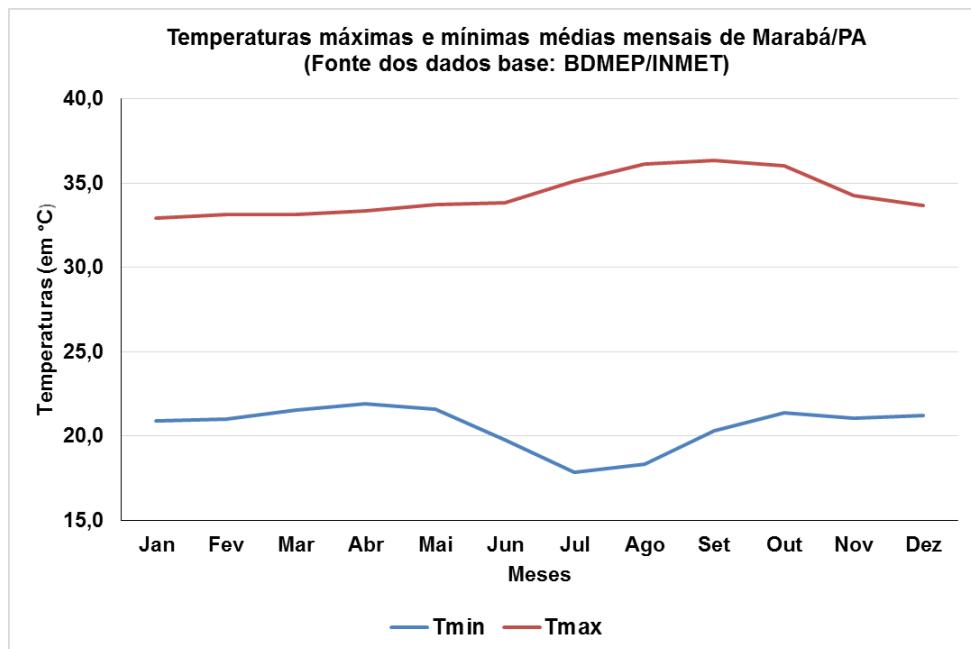


Figura 2. Temperaturas máxima e mínima médias mensais de Marabá/ PA

No cenário de desenvolvimento de *B. carambolae* com fpo em carambola e em condição térmica de Marabá/PA, durante o período de um ano, foi estimada a ocorrência de até seis gerações completas, com a 7^a geração apresentando adultos (com fpo em desenvolvimento, com 24 dias) no final do período avaliado (**Tabela 4**). Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas foram determinados, considerando as fases completas observadas no período avaliado, por: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,1 \pm 0,7$ dias, variando de 09 a 11 dias; e c) pupa = $11,7 \pm 0,5$ dias, variando de 11 a 12 dias. A fase imatura média foi de $23,9 \pm 1,1$ dias, variando de 22 a 25 dias, e o período de tempo médio da postura até a ocorrência da fêmea ativa de $52,8 \pm 1,2$ dias, variando de 51 a 54 dias. O tempo da postura até a ocorrência da fêmea ativa em carambola nas condições térmicas de Marabá foi mais elevado nas 1^a e 4^a gerações (ambas com 54 dias), ocorridos

respectivamente de 01 janeiro a 23 de fevereiro e de 09 junho a 01 agosto. Ambas gerações apresentaram os maiores tempos de durações das fases larvais (ambas com 11 dias). A 1^a geração foi influenciada pelos maiores valores de Tmin, que no período de janeiro a fevereiro registraram, em média, $21,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Nesse mesmo período observou-se a amplitude térmica média de $12,1 \pm 0,04^{\circ}\text{C}$. Por sua vez, a ocorrência da 4^a geração de junho a agosto sofreu influência de maiores amplitudes térmicas, de $16,4 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, variando de 14,1 a 17,8 °C, que foram influenciadas pelos menores valores de Tmin ($18,7 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, variando de 17,9 a 19,8 °C) e pelos maiores valores de Tmax ($35,0 \pm 1,1^{\circ}\text{C}$, variando de 33,8 a 36,1 °C). O menor tempo de desenvolvimento larval (9 dias) concomitantemente ao menor tempo de desenvolvimento pupal (11 dias), que resultaram no menor tempo de desenvolvimento da fase imatura de *B. carambolae*, ocorreram na 6^a geração (22 dias). Esta geração deu-se de 24 de setembro a 13 novembro, onde foi observada amplitude térmica de $14,6 \pm 1,4^{\circ}\text{C}$, portanto acima da média anual de $13,7 \pm 2,2^{\circ}\text{C}$, concomitantemente às Tmax de $35,5 \pm 1,1^{\circ}\text{C}$, que variaram de 34,3 a 36,3°C no período, também mais elevada que a média anual, de $34,3 \pm 1,3^{\circ}\text{C}$.

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger	2 01-02jan	11 03-13jan	12 14-25jan	25 01-25jan	54 01jan-23fev
2 ^a ger	2 24-25fev	10 26fev-07mar	12 08-19mar	24 24fev-19mar	53 24fev-17abr
3 ^a ger	2 18-19abr	10 20-29abr	11 30-10mai	23 18abril-10mai	52 18abr-08jun
4 ^a ger	2 09-10jun	11 11-21jun	12 22jun-03jul	25 09jun-03jul	54 09jun-01ago
5 ^a ger	2 02-03ago	10 04-13ago	12 14-25ago	24 02-25ago	53 02ago-22set
6 ^a ger	2 23-24set	09 25set-04out	11 05-15out	22 23set-15out	51 23set-13nov
7 ^a ger	2 14-15nov	10 16-25nov	12 26nov-07dez	24 14nov-07dez	Fêmea fpo com 24 dias 16nov-31dez

Tabela 4. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando carambola em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Marabá/PA.

Considerando o cenário de desenvolvimento de *B. carambolae* com fpo em goiaba em condição térmica de Marabá/PA, durante o período de um ano, foram estimadas nove gerações completas, estando a 10^a geração, com pupas em desenvolvimento (com 53,15 GD ou 3 dias de idade) ao final do período avaliado (Tabela 5).

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger	2 01-02jan	11 03-13jan	12 14-25jan	25 01-25jan	40 01jan-10fev
2 ^a ger	2 11-12fev	10 13-22fev	12 23fev-06mar	24 11fev-06mar	39 11fev-21mar
3 ^a ger	2 22-23mar	10 24mar-02abr	12 03abril-14abril	24 22mar-14abril	39 22mar-29abril
4 ^a ger	2 30abril-01mai	10 02-11mai	11 12-22mai	23 30abril-22mai	38 30abril-06jun
5 ^a ger	2 07-08jun	11 09-19jun	12 20jun-01jul	25 07jun-01jul	40 07jun-16jul
6 ^a ger	2 17-18jul	11 19-29jul	12 30jul-10ago	25 17jul-10ago	40 17ul-25ago
7 ^a ger	2 26-27ago	10 28ago-06set	11 07-17set	23 26ago-17set	38 26ago-02out
8 ^a ger	2 03-04out	09 05-13out	11 14-24out	22 03-24out	37 03out-08nov
9 ^a ger	2 09-10nov	10 11-20nov	11 21nov-01dez	23 09nov-01dez	38 09nov-16dez
10 ^a ger	2 17-18dez	10 19-28dez	Pupa incompleta (com 53,15 GD ou 3 dias) 29-31dez	Incompleta	Incompleta

Tabela 5. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando goiaba em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Marabá/PA.

Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas, considerando as fases completas no período avaliado, foram determinados: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = 10,2 $\pm 0,6$ dias, variando de 09 a 11 dias; e c) pupa = $11,6 \pm 0,5$ dias, variando de 11 a 12 dias. A fase imatura média foi de $23,8 \pm 1,1$ dias, variando de 22 a 25 dias, e o período de tempo médio da postura até a ocorrência da fêmea ativa de $38,8 \pm 1,1$ dias, variando de 37 a 40 dias. O tempo necessário da postura até a ocorrência da fêmea ativa neste cenário foi mais elevado (40 dias) nas 1^a, 5^a e 6^a gerações, ocorridas de 01 de janeiro a 10 de fevereiro, de 07 de junho a 16 de julho e de 17 de julho a 25 de agosto, respectivamente. Essa maior elevação deu-se em decorrência dos maiores tempos de desenvolvimentos larval (11 dias) e pupal (12 dias) observados nessas gerações, os quais foram favorecidos pela maior T_{min} e menor T_{max}, em relação às respectivas médias anuais, ocorridas de jan a fev, como também pelas maiores amplitudes térmicas registradas de junho a julho ($15,7 \pm 2,3$ °C) e de julho a agosto ($17,5 \pm 0,4$ °C), quando comparadas à amplitude térmica média anual ($13,7 \pm 2,2$ °C).

No cenário de *B. carambolae* com fpo em dieta artificial e em condição térmica do

município de Marabá/PA, no período de um ano, foram estimadas sete gerações completas, estando a 8^a geração com pupas em desenvolvimento (com 179,95 GD ou 12 dias) ao final do período avaliado (**Tabela 6**).

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger	2 01-02jan	11 03-13jan	12 14-25jan	25 01-25jan	50 01jan-19fev
2 ^a ger	2 20-21fev	10 22fev-03mar	12 04-15mar	24 20fev-15mar	49 20fev-09abr
3 ^a ger	2 10-11abr	10 12-21abr	11 22abr-02mai	23 10abr-02mai	48 10abr-27mai
4 ^a ger	2 28-29mai	10 30mai-08jun	13 09-21jun	25 28mai-21jun	50 28mai-16jul
5 ^a ger	2 17-18jul	11 19-29jul	12 30jul-10ago	25 17jul-10ago	50 17jul-04set
6 ^a ger	2 05-06set	10 07-16set	10 17-26set	22 05-26set	47 05set-21out
7 ^a ger	2 22-23out	09 24out-01nov	12 02-13nov	23 22out-13nov	48 22out-08dez
8 ^a ger	2 09-10dez	09 11-20dez	Pupa incompleta (com 179,95 GD ou 12 dias) 21-31dez	Incompleta	Incompleta

Tabela 6. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando dieta artificial em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Marabá/PA.

Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas foram determinados, considerando as fases completas no período de um ano, por: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,0 \pm 0,8$ dias, variando de 09 a 11 dias; e c) pupa = $11,7 \pm 1,0$ dias, variando de 10 a 13 dias. A fase imatura média foi de $23,9 \pm 1,2$ dias, variando de 22 a 25 dias, e o período de tempo médio da postura até a ocorrência da fêmea ativa de $48,9 \pm 1,2$ dias, variando de 47 a 50 dias. A duração da postura até a ocorrência da fêmea ativa neste cenário foi mais elevada nas 1^a, 4^a e 5^a gerações, ocorridas nos períodos de 01 janeiro a 19 fevereiro, 28 maio a 16 julho e de 18 julho a 04 setembro, respectivamente. Portanto, a 1^a geração foi influenciada pelos maiores valores de T_{min} registrados de janeiro a fevereiro ($21,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$) e pela amplitude térmica de $12,1 \pm 0,04^\circ\text{C}$, no mesmo período. Os maiores tempos de desenvolvimentos larval e pupal das 4^a e 5^a gerações foram influenciados pelas suas menores T_{min} e maiores amplitudes térmicas, a saber de $19,7 \pm 1,9^\circ\text{C}$ e $14,5 \pm 2,6^\circ\text{C}$ para a 4^a geração e de $18,8 \pm 1,3^\circ\text{C}$ e $17,0 \pm 0,9^\circ\text{C}$ para a 5^a geração, quando comparadas as médias anuais registradas por essas mesmas variáveis, $20,6 \pm 1,3^\circ\text{C}$ e

$13,7 \pm 2,2$ °C, respectivamente. O menor tempo de desenvolvimento da postura até o aparecimento de fêmeas ativas deu-se na 6^a geração (47 dias), ocorrida de 05 setembro a 21 outubro e, portanto, influenciada pelos maiores valores de Tmax e de amplitude térmica desse período, que foi de $36,2 \pm 0,2$ °C e de $15,3 \pm 1,0$ °C, respectivamente, quando comparados às médias anuais dessas mesmas variáveis ($34,3 \pm 1,3$ °C e $13,7 \pm 2,2$ °C, respectivamente). A menor duração da fase larval, de 9 dias, foi registrada tanto na 7^a geração quanto na 8^a, sendo que na primeira ocorreu em outubro, onde ocorreram Tmax (36,0 °C) e Tmin (21,4 °C) superiores as médias anuais já relatadas para ambas, enquanto na segunda, em dezembro, ocorreu amplitude térmica (12,5 °C) inferior à anual, já relatada.

A3) Município de Monte Alegre

As Tmax e Tmin médias mensais de Monte Alegre/PA foram determinadas e apresentadas (**Figura 3**). As Tmax variaram de 30,1 a 32,9 °C, apresentando média anual de $31,2 \pm 1,1$ °C. As maiores Tmax ocorreram de setembro a novembro, variando de 32,5 a 32,9 °C, enquanto as menores Tmax foram registradas no período de fevereiro a abril, todas com 30,1 °C. As Tmin de Monte Alegre variaram de 22,7 a 23,6 °C durante o ano, com média anual de $23,1 \pm 0,3$ °C. O menor valor de Tmin ocorreu em fevereiro (22,7 °C), enquanto o maior valor foi observado de outubro a novembro (ambos com 23,6 °C). As maiores amplitudes térmicas mensais ocorreram no período de setembro a novembro, variando de 9,0 a 9,3 °C, enquanto as menores foram registradas de fevereiro a junho, variando de 7,2 a 7,5 °C, com média de amplitude térmica anual de $8,1 \pm 0,8$ °C.

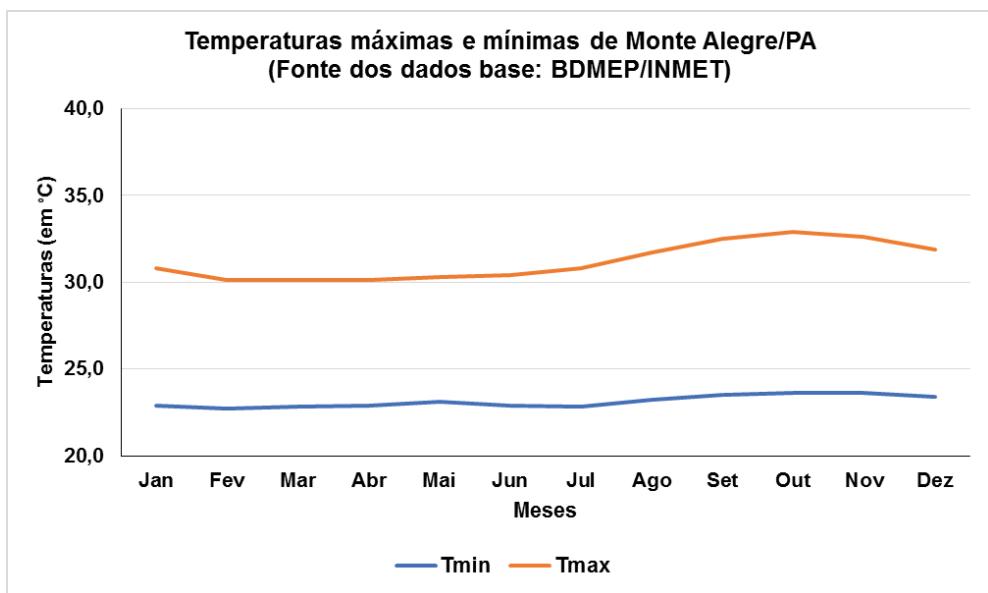


Figura 3. Temperaturas máxima e mínima médias mensais de Monte Alegre/ PA

No cenário de desenvolvimento de *B. carambolae* com fpo em carambola e em condição térmica de Monte Alegre/PA durante o período de um ano (**Tabela 7**) foi estimada a ocorrência de até seis gerações completas, com a 7^a geração apresentando adultos (com fpo em desenvolvimento, com 22 dias) no final do período avaliado. Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas foram determinados, considerando as fases completas observadas no período avaliado, por: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,6 \pm 0,5$ dias, variando de 10 a 11 dias; e c) pupa = $11,7 \pm 0,5$ dias, variando de 11 a 12 dias. A fase imatura média de *B. carambolae* nas condições de Monte Alegre demandou, em média, $24,3 \pm 1,0$ dias, variando de 23 a 25 dias, enquanto o período de tempo médio da postura até a ocorrência da fêmea ativa foi de $53,5 \pm 0,8$ dias, variando de 52 a 54 dias. Essa duração da postura até a ocorrência da fêmea ativa em carambola foi mais elevada da 1^a a 4^a geração, que demandaram 54 dias. Nessas gerações, os tempos de desenvolvimentos das fases imaturas foram iguais, 25 dias (**Tabela 7**), sob temperaturas registradas de 01 janeiro a 04 agosto. Assim, sofreu forte influência das menores temperaturas anuais, dado que de janeiro a julho as medias de Tmin foram de $22,9 \pm 0,1$ °C, variando de 22,7 a 23,1 °C, enquanto a média de Tmax foi de $31,2 \pm 0,3$ °C, variando de 30,1 a 30,8 °C, e a média de amplitude térmica foi de $7,5 \pm 0,3$ °C, variando de 7,2 a 8,0 °C.

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger	2 01-02jan	11 03-13jan	12 14-25jan	25 01-25jan	54 01jan-23fev
2 ^a ger	2 24-25fev	11 26fev-08mar	12 09-20mar	25 24fev-20mar	54 24fev-18abr
3 ^a ger	2 19-20abr	11 21abr-01mai	12 02-13mai	25 19abr-13mai	54 19abr-11jun
4 ^a ger	2 12-13jun	11 14-24jun	12 25jun-06jul	25 12un-06jul	54 12jun-04ago
5 ^a ger	2 05-06ago	10 07-16ago	12 17-28ago	24 05-28ago	53 05ago-26set
6 ^a ger	2 27-28set	10 29set-08out	11 09-19out	23 27set-19out	52 27set-17nov
7 ^a ger	2 18-19nov	10 20-29nov	11 30nov-10dez	23 18nov-10dez	Fêmea fpo com 21 dias 18nov-31dez

Tabela 7. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando carambola em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Monte Alegre/PA.

Considerando o cenário de desenvolvimento de *B. carambolae* com fpo em goiaba em condição térmica de Monte Alegre/PA, durante o período de um ano, foram estimadas nove gerações completas, com a 10^a geração apresentando pupas recém ocorridas em

desenvolvimento (com 8,33 GD, no 1º dia) ao final do período avaliado (**Tabela 8**). Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas, considerando as fases completas no período avaliado, foram determinados: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,7 \pm 0,7$ dias, variando de 10 a 12 dias; e c) pupa = $11,6 \pm 0,5$ dias, variando de 11 a 12 dias. A fase imatura média foi de $24,3 \pm 1,0$ dias, variando de 23 a 25 dias, e a duração do tempo médio da postura até a ocorrência da fêmea ativa de $39,3 \pm 1,0$ dias, variando de 38 a 40 dias. O tempo necessário da postura até a ocorrência da fêmea ativa neste cenário foi mais elevado (40 dias) da 1ª até a 6ª geração, ocorridas de 01 de janeiro a 27 de agosto. O maior tempo de duração deu-se em decorrência dos maiores tempos de desenvolvimentos larval, de 11 dias até a 5ª geração, passando a 12 dias na 6ª geração, e pupal, de 12 dias até a 5ª geração e 11 dias na 6ª. As durações foram favorecidas pelas médias de amplitudes térmicas, T_{min} e de T_{max}, registradas no período, as quais, conforme já relatado no cenário anterior, foram bem inferiores às anuais e, assim implicaram no maior número de dias para completar as fases de desenvolvimento do inseto.

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1ª ger	2 01-02jan	11 03-13jan	12 14-25jan	25 01-25jan	40 01jan-09fev
2ª ger	2 10-11fev	11 12-22fev	12 23fev-06mar	25 10fev-06mar	40 10fev-21mar
3ª ger	2 22-23mar	11 24mar-03abr	12 04abr-15abr	25 22mar-15abr	40 22mar-30abr
4ª ger	2 01-02mai	11 03-13mai	12 14-25mai	25 01-25mai	40 01mai-09jun
5ª ger	2 10-11jun	11 12-22jun	12 23jun-04 jul	25 10jun-04 jul	40 10jun-19 jul
6ª ger	2 20-21 jul	12 22-31 jul	11 01-12ago	25 20 jul-12ago	40 20 jul-27ago
7ª ger	2 28-29ago	10 30ago-08set	11 09-19set	23 28ago-19set	38 28ago-04out
8ª ger	2 05-06out	10 07-16out	11 17-27out	23 05-27out	38 05out-11nov
9ª ger	2 12-13nov	10 14-23nov	11 24nov-04dez	23 12nov-04dez	38 12nov-19dez
10ª ger	2 20-21dez	10 22-31dez	Pupa incompleta (8,33 GD ou no início do desenv.) 31dez	Incompleta	Incompleta

Tabela 8. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando goiaba em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Monte Alegre/PA.

Quando considerado o cenário de *B. carambolae* com fpo em dieta artificial e em condição térmica de Monte Alegre/PA durante o período de um ano (**Tabela 9**) foram estimadas sete gerações completas, estando a 8^a geração com pupas em desenvolvimento (com 136,7 GD ou 08 dias) ao final do período avaliado.

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger	2 01-02jan	11 03-13jan	12 14-25jan	25 01-25jan	50 01jan-19fev
2 ^a ger	2 20-21fev	11 22fev-04mar	12 05-16mar	25 20fev-16mar	50 20fev-11abr
3 ^a ger	2 11-12abr	11 13-23abr	12 24abr-05mai	25 11abr-05mai	50 11abr-30mai
4 ^a ger	2 31mai-01jun	11 02-12jun	12 13-24jun	25 31mai-24jun	50 31mai-19 jul
5 ^a ger	2 20-21 jul	11 22-01ago	11 02-12ago	24 20 jul-12ago	49 20 jul-06set
6 ^a ger	2 07-08set	10 09-18set	11 19-29set	23 07-29set	48 07set-24out
7 ^a ger	2 25-26out	10 27out-05nov	11 06-16nov	23 25out-16nov	48 25out-11dez
8 ^a ger	2 12-13dez	10 14-23dez	Pupa incompleta (com 136,7 GD ou 08 dias) 24-31dez	Incompleta	Incompleta

Tabela 9. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando dieta artificial em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Monte Alegre/PA.

Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas foram determinados, considerando as fases completas no período de um ano, por: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,6 \pm 0,5$ dias, variando de 10 a 11 dias; e c) pupa = $11,6 \pm 0,5$ dias, variando de 11 a 12 dias. A fase imatura média foi de $24,3 \pm 1,0$ dias, variando de 23 a 25 dias, e a duração média da postura até a ocorrência da fêmea ativa de $49,3 \pm 1,0$ dias, variando de 48 a 50 dias. A duração da postura até a ocorrência da fêmea ativa neste cenário foi mais elevada, demandando 50 dias, da 1^a até a 4^a geração, as quais ocorreram de 01 janeiro a 19 julho. Portanto, essas gerações foram influenciadas pelas menores amplitudes térmicas, Tmax e Tmin médias desse período, conforme já relatado para os cenários anteriores do mesmo município. O menor tempo de desenvolvimento da postura até o aparecimento de fêmeas ativas, de 48 dias, deu-se nas 6^a e 7^a gerações. Essas gerações, ocorridas de 07 setembro a 24 outubro e de 25 de outubro a 11 dezembro, respectivamente, apresentaram as menores durações das fases larvais (10 dias). A fase larval foi estimada como ocorrendo

em setembro na 6^a geração e em outubro/novembro na 7^a geração. Desse modo, essas gerações tiveram desenvolvimento mais rápido em decorrência das maiores amplitudes térmicas registradas, 9,0 °C em setembro e 9,1 ± 0,2 °C em média para o período de outubro a novembro. Estas amplitudes foram favorecidas pelas maiores Tmax registradas, sendo 32,5 °C em setembro e 32,8 ± 0,2 °C em média para outubro a novembro, e pelas Tmin próximas à média anual, dado terem sido de 23,5 °C em setembro e 23,6 ± 0,0 °C de outubro a novembro.

A4) Município de Tucuruí

As Tmax e Tmin médias mensais do município de Tucuruí/PA foram obtidas e são apresentadas a seguir (**Figura 4**). As Tmax variaram de 29,6 a 35,5 °C, apresentando média anual de 32,9 ± 1,8 °C. As maiores Tmax ocorreram de setembro a dezembro, variando de 34,1 a 35,5 °C, enquanto a menor Tmax foi observada no mês de agosto, com 29,6 °C. As Tmin locais variaram de 21,2 a 22,5 °C durante o ano, com média anual de 21,6 ± 1,0 °C. O menor valor de Tmin ocorreu em agosto (18,9 °C), enquanto seu maior valor foi observado em junho e em setembro (ambos com 22,5 °C). As maiores amplitudes térmicas mensais ocorreram no período de setembro a dezembro, variando de 12,5 a 13,7 °C, enquanto a menor foi registrada em fevereiro, de 9,8 °C, com média de amplitude térmica anual de 11,3 ± 1,3 °C.

No cenário de desenvolvimento de *B. carambolae* com fpo em carambola e em condição térmica de Tucuruí/PA, durante o período de um ano, foi estimada a ocorrência de até seis gerações completas, com a 7^a geração apresentando adultos (com fpo em desenvolvimento, com 19 dias) no final do período avaliado (**Tabela 10**).

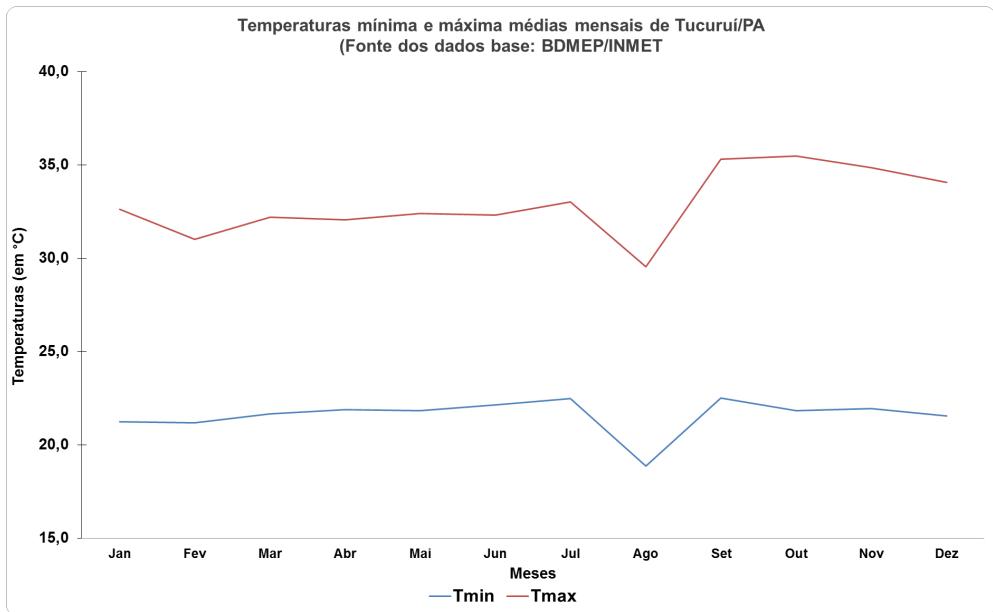


Figura 4. Temperaturas máxima e mínima médias mensais de Tucuruí/PA

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger	2 01-02jan	11 03-13jan	12 14-25jan	25 01-25jan	54 01jan-23fev
2 ^a ger	2 24-25fev	11 26fev-08mar	12 09-20mar	25 24fev-20mar	54 24fev-18abr
3 ^a ger	2 19-20abr	11 21abr-01mai	11 02-12mai	24 19abr-12mai	53 19abr-10jun
4 ^a ger	2 11-12jun	10 13-22jun	12 23jun-04 jul	24 11jun-04 jul	53 11jun-02ago
5 ^a ger	3 03-05ago	12 06-17ago	14 18-31ago	29 03-31ago	58 03ago-29set
6 ^a ger	2 30set-01out	09 02-10out	11 11-21out	22 30set-21out	51 30set-19nov
7 ^a ger	2 20-21nov	09 22-30nov	12 01-12dez	23 20nov-12dez	Fêmea fpo com 19 dias 20nov-31dez

Tabela 10. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando carambola em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Tucuruí/PA.

Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas foram determinados, considerando as fases completas observadas no período avaliado por: a) ovo = $2,1 \pm 0,4$ dias, variando de 2 a 3 dias; b) larva = $10,4 \pm 1,1$ dias, variando de 09 a 12 dias; e c) pupa = $12,0 \pm 1,0$ dias, variando de 11 a 14 dias. A fase imatura média de *B. carambolae* em

Tucuruí demandou, em média, $24,6 \pm 2,2$ dias, variando de 22 a 29 dias. Já a duração da postura até a ocorrência da fêmea ativa foi de $53,8 \pm 2,3$ dias, variando de 51 a 58 dias. Essa duração da postura até a ocorrência da fêmea ativa em carambola foi mais elevada na 5^a geração, necessitou 58 dias para se completar (**Tabela 10**), sob influência de temperaturas locais registradas de 03 agosto a 29 setembro. Nesse período, ocorreram as maiores durações das fases de ovo, com 3 dias, como também de larva, com 12 dias, e de pupa, com 14 dias. Estas fases foram influenciadas pelas Tmin, cuja média foi de $20,7 \pm 2,6$ °C, variando de 18,9 a 22,5 °C, como também pela Tmax, de $32,4 \pm 4,1$ °C, variando de 29,6 a 35,3 °C, e, consequentemente, pela amplitude térmica, de $11,8 \pm 1,5$ °C, variando de 10,7 a 12,8 °C. O menor tempo de duração da fase imatura, de 22 dias, como também da postura até a ocorrência de fêmea ativa, de 51 dias, ocorreram na 6^a geração, que neste cenário foi de 30 de setembro a 19 de novembro. Desse modo, sofreram maior influência das temperaturas registradas nos meses de outubro a novembro, onde em média registraram-se Tmin de $21,9 \pm 0,1$ °C, variando de 21,8 a 22,0 °C, Tmax de $35,2 \pm 0,4$ °C, variando de 34,9 a 35,5 °C e amplitude térmica de $13,3 \pm 0,5$ °C, variando de 12,9 a 13,7 °C; portanto todas superiores àquelas observadas para as respectivas médias anuais.

Por sua vez, no cenário de desenvolvimento de *B. carambolae* com fpo em goiaba em condição térmica de Tucuruí/PA, durante o período de um ano, foram estimadas nove gerações completas, com a 10^a geração apresentando pupas recém ocorridas em desenvolvimento (com 9,8 GD, no 1º dia) ao término do período (**Tabela 11**). Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas, considerando as fases completas no período avaliado, foram determinados: a) ovo = $2,1 \pm 0,3$ dias (variando de 2 a 3 dias); b) larva = $10,0 \pm 0,8$ dias, variando de 09 a 11 dias; e c) pupa = $12,0 \pm 1,0$ dias, variando de 11 a 14 dias. A fase imatura média nesse cenário foi de $24,1 \pm 1,4$ dias, variando de 22 a 26 dias, e a duração do tempo médio da postura até a ocorrência da fêmea ativa de $39,1 \pm 1,4$ dias, variando de 37 a 41 dias. A duração da postura até a ocorrência da fêmea ativa foi mais elevada nas 2^a e 6^a gerações (41 dias), ocorridas respectivamente de 11 fevereiro a 23 março e de 19 julho a 28 agosto. No período de desenvolvimento da 2^a geração, acima assinalado, deram-se médias de Tmin de $21,4 \pm 0,3$ °C, variando de 21,2 a 32,7 °C, de Tmax de $31,6 \pm 0,8$ °C, variando de 31,0 a 32,2 °C e de amplitude térmica de $10,2 \pm 0,5$ °C, variando de 9,8 a 10,5 °C. Portanto, com Tmax e amplitude inferiores às anuais. Já no período informado para a 6^a geração, notaram-se Tmin de $20,7 \pm 2,6$ °C, variando de 18,9 a 22,5 °C, Tmax de $31,3 \pm 2,5$ °C, variando de 29,6 a 33,0 °C e amplitude térmica de $10,6 \pm 0,1$ °C, variando de 10,5 a 10,7 °C. Desse modo, com Tmin, Tmax e amplitude inferiores às respectivas médias anuais já relatadas. Portanto, essas condições se refletiram no menor acúmulo de energia no período e, portanto, no maior tempo de desenvolvimento requerido para o desenvolvimento dessas gerações.

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1ª ger	02 01-02jan	11 03-13jan	12 14-25jan	25 01-25jan	40 01jan-09fev
2ª ger	02 10-11fev	11 12-22fev	13 23fev-07mar	26 10fev-07mar	41 10fev-22mar
3ª ger	02 23-24mar	11 25mar-04abr	11 05abr-15abr	24 23mar-15abr	39 23mar-30abr
4ª ger	02 01-02mai	10 03-12mai	12 13-24mai	24 01-24mai	39 01mai-08jun
5ª ger	02 09-10jun	10 11-20jun	12 21jun-02 jul	24 09jun-02 jul	39 09jun-17jul
6ª ger	02 18-19jul	10 20-29jul	14 30jul-12ago	26 18jul-12ago	41 18jul-27ago
7ª ger	03 28-30ago	09 31ago-08set	11 09-19set	23 28ago-19set	38 28ago-04out
8ª ger	02 05-06out	09 07-15out	11 16-26out	22 05-26out	37 05out-10nov
9ª ger	02 11-12nov	09 13-21nov	12 22nov-03dez	23 11nov-03dez	38 11nov-18dez
10ª ger	02 19-20dez	10 21-30dez	Pupa incompleta (com 26 GD ou 1 dia) 31dez	Incompleta	Incompleta

Tabela 11. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando goiaba em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Tucuruí/PA.

Já no cenário de *B. carambolae* com fpo em dieta artificial e em condição térmica de Tucuruí/PA durante o período de um ano foram estimadas sete gerações completas, com a 8ª geração apresentando pupas em desenvolvimento (com 171,8 GD ou 10 dias) ao final do período avaliado (**Tabela 12**). Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas desse cenário foram determinados, considerando as fases completas no período de um ano, por: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,1 \pm 0,8$ dias, variando de 09 a 11 dias; e c) pupa = $11,7 \pm 1,3$ dias, variando de 10 a 14 dias. Em dieta artificial, a fase imatura média foi de $23,9 \pm 1,3$ dias, variando de 22 a 25 dias, e a duração média da postura até a ocorrência da fêmea ativa demandou $48,9 \pm 1,3$ dias, variando de 47 a 50 dias.

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger	2 01-02jan	11 03-13jan	12 14-25jan	25 01-25jan	50 01jan-19fev
2 ^a ger	2 20-21fev	11 22fev-04mar	12 05-16mar	25 20fev-16mar	50 20fev-10abr
3 ^a ger	2 11-12abr	11 13-23abr	11 24abr-04mai	24 11abr-04mai	49 11abr-29mai
4 ^a ger	2 30-31mai	10 01-10jun	12 11-22jun	24 30mai-22jun	49 30mai-17jul
5 ^a ger	2 18-19jul	09 20-29jul	14 30jul-12ago	25 18jul-12ago	50 18jul-06set
6 ^a ger	2 07-08set	09 09-17set	11 18-28set	22 07-28set	47 07set-23out
7 ^a ger	2 24-25out	10 26out-03nov	10 04-14nov	22 24out-14nov	47 24out-09dez
8 ^a ger	2 10-11dez	10 12-21dez	Pupa incompleta (com 171,8 GD ou 10 dias) 22-31dez	Incompleta	Incompleta

Tabela 12. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando dieta artificial em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Tucuruí/PA.

A duração da postura até a ocorrência da fêmea ativa neste cenário foi mais elevada, demandando 50 dias, nas 1^a, 2^a e 5^a gerações, as quais ocorreram de 01 janeiro a 19 fevereiro, de 20 fevereiro a 10 abril e de 18 julho a 06 setembro, respectivamente. O maior tempo de desenvolvimento da 1^a geração foi influenciado pelas menores amplitudes térmicas, Tmax e Tmin médias do período de janeiro a fevereiro, de $10,6 \pm 1,1$ °C, $31,8 \pm 1,1$ °C e $21,2 \pm 0,05$ °C, respectivamente. Menores valores dessas variáveis foram também observados para o período de ocorrência da 2^a geração, cujas amplitudes térmicas, Tmax e Tmin médias foram de $10,2 \pm 0,3$ °C, $31,8 \pm 0,6$ °C e $21,6 \pm 0,4$ °C, respectivamente, e para a 5^a geração, onde as amplitudes térmicas, Tmax e Tmin médias foram de $11,35 \pm 1,3$ °C, $32,6 \pm 2,9$ °C e $21,3 \pm 2,1$ °C, respectivamente. O menor tempo de desenvolvimento da postura até o aparecimento de fêmeas ativas foi de 47 dias, ocorrido nas 6^a e 7^a gerações. Estas, transcorreram nos períodos de 07 setembro a 23 outubro e de 24 de outubro a 09 dezembro, respectivamente. Durante a 6^a geração foram observadas Tmin de $22,2 \pm 0,5$ °C, Tmax de $35,4 \pm 0,1$ °C e amplitude $13,2 \pm 0,6$ °C, respectivamente, e, portanto, acima das respectivas médias anuais dessas variáveis. Valores superiores também foram notados durante a ocorrência da 7^a geração, que registrou Tmin de $21,8 \pm 0,2$ °C, Tmax de $34,8 \pm 0,7$ °C e amplitude $13,0 \pm 0,6$ °C, respectivamente. Assim sendo, essas gerações tiveram desenvolvimento mais rápido.

B) Estado de Roraima

Para o estado de Roraima foram avaliados os municípios de Boa Vista e Caracaraí/RR. Os resultados obtidos nos cenários de estimativas de desenvolvimento de *B. carambolae* nas condições térmicas desses municípios são apresentados a seguir.

B1) Município de Boa Vista

As Tmax e Tmin médias mensais foram obtidas e apresentadas para o município de Boa Vista/RR (**Figura 5**).

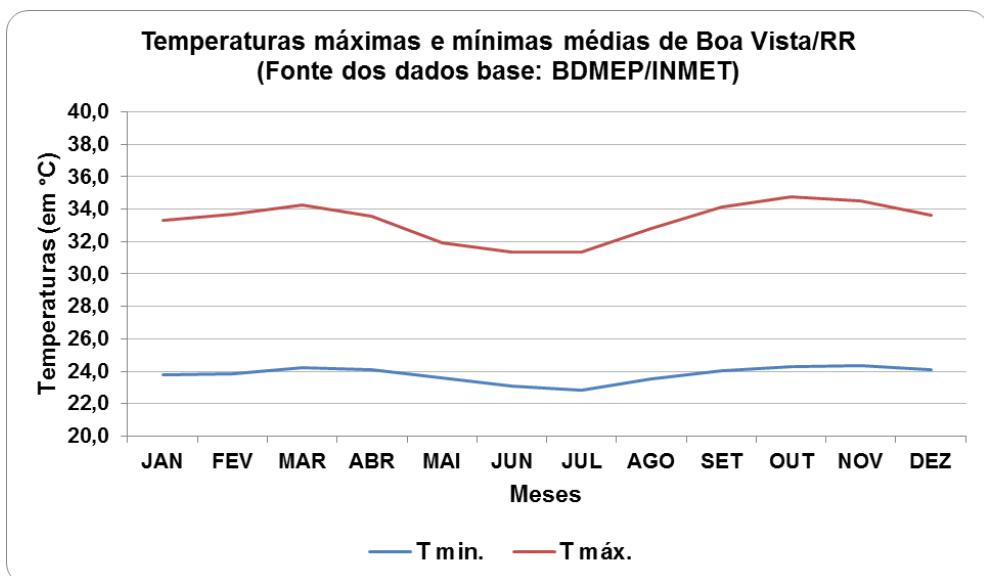


Figura 5. Temperaturas máxima e mínima médias mensais de Boa Vista/RR

Em Boa Vista/RR foram observadas durante o ano as Tmax variando de 31,3 a 34,8°C, com média anual de $33,3 \pm 1,2$ °C. As maiores Tmax ocorreram em março (34,2 °C) e no período de setembro a novembro, onde variaram de 34,1 a 34,8 °C, enquanto as menores Tmax foram observadas de junho a julho, com variação de 31,3 a 31,4 °C. Quando considerados os valores das Tmin de Boa Vista, estes variaram de 22,9 a 24,4 °C durante o ano, com média anual de $23,8 \pm 0,5$ °C. Os maiores valores de Tmin predominaram de março a abril, variando de 24,1 a 24,4 °C, e de setembro a dezembro, variando de 24,1 a 24,4 °C. Ainda para Tmin, o menor valor foi registrado em julho (22,9 °C). As maiores amplitudes térmicas mensais ocorreram no período de setembro a novembro, variando de 10,0 a 10,5 °C, enquanto as menores foram registradas de maio a julho (8,2 a 8,5 °C), com média de amplitude térmica anual de $9,4 \pm 0,7$ °C.

No cenário de desenvolvimento de *B. carambolae* com fpo em carambola e em

condição térmica do município de Boa Vista/RR, no período de um ano, foi estimada a ocorrência de até sete gerações completas, com a 8^a geração em fase larval em desenvolvimento (com 96,1 GD acumulados ou 05 dias de idade) no final do período avaliado (**Tabela 13**).

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger	02 01-02jan	09 03-11jan	11 12-22jan	22 01-22jan	51 01jan-20fev
2 ^a ger	02 21-22fev	09 23fev-03mar	11 04-14mar	22 21fev-14mar	51 21fev-12abr
3 ^a ger	02 13-14abr	09 15-23abr	11 24abr-05mai	22 13abril-05mai	51 13abril-02jun
4 ^a ger	02 03-04jun	10 05-14jun	12 15jun-26jun	24 03-26jun	53 03jun-25jul
5 ^a ger	02 26-27jul	10 28jul-06ago	11 07-16ago	23 26jul-16ago	52 26jul-15set
6 ^a ger	02 16-17set	09 18-26set	10 27set-06out	21 16set-06out	50 16set-04nov
7 ^a ger	02 05-06nov	09 07-15nov	10 16-25nov	21 05-25nov	50 05nov-24dez
8 ^a ger	02 25-26dez	Larva incompleta (com 96,1 GD ou 5 dias) 27-31dez		Incompleta	Incompleta

Tabela 13. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando carambola em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Boa Vista/RR.

Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas neste cenário foram determinados, considerando as fases completas no período avaliado, por: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $9,3 \pm 0,5$ dias, variando de 09 a 10 dias; e c) pupa = $10,9 \pm 0,7$ dias, variando de 10 a 11 dias. A fase imatura total média foi de $22,1 \pm 1,1$ dias, variando de 21 a 24 dias, e a duração do período da postura até a ocorrência da fêmea ativa de $51,1 \pm 1,0$ dias, variando de 50 a 53 dias. O tempo necessário da postura até a ocorrência da fêmea ativa neste cenário foi mais elevado na 4^a geração, onde demandou 53 dias. Esse maior tempo deu-se em função do maior tempo de desenvolvimento da fase pupal, que demandou 12 dias; maior duração anual desta fase de desenvolvimento. A ocorrência da 4^a geração deu-se o período de 03 junho a 25 julho, onde registraram-se T_{min} média de $23,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$, T_{max} média de $31,4 \pm 0,0^\circ\text{C}$ e amplitude média de $8,4 \pm 0,2^\circ\text{C}$, demandando maior tempo para acumular a energia necessária para prover as mudanças de fases dessa geração. O menor

período da postura até a ocorrência da fêmea ativa foi observado nas 6^a e 7^a gerações, ambas com 50 dias. A 6^a geração ocorreu de 16 setembro a 04 novembro e a 7^a geração de 05 de novembro a 23 dezembro e, portanto, deram-se no período de maiores Tmin, que variaram de 24,1 a 24,4 °C, Tmax, variando de 33,6 a 34,8 °C, e amplitudes térmicas, que variaram de 9,6 a 10,5 °C; acima das médias anuais dessas variáveis.

Considerando o cenário de desenvolvimento de *B. carambolae* com fpo em goiaba em condição térmica de Boa Vista/RR, durante o período de um ano, foram estimadas nove gerações completas, com a 10^a geração apresentando adultos com fêmeas pré-ovipositoras (fpo) em desenvolvimento (com 7 dias de idade) ao final do período avaliado (**Tabela 14**).

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger	2 01-02jan	09 03-11jan	11 12-22jan	22 01-22jan	37 01jan-06fev
2 ^a ger	2 07-08fev	09 09-17fev	11 18-28fev	22 07-28fev	37 07fev-15mar
3 ^a ger	2 16-17mar	09 18-26mar	11 27mar-06abr	22 16mar-06abr	37 16mar-21abr
4 ^a ger	2 22-23abr	09 24abr-02mai	12 03-14mai	23 22abr-14mai	38 22abr-29mai
5 ^a ger	2 30-31mai	10 01-10jun	11 11-21jun	23 30mai-21jun	38 30mai-06jul
6 ^a ger	2 07-08jul	10 09-18jul	12 19-30jul	24 07-30jul	39 07jul-14ago
7 ^a ger	2 15-16ago	10 17-26ago	11 27ago-06set	23 15ago-06set	38 15ago-21set
8 ^a ger	2 22-23set	09 24set-02out	10 03-12out	21 22set-12out	36 22set-27out
9 ^a ger	2 28-29out	09 30out-07nov	10 08-17nov	21 28out-17nov	36 28out-02dez
10 ^a ger	2 03-04dez	09 05-13dez	11 14-24dez	22 03-24dez	Fêmea fpo com 07 dias 25-31dez

Tabela 14. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando goiaba em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Boa Vista/RR.

Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas, considerando as fases completas no período avaliado, foram determinados para este cenário: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $9,3 \pm 0,5$ dias, variando de 09 a 10 dias; e c) pupa = $11,0 \pm 0,7$ dias, variando de 10 a 12 dias. A fase imatura média foi de $22,3 \pm 0,9$ dias, variando de 21 a 24 dias, enquanto a duração média da postura até a ocorrência da fêmea ativa foi de $37,3 \pm 1,0$ dias, variando de 36 a 39 dias. Neste cenário, o tempo necessário da postura até a ocorrência da

fêmea ativa foi mais elevado na 6^a geração (39 dias), ocorrida de 07 de julho a 14 de agosto (**Tabela 14**). O maior tempo de duração deu-se em função das maiores durações larval, de 10 dias, e pupal, de 12 dias, dessa geração, os quais foram favorecidos pelas médias de amplitudes térmicas, Tmin e de Tmax registradas em seu período de ocorrência, a saber $8,9 \pm 0,6 ^\circ\text{C}$, $23,2 \pm 0,5 ^\circ\text{C}$ e $32,1 \pm 1,0 ^\circ\text{C}$, respectivamente; estas, portanto, inferiores às médias anuais dessas variáveis. O menor tempo de duração da postura até a ocorrência da fêmea ativa foi observado para as 8^a e 9^a gerações, ambas demandando 36 dias, ocorridas respectivamente de 22 setembro a 27 outubro e de 28 outubro a 02 dezembro, respectivamente. Desse modo, a 8^a geração sofreu influência principalmente das Tmin, Tmax e amplitudes médias do período de sua ocorrência, ou seja, de $24,2 \pm 0,2 ^\circ\text{C}$, $34,4 \pm 0,5 ^\circ\text{C}$ e $10,3 \pm 0,3 ^\circ\text{C}$, respectivamente; portanto, superiores às respectivas médias anuais dessas mesmas variáveis, $23,8 \pm 0,5 ^\circ\text{C}$, $33,3 \pm 1,2 ^\circ\text{C}$ e $9,5 \pm 0,7 ^\circ\text{C}$. Valores médios mais elevados de Tmin, Tmax e amplitudes de $24,2 \pm 0,1 ^\circ\text{C}$, $34,3 \pm 0,6 ^\circ\text{C}$ e $10,1 \pm 0,5 ^\circ\text{C}$, respectivamente, também foram observados para o período de ocorrência da 9^a geração.

Quando considerado o cenário de *B. carambolae* com fpo em dieta artificial e em condição térmica de Boa Vista/RR, durante o período de um ano, foram estimadas sete gerações completas, com a 8^a geração apresentando adultos ainda com fêmeas em período de pré-oviposição (com 11 dias de idade) ao final do período avaliado (**Tabela 15**). Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas desse cenário foram determinados, considerando as fases completas no período de um ano, por: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $9,3 \pm 0,5$ dias, variando de 09 a 10 dias; e c) pupa = $11,1 \pm 0,6$ dias, variando de 10 a 12 dias. A fase imatura média demandou $22,4 \pm 1,1$ dias, variando de 21 a 24 dias, enquanto a duração média da postura até a ocorrência da fêmea ativa requereu $47,4 \pm 1,1$ dias, variando de 46 a 49 dias. A mais elevada duração da postura até a ocorrência da fêmea ativa neste cenário foi de 49 dias, notadamente nas 4^a e 5^a gerações (**Tabela 15**). Essas gerações deram-se, respectivamente, nos períodos de 22 maio a 09 julho e de 10 julho a 27 agosto (**Tabela 15**). Desse modo, o maior tempo de desenvolvimento da 4^a geração foi influenciado pelas menores amplitudes térmicas, Tmax e Tmin médias do período de maio a julho, respectivamente $8,4 \pm 0,1 ^\circ\text{C}$, $31,6 \pm 0,3 ^\circ\text{C}$ e $23,2 \pm 0,4 ^\circ\text{C}$. Menores valores dessas variáveis foram também notados no período de ocorrência da 5^a geração, cujas amplitudes térmicas, Tmax e Tmin médias foram de $8,9 \pm 0,6 ^\circ\text{C}$, $32,1 \pm 1,0 ^\circ\text{C}$ e $23,2 \pm 0,5 ^\circ\text{C}$, respectivamente. O menor tempo de desenvolvimento da postura até o aparecimento de fêmeas ativas foi de 46 dias, observado na 7^a geração (**Tabela 15**). Essa geração transcorreu de 14 outubro a 24 novembro, onde foram observadas Tmin de $24,3 \pm 0,03 ^\circ\text{C}$, Tmax de $34,7 \pm 0,2 ^\circ\text{C}$ e amplitude de $10,3 \pm 0,2 ^\circ\text{C}$, respectivamente, e, desse modo, superiores àquelas observadas para as respectivas médias anuais dessas variáveis.

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger	02 01-02jan	09 03-11jan	11 12-22jan	22 01-22jan	47 01jan-16fev
2 ^a ger	02 17-18fev	09 19-27fev	11 28fev-10mar	22 17fev-10mar	47 17fev-04abr
3 ^a ger	02 05-06abr	09 07-15abr	11 16-26abr	22 05-26abr	47 05abr-21mai
4 ^a ger	02 22-23mai	10 24mai-02jun	12 03-14jun	24 22mai-02jun	49 22mai-09 jul
5 ^a ger	02 10-11jul	10 12-21jul	12 22jul-02ago	24 10jul-02ago	49 10jul-27ago
6 ^a ger	02 28-29ago	09 30ago-07set	11 08-18set	22 28ago-18set	47 28ago-13out
7 ^a ger	02 14-15out	09 16-24out	10 25out-03nov	21 14out-03nov	46 14out-28nov
8 ^a ger	02 29-30nov	09 01-09dez	11 10-20dez	22 29nov-20dez	Fêmea fpo com 11 dias 21-31dez

Tabela 15. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando dieta artificial em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Boa Vista/RR.

B2) Município de Caracaraí

As Tmax e Tmin mensais médias de Caracaraí/RR foram determinadas e apresentadas (**Figura 6**). Em Caracaraí foram observadas Tmax variando de 31,0 a 34,2°C durante o ano, com média anual de $32,7 \pm 1,1$ °C. A maior Tmax ocorreu em outubro (34,2 °C) e as menores de maio a julho, com variação de 31,0 a 31,2°C. Durante o ano notaram-se os valores das Tmin, variando de 22,0 a 23,0 °C, com média anual de $22,4 \pm 0,3$ °C. Os maiores valores de Tmin ocorreram de outubro a novembro, ambos com 23,0 °C, enquanto o menor valor, 22,0 °C, foi observado em janeiro. A maior amplitude térmica mensal deu-se no mês de outubro, de 11,2 °C, embora também observada em março, com 11,0 °C. As menores amplitudes de Caracaraí/RR foram registradas de maio a julho (8,8 a 9,0 °C), cuja média desse período foi de $8,9 \pm 0,1$ °C, portanto inferior àquela registrada para o período anual, que foi de $10,2 \pm 0,9$ °C, variando de 8,8 a 11,2 °C.

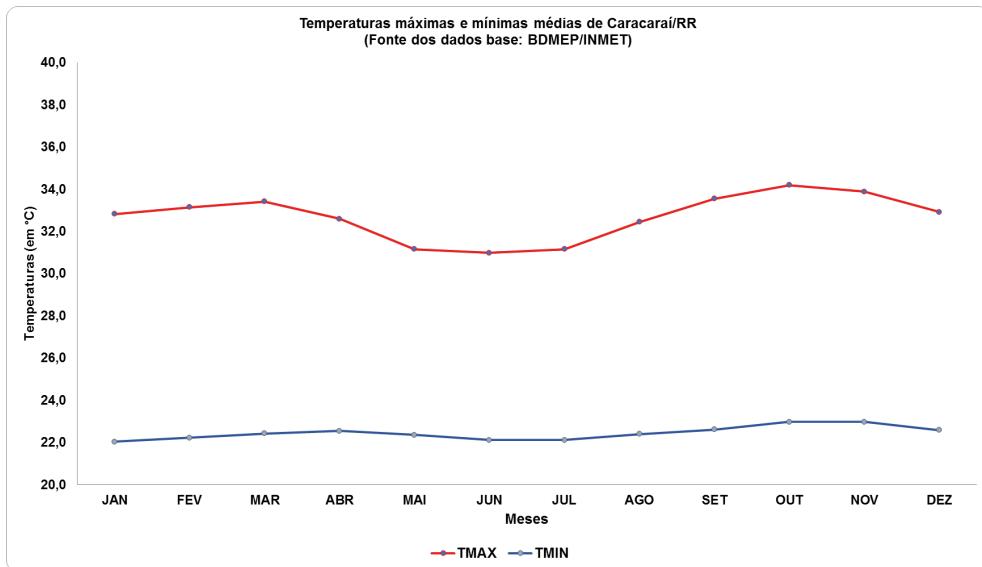


Figura 6. Temperaturas máxima e mínima médias mensais de Caracaraí/RR

No cenário de desenvolvimento de *B. carambolae* com fpo em carambola e em condição térmica do município de Caracaraí/RR, no período de um ano, foi estimada a ocorrência de até seis gerações completas, com a 7^a geração apresentando adultos, com as fêmeas ainda em desenvolvimento na fase pré-ovipositora (com 27 dias de idade) ao final do período avaliado (**Tabela 16**). Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas foram determinados, considerando as fases completas no período avaliado, por: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,0 \pm 0,6$ dias, variando de 09 a 11 dias; e c) pupa = $11,4 \pm 0,8$ dias, variando de 10 a 12 dias. A fase imatura total média foi de $23,4 \pm 1,1$ dias, variando de 22 a 25 dias, e a duração do período da postura até a ocorrência da fêmea ativa de $52,7 \pm 1,0$ dias, variando de 51 a 54 dias. O tempo necessário da postura até a ocorrência da fêmea ativa neste cenário foi mais elevado na 4^a geração, onde demandou 54 dias, e menor na 6^a geração, que requereu 51 dias.

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger	02 01-02jan	10 03-12jan	12 13-24jan	24 01-24jan	53 01jan-22fev
2 ^a ger	02 23-24fev	10 25fev-06mar	11 07-17mar	23 23fev-17mar	52 23fev-15abr
3 ^a ger	02 16-17abril	10 18-27abril	12 28abril-09mai	24 16abril-09mai	53 16abril-07jun
4 ^a ger	02 08-09jun	11 10-20jun	12 21jun-02jul	25 08jun-02jul	54 08jun-31jul
5 ^a ger	02 01-02ago	10 03-12ago	12 13-24ago	24 01-24ago	53 01ago-22set
6 ^a ger	02 23-24set	10 25set-04out	10 05-14out	22 23set-14out	51 23set-12nov
7 ^a ger	02 13-14nov	09 15-23nov	11 24nov-04dez	22 13nov-04dez	Fêmea fpo com 27 dias 05-31dez

Tabela 16. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando carambola em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Caracaraí/RR.

Considerando o cenário de desenvolvimento de *B. carambolae* com fpo em goiaba em condição térmica de Caracaraí/RR, durante o período de um ano, foram estimadas nove gerações completas, com a 10^a geração apresentando pupas em desenvolvimento (com 122,25 GD ou 8 dias) ao final do período avaliado (**Tabela 17**). Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas, considerando as fases completas no período avaliado, nesse cenário foram determinados: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,0 \pm 0,7$ dias, variando de 09 a 11 dias; e c) pupa = $11,6 \pm 0,7$ dias, variando de 11 a 13 dias. Desse modo, a fase imatura apresentou duração média de $23,6 \pm 1,2$ dias, variando de 22 a 25 dias, e a duração média da postura até a ocorrência da fêmea ativa de $38,6 \pm 1,2$ dias, variando de 37 a 40 dias. O tempo necessário da postura até a ocorrência da fêmea ativa neste cenário foi mais elevado (40 dias) da 4^a até a 6^a geração, com a 4^a geração ocorrida de 24 abril a 03 junho, a 5^a de 05 junho a 13 julho e a 6^a geração em 14 julho a 22 agosto. Essa maior duração deu-se em decorrência das menores médias de amplitudes térmicas, Tmin e de Tmax registradas nesses períodos. Na 4^a geração constataram-se médias de amplitudes térmicas, Tmin e de Tmax de $8,9 \pm 0,1$ °C, $22,2 \pm 0,1$ °C e $31,1 \pm 0,1$ °C, respectivamente. Por sua vez, na 5^a geração notaram-se médias de amplitudes térmicas, Tmin e de Tmax de $9,2 \pm 0,7$ °C, $22,3 \pm 0,2$ °C e $31,6 \pm 0,9$ °C, respectivamente, enquanto na 6^a geração foram de $9,5 \pm 0,7$ °C, $22,3 \pm 0,2$ °C e $31,8 \pm 0,9$ °C, respectivamente.

Desse modo, as médias de amplitudes térmicas, Tmin e de Tmax dos períodos dessas gerações foram inferiores àquelas registradas, respectivamente, no período anual e,

assim implicaram no maior número de dias necessários para completar o desenvolvimento, quando comparado ao das demais gerações. A menor duração da postura até a ocorrência da fêmea ativa neste cenário foi 37 dias, observado para as 7^a e 8^a gerações. A 7^a geração deu-se de 23 agosto a 29 setembro, onde foram observadas Tmin, Tmax e amplitudes médias de $22,5 \pm 0,1$ °C, variando de 22,4 a 22,6 °C, $33,0 \pm 0,9$ °C, variando de 32,5 a 33,6 °C, e $10,5 \pm 0,6$ °C, variando de 10,1 a 10,9 °C, respectivamente. Por sua vez na 8^a geração, desenvolvida de 30 setembro a 05 novembro, notaram-se Tmin, Tmax e amplitudes médias de $22,9 \pm 0,2$ °C, variando de 22,6 a 23,0 °C, $33,9 \pm 0,3$ °C, variando de 33,6 a 34,2 °C, e $11,0 \pm 0,2$ °C, variando de 10,9 a 11,2 °C, respectivamente.

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger	2 01-02jan	10 03-13jan	12 14-25jan	24 01-25jan	39 01jan-09fev
2 ^a ger	2 10-11fev	10 12-22fev	11 23fev-06mar	23 10fev-06mar	38 10fev-21mar
3 ^a ger	2 22-23mar	10 24mar-03abr	11 04abr-15abr	23 22mar-15abr	38 22mar-30abr
4 ^a ger	2 01-02mai	10 03-13mai	13 14-25mai	25 01-25mai	40 01mai-09jun
5 ^a ger	2 10-11jun	11 12-22jun	12 23jun-04 jul	25 10jun-04 jul	40 10jun-19 jul
6 ^a ger	2 20-21 jul	11 22-31 jul	12 01-12ago	25 20Jul-12ago	40 20Jul-27ago
7 ^a ger	2 28-29ago	10 30ago-08set	11 09-19set	23 28ago-19set	38 28ago-04out
8 ^a ger	2 05-06out	09 07-16out	11 17-27out	22 05-27out	37 05out-11nov
9 ^a ger	2 12-13nov	09 14-23nov	11 24nov-04dez	22 12nov-04dez	37 12nov-19dez
10 ^a ger	2 20-21dez	10 22-31dez	Pupa incompleta (com 122,25 GD ou 8 dias) 31dez	Incompleta	Incompleta

Tabela 17. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando goiaba em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Caracaraí/RR.

Quando considerado o cenário de *B. carambolae* com fpo em dieta artificial e em condição térmica de Caracaraí/RR, durante o período de um ano, foram estimadas sete gerações completas, com a 8^a geração apresentando adultos com fêmeas em período de pré-oviposição (fpo) (com 01 dia de idade) ao final do período avaliado (**Tabela 18**). Os tempos médios de desenvolvimentos das fases imaturas desse cenário foram determinados,

considerando as fases completas no período de um ano, por: a) ovo = $2,0 \pm 0,0$ dias; b) larva = $10,1 \pm 0,6$ dias, variando de 09 a 11 dias; e c) pupa = $11,5 \pm 0,5$ dias, variando de 11 a 12 dias. A fase imatura média neste cenário foi de $23,6 \pm 1,1$ dias, variando de 22 a 25 dias, e a duração média da postura até a ocorrência da fêmea ativa demandou $48,7 \pm 1,1$ dias, variando de 47 a 50 dias.

Gerações	OVO (em dias)	LARVA (em dias)	PUPA (em dias)	Fase Imatura (em dias)	Postura até aparecimento de fêmea ativa (em dias)
1 ^a ger	02 01-02jan	10 03-12jan	12 13-24jan	24 01-24jan	49 01jan-18fev
2 ^a ger	02 19-20fev	10 21fev-02mar	11 03-13mar	23 19fev-13mar	48 19fev-07abr
3 ^a ger	02 08-09abr	10 10-19abr	12 20abril-01mai	24 08abril-01mai	49 08abril-26mai
4 ^a ger	02 27-28mai	11 29mai-08jun	12 09-20jun	25 27mai-20jun	50 27mai-15jul
5 ^a ger	02 16-17jul	11 18-28jul	12 29jul-09ago	25 16jul-09ago	50 16jul-03set
6 ^a ger	02 04-05set	10 06-15set	11 16-26set	23 04-26set	48 04set-21out
7 ^a ger	02 22-23out	09 24out-01nov	11 02-12nov	22 22out-12nov	47 22out-07dez
8 ^a ger	02 08-09dez	10 10-19dez	11 20-30dez	23 08-30dez	Fêmea fpo com 01 dia 31dez

Tabela 18. Gerações de *Bactrocera carambolae* estimadas por demandas térmicas para o período de um ano, considerando dieta artificial em condições de temperaturas máxima e mínima médias mensais de Caracaraí/RR.

Neste cenário, a maior duração da postura até o aparecimento de fêmea ativa deu-se nas 4^a e 5^a gerações, onde ambas necessitaram de 50 dias, enquanto a menor duração ocorreu na 7^a geração, que requereu 47 dias. A 4^a geração deu-se de 27 maio a 15 julho, onde as T_{min}, T_{max} e amplitude médias do período foram de $22,2 \pm 0,1$ °C, variando de 22,1 a 22,4 °C, $31,1 \pm 0,1$ °C, variando de 31,0 a 31,2 °C, e $8,9 \pm 0,1$ °C, variando de 8,8 a 9,0 °C, respectivamente. Na 5^a geração, ocorrida de 16 julho a 03 setembro, as T_{min}, T_{max} e amplitude médias foram de $22,4 \pm 0,2$ °C, variando de 21,1 a 22,6 °C, $32,4 \pm 1,2$ °C, variando de 31,2 a 33,6 °C, e $10,0 \pm 1,0$ °C, variando de 9,0 a 10,9 °C, respectivamente. Desse modo, os maiores valores observados deram-se principalmente pelos menores valores observados para as T_{max} de ambas gerações, como também pela menor amplitude da 4^a geração, que se refletiram nos maiores desenvolvimentos das fases larval e pupal observados para essas gerações, quando comparadas as demais. Na 4^a geração as fases larval e pupal deram-se predominantemente em junho, com amplitude

de 9,0 °C, enquanto essas mesmas fases de desenvolvimento ocorreram em julho e agosto na 5^a geração, portanto, influenciadas pelas amplitudes de 9,0 °C e de 10,1 °C respectivamente; inferiores à amplitude média anual. Já no período de desenvolvimento da 7^a geração, de 22 outubro a 07 dezembro, observaram-se Tmin, Tmax e amplitude médias do período de, respectivamente, $22,8 \pm 0,2$ °C, variando de 22,6 a 23,0°C, $33,7 \pm 0,7$ °C, variando de 33,2,9 a 34,22 °C, e $10,8 \pm 0,5$ °C, variando de 10,3 a 11,2 °C; portanto, todos superiores às respectivas médias anuais dessas variáveis. Assim, se refletiram no menor tempo de desenvolvimento demandado pela 7^a geração.

C) Resultados gerais para as durações estimadas para as fases imaturas

Considerando os municípios avaliados Breves/PA (BRV), Marabá/PA (MRB), Monte Alegre/PA (MTA), Tucuruí/PA (TCR), Boa Vista/RR (BVT) e Caracaraí /RR (CRC), os tempos médios das durações das fases imaturas estimadas de *B. carambolae* foram determinados, a partir daqueles obtidos para as gerações completas (ovo-a-ovo) ocorrida no período de um ano, conforme abaixo discriminados.

A fase de ovo esteve presente em 7 gerações completas (ovo-a-ovo) em dieta artificial, 6 gerações completas em carambola, exceto para Boa Vista/RR onde apresentou 7 gerações completas, e em 9 gerações completas em goiaba (**Tabelas 1 a 18**). Entretanto, fases de ovos das 8^a gerações de carambola e dieta artificial, assim como da 10^a geração de goiaba foram também observadas pelas estimativas realizadas (**Tabelas 1 a 18**). A duração média da fase de ovo, considerando as gerações completas nos cenários avaliados, foi predominantemente de $2,0 \pm 0,0$ dias independente do alimento (dieta artificial, carambola e goiaba), exceto para Tucuruí/PA, onde uma geração em carambola e uma em goiaba as apresentaram pouco superior (3,0 dias), não havendo, porém, variabilidades significativas para diferenciar as médias obtidas para os diferentes municípios (**Tabela 19**).

Municípios	Ovo_Dieta (em dias)	Ovo_Carambola (em dias)	Ovo_Goiaba (em dias)
BRV	$2,0 \pm 0,0$	$2,0 \pm 0,0$	$2,0 \pm 0,0$
MRB	$2,0 \pm 0,0$	$2,0 \pm 0,0$	$2,0 \pm 0,0$
MTA	$2,0 \pm 0,0$	$2,0 \pm 0,0$	$2,0 \pm 0,0$
TCR	$2,0 \pm 0,0$	$2,2 \pm 0,4$	$2,1 \pm 0,3$
BVT	$2,0 \pm 0,0$	$2,0 \pm 0,0$	$2,0 \pm 0,0$
CRC	$2,0 \pm 0,0$	$2,0 \pm 0,0$	$2,0 \pm 0,0$

Obs.: Breves/PA (BRV), Marabá/PA (MRB), Monte Alegre/PA (MTA), Tucuruí/PA (TCR), Boa Vista/RR (BVT) e Caracaraí /RR (CRC)

Tabela 19. Tempos médios das durações das fases de ovo de *B. carambolae* obtidas por demandas térmicas em condições climáticas dos municípios do Pará e Roraima avaliados.

A fase larval esteve presente em 7 gerações completas (ovo-a-ovo) em dieta artificial,

6 gerações completas em carambola, exceto para Boa Vista/RR onde apresentou 7 gerações completas, e em 9 gerações completas em goiaba (**Tabelas 1 a 18**). Entretanto, a fase larval foi observada também na geração seguinte, incompleta, em carambola (7^a geração), dieta artificial (8^a geração) e goiaba (10^a geração) em todos os municípios, exceto para Boa Vista/RR em carambola que apresentou na 8^a geração esta fase ainda em desenvolvimento (**Tabela 13**). Desse modo, a duração média das fases larvais, considerando as gerações completas nos cenários avaliados, bem como as respectivas diferenças entre as médias são apresentadas a seguir (**Tabela 20**).

Municípios	Larva_Dieta (em dias)	Larva_Carambola (em dias)	Larva_Goiaba (em dias)
BRV	10,3 ± 0,5 a	10,3 ± 0,5 a	10,3 ± 0,5 a
MRB	10,1 ± 0,7 ab	10,2 ± 0,8 ab	10,2 ± 0,7 a
MTA	10,7 ± 0,5 a	10,7 ± 0,5 a	10,8 ± 0,7 a
TCR	10,1 ± 0,9 ab	10,7 ± 1,0 a	10,0 ± 0,9 ab
BVT	9,3 ± 0,5 b	9,3 ± 0,5 b	9,3 ± 0,5 b
CRC	10,1 ± 0,7 ab	10,2 ± 0,4 ab	10,0 ± 0,7 ab

Obs.: Breves/PA (BRV), Marabá/PA (MRB), Monte Alegre/PA (MTA), Tucuruí/PA (TCR), Boa Vista/RR (BVT) e Caracaraí /RR (CRC); Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 10%

Tabela 20. Tempos médios das durações das fases larval de *B. carambolae* obtidas por demandas térmicas em condições climáticas dos municípios do Pará e Roraima avaliados.

A fase pupal esteve presente em 7 gerações completas (ovo-a-ovo) em dieta artificial, 6 gerações completas em carambola, exceto para Boa Vista/RR que apresentou 7 gerações completas, e em 9 gerações completas em goiaba (**Tabelas 1 a 18**). Contudo, a fase pupal também foi observada nas 7^a gerações, incompletas, de todos os municípios avaliados em carambola, exceto na 8^a geração incompleta de Boa Vista/RR. Considerando a geração seguinte em goiaba (10^a geração), a fase pupal ocorreu somente em Boa Vista/RR. Já quando observada a geração seguinte nos cenários de dieta artificial (8^a geração), observou-se que a fase pupal ocorreu em Boa Vista/RR e Caracaraí/RR. A duração média das fases pupais estimadas, considerando as gerações completas nos cenários avaliados, bem como as diferenças observadas entre as médias, são apresentadas a seguir (**Tabela 21**). Ressalta-se que as médias observadas para pupa em dieta, não foram consideradas diferentes pelas análises realizadas.

Municípios	Pupa_Dieta (em dias)	Pupa_Carambola (em dias)	Pupa_Goiaba (em dias)
BRV	$11,7 \pm 0,5$ a	$11,8 \pm 0,4$ ab	$11,8 \pm 0,4$ ab
MRB	$11,7 \pm 1,0$ a	$11,7 \pm 0,5$ ab	$11,6 \pm 0,5$ ab
MTA	$11,6 \pm 0,5$ a	$11,8 \pm 0,4$ ab	$11,6 \pm 0,5$ ab
TCR	$11,7 \pm 1,3$ a	$12,0 \pm 1,1$ a	$12,0 \pm 1,0$ a
BVT	$11,1 \pm 0,7$ a	$10,9 \pm 0,7$ b	$11,0 \pm 0,7$ b
CRC	$11,6 \pm 0,5$ a	$11,5 \pm 0,8$ ab	$11,6 \pm 0,7$ ab

Obs.: Breves/PA (BRV), Marabá/PA (MRB), Monte Alegre/PA (MTA), Tucuruí/PA (TCR), Boa Vista/RR (BVT) e Caracaraí /RR (CRC); Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 10%

Tabela 21. Tempos médios das durações das fases pupais de *B. carambolae* obtidas por demandas térmicas em condições climáticas dos municípios do Pará e Roraima avaliados.

Considerando a fase imatura total dos cenários avaliados, esta esteve presente em 7 gerações completas (ovo-a-ovo) em dieta artificial, 6 gerações completas em carambola, exceto para Boa Vista/RR que apresentou 7 gerações completas, e em 9 gerações completas em goiaba (**Tabelas 1 a 18**). Nas gerações incompletas em carambola, quando na 7^a geração observou-se a fase imatura completa nos 4 municípios do Pará e em Caracaraí/RR. Para Boa Vista/RR, a geração incompleta (8^a geração) não apresentou a fase imatura completa. Em goiaba, a fase imatura completa ocorreu nas gerações incompletas somente em Boa Vista/RR (10^a geração) (**Tabela 14**). Já em dieta artificial, as gerações incompletas que apresentaram as fases imaturas completas deram-se em Boa Vista/RR (8^a geração) (**Tabela 15**) e Caracaraí/RR (8^a geração) (**Tabela 18**). A duração média das fases imaturas completas estimadas, considerando as gerações completas nos cenários avaliados, bem como as diferenças observadas entre as médias assim obtidas, são apresentadas a seguir (**Tabela 22**). De modo geral observaram-se tempos médios da fase imatura variando de $22,1 \pm 1,1$ até $24,8 \pm 2,3$ dias e, assim, dentro da faixa informada por Favacho (2019) para o período ovo-adulto de 22 dias.

Municípios	Imaturos_Dieta (em dias)	Imaturos_Carambola (em dias)	Imaturos_Goiaba (em dias)
BRV	24,0 ± 0,8 ab	24,2 ± 0,8 a	24,1 ± 0,8 a
MRB	23,9 ± 1,2 ab	23,8 ± 1,2 ab	23,8 ± 1,1 a
MTA	24,3 ± 1,0 a	24,5 ± 0,8 a	24,3 ± 1,0 a
TCR	23,9 ± 1,3 ab	24,8 ± 2,3 a	24,1 ± 1,4 a
BVT	22,4 ± 1,1 b	22,1 ± 1,1 b	22,3 ± 1,0 b
CRC	23,7 ± 1,1 ab	23,7 ± 1,0 ab	23,6 ± 1,2 ab

Obs.: Breves/PA (BRV), Marabá/PA (MRB), Monte Alegre/PA (MTA), Tucuruí/PA (TCR), Boa Vista/RR (BVT) e Caracaraí /RR (CRC); Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 10%.

Tabela 22. Tempos médios das durações das fases imaturas completas de *B. carambolae* obtidas por demandas térmicas em condições climáticas dos municípios do Pará e Roraima avaliados.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

As estimativas numéricas do desenvolvimento de *B. carambolae* em carambola, goiaba e dieta artificial, considerando as demandas térmicas do inseto dos períodos imaturos, de literatura, e os tempos requeridos pela fpo nesses respectivos alimentos, como também as condições térmicas dos municípios avaliados, indicaram que as amplitudes térmicas mensais dos municípios e os considerados tempos de fpo nas dietas interferem no número de gerações finais obtidos ao final do período de um ano.

Desse modo, as estimativas devem ser consideradas nas orientações de manejo locais de *B. carambolae*. Assim sendo, os resultados obtidos apoiam as políticas públicas voltadas para o controle desta praga quarentenária presente no Brasil e podem ser refinados com a maior disponibilidade de estações climáticas presentes nas áreas infestadas nos municípios e com a disponibilidade de demandas térmicas das fases imaturas e adultas de *B. carambolae* em seus cultivos hospedeiros presentes no território nacional.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, E. J. F. do; SOUSA, M. do S. M. de; SANTOS, J. E. V. dos; COSTA, L. M.; MELEM JUNIOR, N. J.; TOLEDO, J. J. de; ADAIME, R. Effect of soil class and moisture on the depth of pupation and pupal viability of *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock (1994). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 65, n. 1 p. 1-8, 2021.
- BARIANI, A.; JESUS-BARROS, C. R. de; CARVALHO, J. P.; MOTA JUNIOR, L de O.; NASCIMENTO, P. R.; CRUZ, K. R.; FACUNDÉS, V. da S. **Técnicas para criação da mosca-da-carambola (*Bactrocera carambolae* Drew & Hancock) em laboratório para pesquisa científica**. Macapá, AP: Embrapa Amapá, 2016. 31p. (Documentos, 97).

- BELO, A. P. D.; ROCHA, L. M. da S.; CORRÊA, J. M. G.; FERREIRA, R. M. dos A.; COSTA-NETO, S. V. da; SOUSA, M. do S. M. de; ADAIME, R.; LEMOS, L. do N. New host plants records of *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock, 1994 and *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in Brazil. **Entomological Communications**, v. 2, ec02036, 2020.

BESERRA, E. B.; FERNANDES, C. R. M.; SILVA, S. A. de O.; SILVA, L. A. da; SANTOS, J. W. dos. Efeito da temperatura no ciclo de vida, exigências térmicas e estimativas do número de gerações anuais de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Iheringia, Sér. Zool.* v.99, n.2, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0073-47212009000200004>

CASTILHO, A. P.; PASINATO, J.; SANTOS, J. E. V. dos; COSTA, A. e S. da; NAVA, D. E.; JESUS, C. R. de; ADAIME, R. Biology of *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae) on four hosts. *Revista Brasileira de Entomologia*, 63, 2019. p. 302-307.

DAMACENO, T. G.; MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S. Uso da classificação climática Thornthwaite em estimativa de nicho ecológico de *Bactrocera dorsalis* no Brasil. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 15., 2021, Campinas. *Anais...* Campinas: Instituto de Zootecnia, 2021. 12 p. Evento online. CIIC 2021.

DANJUMA, S.; THAOCHAN, N; PERMKAM, S. ; SATASOOK, C. Effect of temperature on the development and survival of immature stages of the carambola fruit fly, *Bactrocera carambolae*, and the Asian papaya fruit fly *Bactrocera papaya*, reared on guava diet. *Journal of Insect Science*, 14, issue 1, 2014. v.14, Issue 1, 2014. p.1-16 (Article 126).

FAVACHO, S. C. **Aspectos biológicos do parasitoide *Fopius arisanus* (Sonan) (Hymenoptera: Braconidae) em *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock (Diptera: Tephritidae)**. Macapá, AP: PPGBIO/PPPG-Universidade Federal do Amapá, 2019. 41p. (Dissertação Mestrado).

JACOMO, B. DE O.; MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S. Estimativa de nicho ecológico de *Anastrepha curvicauda* em território brasileiro por algoritmos de modelagem. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 15., 2021, Campinas. *Anais...* Campinas: Instituto de Zootecnia, 2021. 12 p.

JACOMO, B. DE O.; MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S. Avaliação do efeito do Threshold do Maxent em estimativas de áreas climáticas aptas a dois insetos-pragas exóticos. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 14., 2020, Campinas. *Anais...* Campinas: Embrapa Informática Agropecuária, 2020. 2 p.

JESUS-BARROS, C. R. de; MOTA JÚNIOR, L. de O.; COSTA, A. e S. da; PASINATO, J.; ADAIME, R. Fecundidade e longevidade de *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock (Diptera: Tephritidae). *Biotaemas*, v. 30, n. 4, p. 7-13, Dec. 2017.

JESUS-BARROS, C. R. de; ADAIME, R.; BARROS NETO, E. L. de. **Ocorrência estacional e estratificação vertical de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em goiabeiras (*Psidium guajava* L.) cultivadas em sistema agroflorestal no Amapá. Brasil**. Macapá: Embrapa Amapá, 2016. 22 p (Embrapa Amapá. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 93).

JESUS-BARROS, C. R. de; SILVA, R. A. da; LIMA, A. L.; BARIANI, A.; BOTTON, M.; PARANHOS, B. A. J. Avanços nas pesquisas sobre a mosca-da-carambola no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 26.; CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE ENTOMOLOGIA, 9., 2016, Maceió. *Anais...* Brasília, DF: Embrapa, 2016. p. 46.

LEMOS, L. do N.; ADAIME, R.; JESUS-BARROS, C. R. de; DEUS, E. da G. de Novos registros de *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae) no Brasil. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM, 1.; MEETING OF THE POST-GRADUATE PROGRAM IN TROPICAL BIODIVERSITY, 5., 2014, Macapá. Conservation conflicts: XXI century challenges and solutions: **abstract book**. Macapá: Unifap: Conservação Internacional: Embrapa, 2014. p. 51-52.

LIMA, A. L.; BARIANI, A.; JESUS-BARROS, C. R. de; COSTA, J. V. T. A.; MELÉM JUNIOR, N. J.; ADAIME, A. **Impactos da possível dispersão da mosca-da-carambola para regiões exportadoras de frutas.** Macapá, AP: Embrapa Amapá, 2018. 6p. (Nota Técnica. 001).

MINGOTI, R.; MARINHO-PRADO, J. S.; PESSOA, M. C. P. Y.; SIQUEIRA, C. DE A.; PARANHOS, B. A. J.; JESUS-BARROS, C. R. de. **Zoneamentos territoriais mensais de áreas brasileiras favoráveis a um maior desenvolvimento de *Bactrocera dorsalis*.** Campinas: Embrapa Territorial, 2022. 53p. (Embrapa Territorial. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 38).

MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; SIQUEIRA, C. DE A.; MARINHO-PRADO, J. S. Zoning map of favorable areas for the major occurrence of *Thaumastocoris peregrinus* in Brazil. **Journal of Agricultural Science and Technology A**, v. 11, p. 84-92, 2021a.

MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S.; SIQUEIRA, C. DE A.; RAMOS, G. G.; JACOMO, B. DE O. Zoneamentos mensais de áreas favoráveis a *Aleurocanthus woglumi* no Brasil. In: MOURA, P. H. A. (Org.). **Responsabilidade social, produção e meio ambiente nas ciências agrárias 2.** Ponta Grossa, PR: Atena, 2021b. p. 114-127. cap. 11. p. 114-127.

MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S.; SIQUEIRA, C. DE A.; RAMOS, G. G.; JACOMO, B. DE O.; DAMACENO, T. G. Áreas com favorabilidade mensal à ocorrência de Drosófila da Asa Manchada no Brasil. RIBEIRO, J. C. (Org.) **A face transdisciplinar das ciências agrárias.** Ponta Grossa, PR: Atena, 2021c. Cap. 21.

PASINATO, J.; REDAElli, R. L.; BOTTON, M.; JESUS-BARROS, C. R de Biology and fertility life table of *Bactrocera carambolae* on grape and acerola. **Revista Brasileira de Entomologia**, 63, 2019. p.217-223.

PEREIRA, M. J. B.; BERTI-FILHO, E. Exigências térmicas e estimativa do número de gerações da broca-do-fruto *Annona* (*Cerconota anonella*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.8, p.2278-2284, 2009.

PESSOA, M. C. P. Y.; AVILA, C. J.; FLUMIGNAN, D. L. LUCHINI, G. A.; BORGHESI, R. Estimativas de fases imaturas de *Helicoverpa armigera* em Dourados e Ponta Porã em apoio ao biocontrole. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO (SICONBIOL), 16., 2019a, Londrina. **Anais...** Londrina: SEB; UEL; Embrapa, 2019. p. 454.

PESSOA, M. C. P. Y.; AVILA, C. J.; MARINHO-PRADO, J. S.; LUCHINI, G. A.; SOUZA, E. C. S.; RICHETTI, A.; FLUMIGNAN, D. L. **Nível de dano de *Helicoverpa armigera* em fase vegetativa de soja (safra 2016/2017) em Ponta Porã.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2019b. 24p. (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 85).

PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S.; MINGOTI, R.; PRADO, S. de S.; LOVISI FILHO, E.; SA, L. A. N. de; SPADOTTO, C. A.; FARIAS, A. R. **Avaliação de potencial desenvolvimento de *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae) e de três bioagentes de controle exóticos em condições climáticas da Região Norte do Brasil - Estados do Amapá e Roraima.** Campinas: Embrapa Gestão Territorial, 2016. 2p. (Nota Técnica/Nota Científica).

PESSOA, M. C. P. Y.; PRADO, J. S. M.; MINGOTI, R.; LOVISI FILHO, E.; SILVA, A. de S.; MOURA, M. S. B. de; SILVA FILHO, P. P. da; SA, L. A. N. de; PRADO, S. de S.; SPADOTTO, C. A.; FARIAS, A. R. **Estimativas de potencial adaptação de *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock (Praga Quarentenária A2) - Estudo de caso para dois perímetros irrigados do Vale do Rio São Francisco.** Campinas, SP: Embrapa Gestão territorial 2016. 2 p. (Nota Técnica/Nota Científica).

PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S.; SÁ, L. A. N. de. **Avaliação do potencial desenvolvimento de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultivo de soja na região de Barretos - norte do estado de São Paulo.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, dez/2014. 27p. (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 63).

PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S.; SÁ, L. A. N. de. Desenvolvimento de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em tomateiro no sudoeste de São Paulo: avaliação por exigências térmicas. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 13., 2013, Bonito. Faça bonito: use controle biológico: **anais.** Brasília, DF: Embrapa, 2013. 1p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/98595/1/2013RA003.pdf>

PESSOA, M. C. P. Y. **Simulação e inteligência artificial aplicadas ao estudo da dinâmica populacional do bichado do algodoeiro na região de Campinas, SP.** Campinas: FEE/UNICAMP, 1994. 208f. (Tese Doutorado). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/209583/1/1994TS-Pessoa-Simulacao-2812.pdf>

SALVADORI, J. R.; PARRA, J. R. P. Efeito da temperatura na biologia e exigências térmicas de *Pseudaletia sequax* (Lepidoptera: Noctuidae), em dieta artificial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 25, n. 12, 1990. p.1693-1700,

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA-NOVA, N. A. **Manual de ecologia dos insetos.** São Paulo: Ceres, 1976. 419 p.

SOUZA, M. do S. M. de; SANTOS, J. C. R. dos; JESUS, C. R. de; YOKOMIZO, G. K. I.; DEUS, E. da G. de; PEREIRA, J. F.; ADAIME, R. Goiabeiras comuns contribuem para expansão da área de distribuição de *Bactrocera carambolae* na Amazônia brasileira. In: PACHECO, J. T. R.; KAWANISHI, J. Y.; NASCIMENTO, R. do (Org.). **Meio ambiente e desenvolvimento sustentável.** Ponta Grossa: Atena, 2019. cap. 18. p. 196-206. (Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável; v. 2).

CAPÍTULO 11

*Trichoderma COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO DE MUDAS DE *Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus brassiana* E *Corymbia citriodora**

Data de aceite: 03/04/2023

Alexandre Ribeiro da Mota

Secretaria de Planejamento e Gestão de
Minas Gerais, SEPLAG -SEE - MG
Unaí, MG
<http://lattes.cnpq.br/1726417830824290>

Rubens Ribeiro da Silva

Universidade Federal do Tocantins,
Campus Gurupi -TO
Gurupi -TO
<http://lattes.cnpq.br/0879504732456996>

Patrícia Aparecida de Souza

Universidade Federal de São João Del
Rei, Campus de Sete Lagoas - MG
Sete Lagoas - MG
<http://lattes.cnpq.br/8025237953087290>

Mayanne Alves Pereira

Secretaria da Agricultura, Pecuária e
Aquicultura do Tocantins
Palmas - TO
<http://lattes.cnpq.br/1333077344235223>

Aloisio Freitas Chagas Junior

Universidade Federal do Tocantins,
Campus Gurupi -TO
Gurupi -TO
<http://lattes.cnpq.br/9286795171322846>

Jacinto Pereira Santos

Universidade Federal do Tocantins,
Campus Gurupi-TO
Gurupi-TO
<http://lattes.cnpq.br/2776243556874187>

Priscila Bezerra de Souza

Universidade Federal do Tocantins,
Campus Gurupi -TO
Gurupi-TO
<http://lattes.cnpq.br/8018581823274021>

Evânia Galvão Mendonça

Universidade Federal de São João Del
Rei, Campus de Sete Lagoas - MG
Sete Lagoas - MG
<http://lattes.cnpq.br/6622750677574080>

Lillian França Borges Chagas

Doutorando na Universidade de Brasília.
<http://lattes.cnpq.br/6412767227344500>

Glauciana da Mata Ataíde

Universidade Federal de São João Del
Rei, Campus de Sete Lagoas - MG
Sete Lagoas - MG
<http://lattes.cnpq.br/8001032010519406>

André Ferreira dos Santos

Universidade Federal do Tocantins,
Campus Gurupi-TO
Gurupi-TO
<http://lattes.cnpq.br/4518510510661568>

RESUMO: O estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito de isolados de *Trichoderma* no crescimento inicial de *Eucalyptus brassiana*, *Eucalyptus urophylla* e *Corymbia citriodora* em condições de casa de vegetação. Foram utilizados cinco isolados de *Trichoderma* na concentração aproximada de 1×10^9 de conídios por grama de arroz colonizado, misturados ao substrato, utilizando-se tubetes com capacidade de 50 cm^3 . As espécies de *E. brassiana*, *E. urophylla* e *C. citriodora* foram avaliadas quanto à altura (H), comprimento de raiz (CR), diâmetro (DC), massa seca da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST). Avaliou-se também a eficiência relativa (ER) e Índice de Qualidade de Dickson (IQD). Todos isolados foram superiores ($p < 0,01$) a testemunha em H e MSPA do *E. urophylla*, apresentando variação de 9,4 a 56,2% de incremento em relação à testemunha aos 100 dias após a semeadura (DAS). Em *C. citriodora* o isolado UFT 205 foi superior ($p < 0,01$) a testemunha e aos demais isolados em MSPA, MST, ER e IQD aos 100 DAS. Na espécie *E. brassiana* os isolados UFT 203 e UFT 205 foram superiores estatisticamente a testemunha e aos demais isolados em MSPA, MST e ER aos 100 DAS. Para a espécie *E. urophylla* o isolado UFT 204 promoveu crescimento em H, DC, MSPA, MSR e MST, com 56,5; 13,2; 25; 26,5 e 25,3%, superior a testemunha, respectivamente. A inoculação de *Trichoderma* promoveu o crescimento inicial de mudas de *E. Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus brassiana* e *Corymbia citriodora*.

PALAVRAS-CHAVE: Bioestimulante. Produção de mudas. Silvicultura.

*Trichoderma AS A GROWTH PROMOTER OF SEEDLING *Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus brassiana* AND *Corymbia citriodora**

ABSTRACT: The study was conducted to evaluate the *Trichoderma* isolates effect on initial growth of *Eucalyptus brassiana*, *Eucalyptus urophylla* and *Corymbia citriodora* in greenhouse conditions. Five isolates of *Trichoderma* used at the approximate concentration of 1×10^9 conidia per gram of rice colonized mixed to the substrate, using tubes with a 50 cm^3 capacity. Species *E. brassiana*, *E. urophylla* and *C. citriodora* were evaluated for height (H), root length (RL), diameter (D), dry weight of shoot (DWS), root (DWR) and total (DWT). It was also evaluated the relative efficiency (RE) and Quality Dickson Index (QDI). All isolates were higher ($p < 0.01$) in the witness H and DWS *E. urophylla*, with variation from 9.4 to 56.2% increase compared to the control at 100 days after sowing (DAS). *C. citriodora* isolated UFT 205 was higher ($p < 0.01$) the witness and the other isolated in DWS, DWT, RE and QDI to 100 DAS. In the *E. brassiana* the UFT 203 and UFT 205 isolates were statistically higher than the witness and the other isolated in DWS, DWT and RE to 100 DAS. For *E. urophylla* isolated UFT 204 promoted growth in H, D, DWS, DWR and DWT, 56.5; 13.2; 25; 26.5 and 25.3%, higher than the control, respectively. Inoculation of *Trichoderma* promoted the initial growth of *Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus brassiana* and *Corymbia citriodora* seedlings.

KEYWORDS: Biostimulant. Seedling production. Forestry.

1 | INTRODUÇÃO

Em 2021 o Brasil atingiu o recorde de R\$30,1 bilhões no valor da produção florestal, com alta de 27,1%, em relação ao ano de 2020, com produção realizada em 4.884 municípios. Sendo que o valor da produção da silvicultura, que são as florestas plantadas, continua superando o da extração vegetal, desde a década de 90 (IBGE, 2021).

A área de florestas plantadas no país totalizou 9,5 milhões de hectares em 2021, com a participação de 3507 municípios que registraram área florestal plantada. O Eucalipto apresentou uma área plantada de 7,3 milhões de ha, o Pinus 1,8 milhões de ha, e outras espécies também de interesse comercial 380 mil ha (IBGE, 2021).

O Brasil destaca-se em todas as etapas do ciclo produtivo da eucaliptocultura, investindo em melhores técnicas de manejo, melhoramento genético e adaptabilidade ambiental, propiciando altos valores de crescimento e maior rendimento por hectare. Até o terceiro trimestre de 2022 o Brasil produziu 18.503 t de celulose; 8.257 t de papel; 5.248 m³ de painéis de madeira; e 2.628 t de carvão, (IBA, 2022).

As indústrias deste ramo comercial estão investindo e propiciando a expansão da eucaliptocultura em todos Estados brasileiros, devido ao país possuir condições climáticas, solo adequado e média pluviométrica adequada ao cultivo do eucalipto.

O Estado do Tocantins possui condições edafoclimáticas propícias ao desenvolvimento da eucaliptocultura e atualmente apresenta uma área plantada de cerca de 160 mil hectares com eucalipto, sendo que boa parte deste plantio se encontra em fase de corte (SEAGRO - TO, 2021). A alta rentabilidade juntamente a características climáticas favoráveis no Estado propiciam o aumento da área plantada, ano após ano (REDETO, 2012).

A eucaliptocultura é viável por apresentar características positivas em curto tempo de cultivo, podendo colaborar com a redução do desmatamento das florestas nativas. As espécies *Eucalyptus brassiana*, *Eucalyptus urophylla* e *Corymbia citriodora* são indicadas para regiões de baixa taxa pluviométrica, além da madeira apresentar características nobres, idade reduzida de corte, homogeneidade de matéria-prima, custo competitivo da madeira e possibilidade de usos múltiplos (IPEF 2005; SOUZA et al., 2009).

Atualmente micro-organismos como bactérias e fungos são mais utilizados para otimizar as produções agrícolas e silviculturais, combatendo fitopatógenos, solubilizando nutrientes e sintetizando hormônios de crescimento. Um desses micro-organismos capazes de proporcionar essa gama de benefícios são os fungos pertencentes ao gênero *Trichoderma* (HARMAN et al., 2004; HERMOSA et al., 2013).

Fungos do gênero *Trichoderma* apresentam vida livre, são classificados na sub-divisão Deuteromycotina, considerados importantes para inoculação em culturas agrícolas e estão entre os agentes de biocontrole e biofertilizantes mais estudados no mundo (VERMA et al.,

2007). Estes fungos atuam de forma direta e indireta, como controladores de fitopatógenos e promoção do crescimento vegetal, devido sua ampla gama de ação, como parasitismo e hiperparasitismo. São de fácil cultivo, por ser encontrado facilmente em diversos ambientes, possuem rápido crescimento em diferentes tipos de substratos, não são patogênicos ao homem e a plantas superiores (MERTZ et al., 2009; HERMOSA et al., 2013; WOO et al., 2014).

Possuem a capacidade de controlar a ação de patógenos das sementes, os quais sobrevivem no solo causando podridão, morte das plântulas e tombamento; protegem as partes subterrâneas das plantas contra ação de patógenos; melhora a taxa de germinação e o vigor das sementes; melhoram a absorção de nutrientes; promovem o crescimento e aumentam o rendimento das plantas (MACHADO et al., 2012; VERMA et al., 2007). Para Baugh e Escobar (2007), a ação do *Trichoderma* como estimulador do crescimento é complexa e realizada por interações com fatores bioquímicos e produção de diversas enzimas e compostos benéficos.

Algumas espécies pertencentes ao gênero *Trichoderma* tem efeito comprovado, como o *Trichoderma harzianum* na promoção de crescimento vegetal, solubilização de micro e macro nutrientes como Cu, Fe, Zn, Mn, Ca, P, combate a patógenos, síntese de hormônios como o ácido Idolacético e colonização rizosférica (CARVALHO FILHO et al., 2008; SAITO et al., 2009; LI et al., 2015). O *Trichoderma asperelloides*, coloniza a rizosfera, combate a fitopatógenos, induz resistência ao stress biótico e abiótico, síntese de hormônios ácido indolacético (AIA), ácido abscisico (ABA), ácido giberélico (GA), solubilização de macro e micro nutrientes como Cu, Fe, Mn, Ca, P (BROTMAN et al., 2013; GUPTA et al., 2014; ZHAO LEI et al., 2015). O *Trichoderma longibrachiatum* combate fitopatógenos e é capaz de resistir a stress em altas temperaturas (BATTAGLIA et al., 2013).

O uso do *Trichoderma* na produção de mudas de *Eucalyptus brassiana*, *Eucalyptus urophylla* e *Corymbia citriodora* pode reduzir custos com insumos, devido à atuação do micro-organismo em sintetizar hormônios, disponibilizar micro e macro nutrientes como P, Ca, Fe, Cu, Mn e Zn, além da proteção contra fitopatógenos.

A produção de mudas florestais tem crescido devido ao grande uso em plantio comercial e também em recuperação de áreas degradadas, com o aumento dessa demanda tem-se a necessidade de encontrar novas tecnologias ou biotecnologias para acelerar o crescimento e reduzir os gastos com uso de insumos durante o cultivo. Os estimulantes químicos apresentam somente controle temporário e usualmente necessitam de aplicações repetidas durante o crescimento da cultura, enquanto os bioestimulantes a base de *Trichoderma* são capazes de se estabelecer, colonizar e reproduzir no solo (SANTOS et al., 2008).

Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes espécies de *Trichoderma* spp. no crescimento inicial das espécies *Eucalyptus brassiana*, *Eucalyptus urophylla* e *Corymbia citriodora*.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Condução dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos no período de setembro de 2014 a janeiro de 2015, em casa de vegetação do viveiro florestal e no laboratório de microbiologia da Universidade Federal do Tocantins, *campus* de Gurupi, localizada sob as coordenadas 11°43'45" S e 49°04'07" N, e 280 m de altitude. Segundo a classificação de Köppen (KÖPPEN & GEIGER, 1928), o clima da região é Aw, definido como tropical quente e úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno.

Foram conduzidos três experimentos independentes, com as espécies *Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus brassiana* e *Corymbia citriodora*, sendo que os mesmos foram inoculados com diferentes espécies de *Trichoderma*.

O experimento foi feito em tubetes, com dimensões de 125 mm de altura, diâmetro superior de 2,8 cm, diâmetro inferior de 1,0 cm, contendo volume 50 cm³, totalizando 288 tubetes, que foram esterilizados conforme Alfenas (1999).

2.2 Origem e isolamento do gênero *Trichoderma*

Doze amostras de solo como fontes potenciais de inóculos de *Trichoderma* spp. foram coletadas em áreas da estação experimental da Universidade Federal do Tocantins, Campus Universitário de Gurupi (11°43'45" S e 49°04'07" W, 280 m de altitude média) e em áreas de várzea no município de Lagoa da Confusão - TO (10°47'37" S e 49°37'25" W, 200 m de altitude média). As amostras foram retiradas a uma profundidade de 0-10 cm no perfil do solo de diferentes cultivos e formas de plantio e, encaminhadas ao laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Tocantins, *Campus* Universitário de Gurupi, onde foram armazenadas em câmara fria.

Foram retiradas 1 g de cada amostra de solo e depositadas diretamente em placa de petri (9 cm de diâmetro), utilizando método de plaqueamento direto, com três repetições por amostra, em meio de Batata-dextrose-ágar (BDA - Prolab-Brasil: confeccionados em calda de 200 g de batata, 20 g de dextrose, 15 g de ágar e 1000 mL de água destilada), acrescido de Terramicina® - Pfizer (100 mg L⁻¹), para inibir o crescimento bacteriano no isolamento dos fungos pertencentes ao gênero *Trichoderma* e incubados em câmara de crescimento, tipo B.O.D. (Biochemical, Oxygen, Demand), a temperatura de 25 ± 2 °C com fotoperíodo de 12 horas, por sete dias, período necessário para o fungo colonizar a placa por inteiro (DIANESE et al., 2012).

Após sete dias, foram selecionadas as placas com colônias típicas do gênero *Trichoderma*, as mesmas se destacaram dos demais micro-organismos que cresceram na placa, por apresentarem características mais agressivas de crescimento, preenchendo mais da metade da placa de petri, além de se destacarem com uma coloração inicialmente branca e depois verde. De acordo com Domsch et al. (1980), a principal característica morfológica

do gênero *Trichoderma* é a presença de micélio, inicialmente de coloração branca e de crescimento rápido, à medida que vai se desenvolvendo torna-se cotonoso e compacto com esporos verdes. Para Saito et al. (2009), a coloração varia dependendo da quantidade de esporos e da pigmentação destes.

Para confirmação do gênero, as colônias foram transferidas para placas de petri com meio BDA e, após sete dias de incubação em câmara de crescimento a temperatura de 25 ± 2 °C com fotoperíodo de 12 horas foi realizada uma identificação preliminar, levando-se em consideração apenas as características morfológicas, com base em bibliografia especializada, com o auxílio de microscópio óptico (ZAFARI et al., 2004), onde pôde ser visto as estruturas do gênero *Trichoderma*, resultando em cinco isolados de diferentes coberturas vegetais (Tabela 1). Os isolados foram mantidos em refrigerador com repicagens periódicas em meio BDA e conservados em água, conforme metodologia de Castellani (PIRES et al., 2012), para sua melhor conservação.

Identificação dos isolados	Origem	Espécie cultivada
UFT 201	Lagoa da Confusão	Várzea natural ¹
UFT 202	Lagoa da Confusão	Várzea natural ¹
UFT 203	Lagoa da Confusão	Calopogônio (<i>Calopogonium mucunoides</i> D.) ²
UFT 204	Gurupi	Soja (<i>Glycine max</i> (L) Merrill)
UFT 205	Gurupi	Soja (<i>Glycine max</i> (L) Merrill)

¹ Várzea com árvores e vegetação arbustiva em zonas úmidas naturalmente. ²Cultivo em plantio convencional.

Tabela 1. Identificação, origem e espécie cultivada nos solos de onde foram obtidos os isolados de *Trichoderma*

Os isolados encontrados foram caracterizados pelo sequenciamento da região TEF (Translation Elongation Fator) e identificados pelos códigos de acesso no GenBank (Tabela 2) no Instituto Biológico de São Paulo.

Isolados	Identificação da Espécie	Acesso GenBank	Referência
UFT 201	<i>T. asperelloides</i> GJS 04-217	DQ381958	Samuels et al. (2010)
UFT 202	<i>T. harzianum</i> CIB T23	EU279989	Hoyos-Carvajal et al. (2009)
UFT 203	<i>T. harzianum</i> CIB T23	EU279989	Hoyos-Carvajal et al. (2009)
UFT 204	<i>T. longibrachiatum</i> DAOM 167674	EU280046	Hoyos-Carvajal et al. (2009)
UFT 205	<i>T. asperelloides</i> GJS 04-217	DQ381958	Samuels et al. (2010)

Tabela 2. Códigos de acesso no GenBank para os isolados de *Trichoderma* (Região TEF - translation elongation factor) utilizados neste estudo

2.3 Repicagem dos isolados

Os inóculos foram repicados e multiplicados em placa de petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (B.D.A) e incubado em B.O.D (Biochemical Oxygen Demand) a temperatura a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, por sete dias (DIANESE et al., 2012).

Para cada isolado utilizado foram necessários 200 g de arroz, umedecido com 120 mL de água destilada e colocado em saco plástico de prolipropileno com as seguintes dimensões: 42 cm de comprimento e 28 cm de largura. Os sacos com o arroz foram fechados e autoclavados a 121°C durante 60 minutos, após a autoclavagem do arroz, foram transferidos assepticamente cinco discos de isolados com o diâmetro de 8 mm para cada saco de arroz e incubado em B.O.D a temperatura de 25 ± 2 °C com fotoperíodo de 12 horas por sete dias. A cada dois dias, o arroz foi revolvido para facilitar a troca gasosa, quebra dos agregados micélios e aumentar a taxa de esporulação.

2.4 Quantificação dos Isolados

A quantificação do número de conídeos de *Trichoderma* foi feita colocando 1 g de arroz colonizado dentro de 10 mL de água esterilizada, e agitação por 60 segundos, e contagem posterior dos conídios em câmara de Neubauer em microscópio óptico. Foi utilizado no experimento a concentração de 1×10^9 de conídeos por grama de arroz colonizado (EMBRAPA, 2012).

2.5 Inoculação do substrato

Foram utilizados em cada tubete 100 g de substrato comercial Bioflora®, 1 g de arroz colonizado por *Trichoderma*, 1 g de adubo comercial osmocote com a formulação (19-06-10), apresentando em um grama de fertilizante osmoscote, 19% de Nitrogênio, 6% de fosforo e 10% de potássio. Os isolados foram misturados de forma homogênea ao substrato e adubo osmocote, em seguida colocados nos tubetes e permanecendo em casa de vegetação por sete dias para colonização deste substrato, para posterior semeadura. Para a testemunha, foi utilizado arroz comercial esterilizado e o adubo osmocote misturado ao substrato. Após sete dias em casa de vegetação, foram feitas as semeaduras com cinco sementes por tubete para as espécies *Eucalyptus brassiana*, *Eucalyptus urophylla* e *Corymbia citriodora*. No sétimo dia após a semeadura foram feitos os desbastes, deixando uma planta por tubete. O experimento foi irrigado diariamente por 100 dias.

2.6 Parâmetros morfológicos e delineamento

Cada experimento apresentou delineamento experimental inteiramente casualizado contendo seis tratamentos e 4 quatro repetições, sendo cinco tratamentos inoculados com isolados de *Trichoderma* e um tratamento testemunha sem inoculação. Foram feitas quatro avaliações, a primeira com 25 dias após a semeadura (DAS), a segunda com 50 DAS, a terceira com 75 DAS e quarta aos 100 DAS. Nas avaliações a parte aérea e raiz foram

acondicionadas em sacos de papel e levados para estufa de circulação forçada (65 a 70 °C) por 72 horas até atingir massa constante, para determinação da massa seca.

Os parâmetros morfológicos calculados foram altura (H), comprimento da raiz (CR), diâmetro do colo (DC), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST). Foram feitos cálculos de Índice de qualidade de Dickson (IQD) e eficiência relativa (ER).

A eficiência relativa foi calculada aos 100 DAS seguindo a fórmula (MSPA inoculada com os isolados / MSPA sem inoculante) x 100. O IQD foi determinado em função da altura (H), diâmetro do colo (DC), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) (DICKSON et al., 1960) feito seguindo a fórmula:

$$IQD = \frac{MST(g)}{H(cm) / DC(mm) + MSPA(g) / MSR(g)}$$

Os dados foram submetidos à análise de variância empregando-se o programa de análise estatística ASSISTAT versão 7.7 beta. As médias foram comparadas pelo teste Duncan a 1% ou 5% de probabilidade (SILVA, 2008).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 *Eucalyptus urophylla*

Para a espécie *E. urophylla*, avaliado aos 25 dias após a semeadura (DAS), todos os isolados foram superiores ($p<0,01$) a testemunha nos parâmetros H, CR, DC e MSPA (Tabela 3).

Isolados	H (cm)	CR (cm)	DC (mm)	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
25 DAS²						
Testemunha	1,37 c	6,42 b	0,38 c	0,029 d	0,010 b	0,040 c
UFT 201	2,60 b	13,12 a	0,65 b	0,036 ab	0,013 ab	0,049ab
UFT 202	3,15 a	11,25 a	0,70 b	0,038 ab	0,012 ab	0,050ab
UFT 203	2,47 b	12,75 a	0,69 b	0,032 cb	0,012 ab	0,044bc
UFT 204	3,30 a	13,37 a	0,82 a	0,039 a	0,018 a	0,055 a
UFT 205	3,02 a	13,25 a	0,70 b	0,033 bc	0,013 ab	0,046bc
C.V(%)	9,53**	14,01**	5,82**	8,75**	20,36 ns	10,95*
50 DAS						
Testemunha	6,45 d	12,00 b	1,12 c	0,11 e	0,043 c	0,15 d
UFT 201	9,87 c	15,47 a	1,35 ab	0,22 d	0,115 a	0,33 c
UFT 202	12,0 b	15,25 a	1,28 ab	0,25 c	0,101 b	0,35 c
UFT 203	12,6ab	14,57 a	1,27 b	0,26 c	0,091 b	0,35 c

UFT 204	14,4 a	15,37 a	1,36 a	0,31 a	0,122 a	0,44 a
UFT 205	11,3bc	15,10 a	1,33 ab	0,28 b	0,102 b	0,38 b
C.V(%)	11,9**	6,21 **	3,88**	6,16**	8,76**	5,67**
75 DAS						
Testemunha	29,4 c	13,75 c	2,46 f	1,47 c	0,41 c	1,89 d
UFT 201	33,0 b	14,37 bc	2,53 e	1,66 b	0,49 b	2,16 b
UFT 202	32,9 b	15,00 b	2,66 c	1,58 b	0,41 c	2,0 c
UFT 203	36,8 a	16,37 a	2,72 b	1,66 b	0,50 b	2,16 b
UFT 204	37,5 a	16,50 a	2,78 a	1,79 a	0,51 a	2,30 a
UFT 205	29,8 c	14,62 bc	2,6 d	1,49 c	0,50 b	2,0 c
C.V(%)	3,24**	4,89**	1,43**	3,42**	1,03**	2,77**
100 DAS						
Testemunha	32,0 e	15,00 a	3,18 d	2,00 c	0,64 b	2,64 b
UFT 201	45,25b	15,25 a	3,24 cd	2,51 a	0,80 a	3,31 a
UFT 202	37,2 c	15,00 a	3,34 b	2,51 a	0,78 a	3,29 a
UFT 203	36,2cd	15,00 a	3,31 bc	2,48 a	0,65 b	3,14 a
UFT 204	50,0 a	15,50 a	3,6 a	2,50 a	0,81 a	3,31 a
UFT 205	35,02d	15,25 a	3,23 cd	2,21 b	0,63 b	2,61 b
C.V(%)³	2,95**	5,04 ^{ns}	1,56**	3,94**	6,00**	6,46**

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan a 1%** ou 5%* de probabilidade. ² DAS = Dias após a semeadura. ³ Coeficiente de variação.

Tabela 3. Valores médios de altura (H), comprimento de raiz (CR), diâmetro do colo (DC), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) e massa seca total (MST) do *Eucalyptus urophylla* inoculado com *Trichoderma*

Os isolados UFT 202, UFT 204 e UFT 205 foram superiores ($p<0,01$) aos demais isolados no parâmetro altura (Tabela 3). Nesse parâmetro os isolados variaram o crescimento em 80,2 a 140,8% em relação à testemunha (Tabela 3).

Para o comprimento de raiz todos os isolados diferiram estatisticamente da testemunha, não diferindo estatisticamente entre si. Em DC o isolado UFT 204 foi superior ($p<0,01$) aos demais isolados com 115,7% em relação à testemunha aos 25 DAS. O isolado UFT 204 foi superior ($p<0,01$) aos isolados UFT 203 e UFT 205 em MSPA e superior ($p<0,05$) aos isolados UFT 203 e UFT 205 em MST (Tabela 3). Em MSR não houve diferença significativa ($p<0,01$) entre os tratamentos.

Aos 50 DAS todos os isolados foram superiores ($p<0,01$) a testemunha em todos os parâmetros avaliados (Tabela 3). O isolado UFT 204 foi superior ($p<0,01$) aos isolados UFT 201, UFT 202 e 205 no parâmetro H, apresentando aumento de 123,2% em relação à testemunha. Para DC, aos 50 DAS, o isolado UFT 204 foi superior ($p<0,01$) ao isolado UFT 203, não diferindo estatisticamente dos demais isolados. Em MSPA e MST o isolado UFT 204 foi superior ($p<0,01$) a todos os tratamentos, e em MSR o isolado UFT 204 e o isolado

UFT 201 foram superiores ao demais ($p<0,01$). O isolado UFT 204 apresentou aumentos de 21,4; 181,8; 183,7 e 193,3% em DC, MSPA, MSR e MST, respectivamente, superiores a testemunha (Tabela 3).

Aos 75 DAS, no parâmetro H e CR os isolados UFT 203 e UFT 204 foram superiores ($p<0,01$) a testemunha e os demais isolados (Tabela 3). Em DC e MST todos os isolados foram superiores ($p<0,01$) a testemunha, sendo o isolado UFT 204 superior ($p<0,01$) entre os isolados, apresentando 13 e 21,6%, respectivamente, superior à testemunha, em MSPA, MSR o isolado UFT 204 foi superior ($p<0,01$) aos outros isolados e a testemunha.

Aos 100 DAS, os isolados foram superiores ($p<0,01$) a testemunha em H e MSPA (Tabela 3). O isolado UFT 204 foi superior ($p<0,01$) a testemunha e os demais isolados em H e DC. Para CR não houve diferença significativa. Em MSPA os isolados UFT 201, UFT 202, UFT 203 e UFT 204 foram superiores ($p<0,01$) aos demais. Para MSR, os isolados UFT 201, UFT 202 e UFT 204 foram superiores ($p<0,01$) aos demais. Para MST os isolados UFT 201, UFT 202, UFT 203 e UFT 204 foram superiores ($p<0,01$) aos demais (Tabela 3).

Quanto a eficiência relativa (ER), que relaciona a MSPA dos tratamentos inoculados com *Trichoderma* com o tratamento testemunha sem inoculação, foi encontrado valor superior ($p<0,01$) para os tratamentos inoculados com *Trichoderma*, com variação do aumento de 11 a 26% em relação a testemunha (Figura 1).

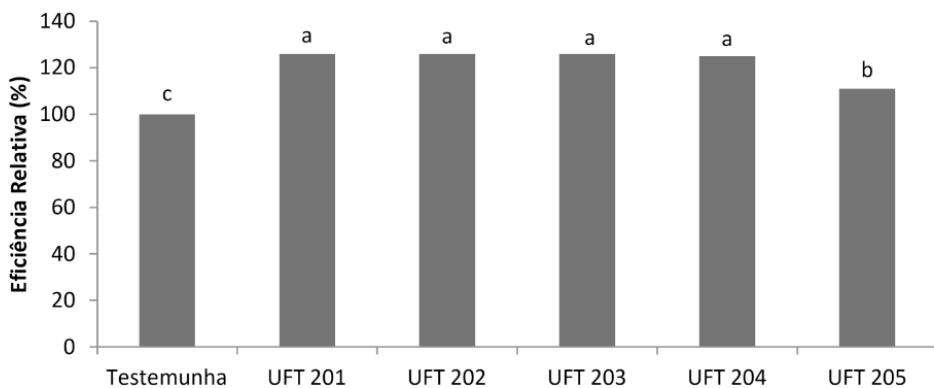


Figura 1. Eficiência relativa na cultura de *Eucalyptus urophylla* inoculadas com *Trichoderma*. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem entre si pelo teste Duncan a 5% de significância.

Santos et al. (2013) obtiveram aos 60 dias 7,59 cm, 0,68 mm e 7,59 cm em altura, diâmetro do colo e comprimento de raiz, respectivamente, para a espécie *Eucalyptus urophylla*. A mesma espécie cultivada com *Trichoderma longibrachiatum* (UFT 204) aos 50 dias após a semeadura (DAS) foi superior em 90, 12, e 100% respectivamente, em relação aos resultados de Santos et al. (2013) para os mesmos parâmetros avaliados.

Petter et al. (2012) avaliando diferentes tipos de substratos em *Eucalyptus urophylla* com tubetes de 100 cm³, aos 75 dias obteveram 14,4 cm em altura e 0,96 mm em DC. O isolado *Trichoderma Longibrachiatum* (UFT 204) no mesmo período de avaliação, com tubete de volume 50 cm³, apresentou desempenho superior em 160% e 189%, respectivamente, para os mesmos parâmetros avaliados nessa espécie em relação aos dados de Petter et al. (2012).

3.2 *Corymbia citriodora*

Em *C. citriodora* os isolados foram superiores ($p<0,01$) a testemunha em todos os parâmetros avaliados aos 25 DAS (Tabela 4). Para a altura o isolado UFT 205 foi superior ($p<0,01$) aos demais não diferindo apenas do isolado UFT 201. Em CR todos os isolados foram superiores ($p<0,01$) a testemunha variando entre 10,2% a 16,7%.

Isolados	H (cm)	CR (cm)	DC (mm)	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
25 DAS						
Testemunha	5,42 d	13,7 b	0,72 d	0,08 c	0,02 c	0,10 d
UFT 201	7,1 ab	15,2 a	0,90 c	0,11 b	0,04 ab	0,15 bc
UFT 202	6,07 c	15,1 a	0,91 c	0,10 b	0,039 ab	0,14 c
UFT 203	6,9 b	15,3 a	0,88 c	0,10 b	0,038 b	0,14 c
UFT 204	6,6 b	15,2 a	0,97 b	0,12 a	0,04 a	0,16 a
UFT 205	7,5 a	16 a	1,06 a	0,12 a	0,036 b	0,16 ab
C.V(%)	5,48**	3,86**	4,5**	7,84**	10,62**	7,04**
50 DAS						
Testemunha	9,7 c	15,5 b	1,31 b	0,24 e	0,07 d	0,32 d
UFT 201	12,3 b	16,5 a	1,43 a	0,36 d	0,10 c	0,47 c
UFT 202	13 ab	16,7 a	1,38 ab	0,42 ab	0,12 b	0,55 b
UFT 203	13 ab	16,5 a	1,38 ab	0,38 cd	0,12 ab	0,51 b
UFT 204	12,3 b	17 a	1,40 a	0,4 bc	0,12 b	0,53 b
UFT 205	14,1 a	16,5 a	1,44 a	0,45 a	0,13 a	0,58 a
C.V(%)	6,2**	3,72*	3,5 *	5,83**	5,23**	5,21**
75 DAS						
Testemunha	32,7 d	16,25 a	2,94 b	1,64 c	0,41 c	2,05 c
UFT 201	35,7bc	16,5 a	3,08 ab	1,77 b	0,47 ab	2,25 b
UFT 202	34,3cd	15,7 a	3,01 b	1,74 bc	0,43 bc	2,17 b
UFT 203	37,6 b	15,5 a	3,1 ab	1,76 bc	0,49 a	2,26 b
UFT 204	40 a	16,5 a	3,22 a	2,22 a	0,46 ab	2,73 a
UFT 205	34,7cd	16,25 a	3 b	1,73 bc	0,45 ab	2,18 b
C.V(%)	4,15**	4,45 ns	3,3*	4,34**	6,13**	3,38**
100 DAS²						

Testemunha	42,75b	16 a	3,16 b	2,13 e	0,7 c	2,84 e
UFT 201	43 b	16 a	3,2 b	2,29 d	0,8 ab	3,12 cd
UFT 202	43 b	16 a	3,24 ab	2,84 b	0,87 a	3,71 b
UFT 203	39 c	15,5 b	3,19 b	2,14 de	0,77 ab	2,92 de
UFT 204	44 ab	16 a	3,32 a	2,55 c	0,75 bc	3,31 c
UFT 205	46 a	16 a	3,20 b	3,73 a	0,82 ab	4,56 a
C.V(%)³	3,4**	1,48*	1,82*	3,86**	7,32*	4,19**

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Duncan a 1%** ou 5%* de probabilidade. ² DAS = Dias após o semeadura. ³ Coeficiente de variação.

Tabela 4. Valores médios de altura (H), comprimento de raiz (CR), diâmetro do colo (DC), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) e massa seca total (MST) de *Corymbia citriodora* inoculado com *Trichoderma*¹

Para o DC aos 25 DAS, o isolado UFT 205 foi superior ($p<0,01$) aos demais isolados, sendo 47,2% superior à testemunha (Tabela 4). Para MSR, o isolado UFT 204 foi superior ($p<0,01$) aos isolados UFT 203 e UFT 205 e a testemunha. Os isolados UFT 204 e UFT 205 foram superiores ($p<0,01$) aos demais isolados em MSPA, apresentando aumento de 50% em relação à testemunha. Em MST os isolados UFT 204 foi superior aos demais ($p<0,01$) com aumento de 60% em relação à testemunha.

Aos 50 DAS todos os isolados foram superiores ($p<0,01$) a testemunha nos parâmetros H, CR, MSPA, MSR e MST (Tabela 4). O isolado UFT 205 foi superior ($p<0,01$) aos isolados UFT 201 e UFT 204 no parâmetro altura, apresentando desempenho de 44,3% superior à testemunha. Em CR os tratamentos com a inoculados dos isolados apresentaram de 6,4 a 9,6% superiores à testemunha. Em DC os isolados UFT 201, UFT 205 e UFT 204 foram superiores ($p<0,05$) a testemunha, variando 6,8 a 9,5% (Tabela 4).

O isolado UFT 205 foi superior ($p<0,01$) aos isolados UFT 201, UFT 203 e UFT 204 em MSPA e foi superior em MSR ($p<0,01$) aos isolado UFT 201, UFT 202 e UFT 204, apresentando aumentos em relação à testemunha de 87,5% para MSPA e 85,7% para MSR (Tabela 4). Para a MST o isolado UFT 205 foi superior ($p<0,01$) a todos isolados, 81,5% superior em relação à testemunha.

Para avaliação aos 75 DAS na variável H, MSPA e MST o isolado UFT 204 apresentou médias superiores ($p<0,01$) a testemunha e a todos isolados, com aumentos de 22,3% sobre a testemunha em H, 35,6% em MSPA e 33,17% em MST (Tabela 4). Em DC o isolado UFT 204 diferiu estatisticamente da testemunha e dos isolados UFT 202 e UFT 205 apresentando-se 9,5% superior à testemunha. Em MSR o isolado UFT 204 juntamente com os isolados UFT 201, UFT 203 e UFT 205 foram superiores ($p<0,01$) a testemunha.

Aos 100 DAS, o isolado UFT 205 foi superior ($p<0,01$) a testemunha e demais isolados em MSPA e MST. Em altura o UFT 205 foi superior estatisticamente aos isolados UFT 201, UFT 202 e UFT 203 e a testemunha. Em DC o isolado UFT 204 foi superior ($p<0,01$) a testemunha e aos isolados UFT 201, UFT 203 e UFT 205. Para MSR o UFT 202 foi superior

($p<0,05$) a testemunha e ao UFT 204.

Quanto á eficiência relativa (ER) os isolados UFT 201, UFT 202, UFT 204 e UFT 205 foram superiores ($p<0,01$) a testemunha, sendo que o isolado UFT 205 diferiu estatisticamente dos demais isolados com aumento de 33% em relação a testemunha (Figura 2).

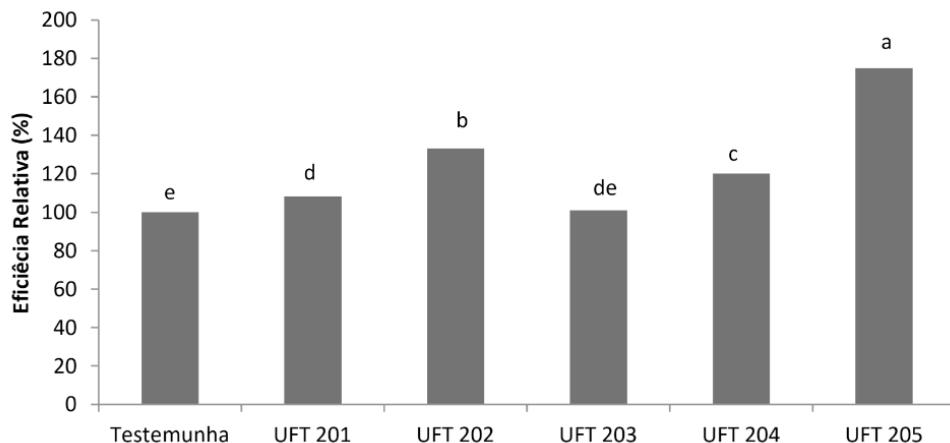


Figura 2. Eficiência relativa na cultura de *Corymbia citriodora* inoculadas com *Trichoderma*. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem entre si pelo teste Duncan a 1% ou 5% de significância.

Aos 90 dias com tubetes de volume 50 cm³ Oliveira et al. (2014) avaliando diferentes substratos encontraram o melhor resultado para espécie *Corymbia citriodora* no parâmetro altura de 11,24 cm e 0,371 g em massa seca de parte aérea. O isolado *Trichoderma asperelloides* (UFT 205) aos 50 dias após a semeadura (DAS) foi superior em 25,4% em altura e 21,3% em MSPA aos resultados de Oliveira et al., (2014).

Bernadi et al. (2012) avaliando o crescimento de mudas de *C. citriodora* em função do uso de hidrogel e adubação com substrato comercial indicado para a espécie e tubetes com volume de 50 cm³ aos 126 dias obtiveram o melhor resultado para altura de 16,42 cm e DC de 2,29 mm. O *Trichoderma longibrachiatum* (UFT 204) aos 75 DAS foi superior 140,6% em H, e 40,6% em DC aos dados de Bernadi et al. (2012).

Petter et al. (2012) avaliando o produto biochar como condicionador de substrato para produção de mudas de *Corymbia citriodora* utilizando tubetes de volume de 100 cm³ observaram maior altura com 21,7 cm e maior DC com 2,29 mm, aos 120 dias. Aos 100 DAS o *Trichoderma longibrachiatum* (UFT 204) foi maior, mesmo com tubetes de menor volume, sendo superior 102,7% e 44,9 %, respectivamente em H e DC em relação aos dados de Petter et al. (2012).

3.3 *Eucalyptus brassiana*

Avaliando aos 25 DAS para o parâmetro altura o isolado UFT 204 foi superior estatisticamente a testemunha e aos isolados UFT 201 e UFT 203, apresentando aumento de 42,6% em relação à testemunha (Tabela 5). Em DC o isolado UFT 204 foi superior ($p<0,01$) a testemunha em 27,7%.

Isolados	H (cm)	CR (cm)	DC (mm)	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
25 DAS						
Testemunha	3,68 cd	10,25 c	0,72 b	0,03 bc	0,013cd	0,046b
UFT 201	4,07 bc	12,12 b	0,72 b	0,02 cd	0,020 ab	0,047b
UFT 202	4,52 ab	13,87 a	0,77 b	0,056 a	0,026 a	0,082 a
UFT 203	3,12 d	9,92 c	0,73 b	0,012 d	0,009 d	0,021 c
UFT 204	5,25 a	13,37ab	1,07 a	0,04 ab	0,018 bc	0,065ab
UFT 205	4,47 ab	13,5 ab	0,92 ab	0,047ab	0,025 a	0,072 a
C.V(%)	12,06**	7,88**	15,14**	29,9**	23,59**	24,6**
50 DAS						
Testemunha	10,4 cd	14,2 a	1,53 b	0,29 c	0,07 c	0,37 c
UFT 201	10,0 d	12,2 b	1,36 c	0,25 d	0,06 c	0,31 d
UFT 202	11,7 bc	15,0 a	1,30 c	0,28 c	0,06 c	0,34 cd
UFT 203	13,6 a	14,2 a	1,70 a	0,34 b	0,11 a	0,47 b
UFT 204	12,2 ab	14,7 a	1,67 a	0,41 a	0,11 a	0,53 a
UFT 205	13,5 a	15,2 a	1,50 b	0,35 b	0,09 b	0,44 b
C.V(%)	8,61**	7,69*	4,09**	5,14**	10,6**	5,9**
75 DAS						
Testemunha	34 cd	14,0 d	2,88 bc	1,99 b	0,63 c	2,63 c
UFT 201	34 c	14,7 c	2,7 c	1,73 c	0,45 de	2,19 d
UFT 202	32 d	15,8 ab	3,0 ab	2,07 b	0,76 a	2,84 b
UFT 203	37 b	15,0 c	2,9 b	1,79 c	0,43 e	2,22 d
UFT 204	40 a	15,2 bc	3,2 a	2,47 a	0,72 b	3,20 a
UFT 205	37 b	16,2 a	2,9 b	1,71 c	0,47 d	2,19 d
C.V(%)	3,2**	3,27**	4,3**	3,7 **	3,7**	3,06**
100 DAS²						
Testemunha	37 c	15 ab	3,06 c	2,07 b	0,88 ab	2,95 b
UFT 201	33 d	14,7 ab	3,35 ab	1,54 d	0,79 c	2,25 c
UFT 202	43 b	14,2 b	3,37 a	1,78 c	0,64 c	2,42 c
UFT 203	39 c	14,5 ab	2,98 c	2,81 a	0,96 a	3,77 a
UFT 204	40 c	15 ab	3,17 bc	2,21 b	0,66 c	2,87 b
UFT 205	48 a	15,5 a	3,01 c	2,96 a	0,84 b	3,8 a

C.V(%) ³	5,8**	3,73 ^{ns}	3,8**	5,25**	8**	5,39**
---------------------	-------	--------------------	-------	--------	-----	--------

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Duncan a 1% ** ou 5%* de probabilidade. ² DAS = Dias após a semeadura. ³ Coeficiente de variação. Em MSR os isolados UFT 202 e UFT 205 foram superiores ($p<0,01$) a testemunha e aos isolados UFT 203 e UFT 204, com aumentos de 92,3 e 100%, respectivamente, em relação à testemunha. Para MST os dois isolados foram 56,5 e 78% superior à testemunha, respectivamente, aos 25 DAS (Tabela 5).

Tabela 5. Valores médios de altura (H), comprimento de raiz (CR), diâmetro do colo (DC), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) e massa seca total (MST) de *Eucalyptus brassiana* inoculado com *Trichoderma*¹

Aos 50 DAS, no parâmetro H os isolados UFT 203, UFT 204 e UFT 205 foram superiores ($p<0,01$) a testemunha variando em 17,3 a 30,7% (Tabela 5). Para o CR, nenhum isolado foi superior estatisticamente à testemunha. Quanto ao DC, os isolados UFT 203 e UFT 204 foram superiores ($p<0,01$) a testemunha e aos outros isolados. O isolado UFT 204 foi superior ($p<0,01$) a testemunha e aos demais isolados em MSPA e MST, apresentando desempenho superior à testemunha de 41,3% em MSPA e 43,2% em MST (Tabela 5).

Aos 75 DAS o isolado UFT 204 foi superior ($p<0,01$) a testemunha aos demais isolados em H, MSPA, e MST com superioridade de 17,6, 24,12 e 21,6%, respectivamente, em relação à testemunha (Tabela 5). Para o DC o isolado UFT 204 foi superior ($p<0,01$) a testemunha e aos isolados UFT 201, UFT 203 e UFT 205, apresentando aumento de 11,1% em relação à testemunha. Para massa seca de raiz o UFT 202 foi superior ($p<0,01$) a testemunha e aos demais isolados com 20,6% superior a testemunha (Tabela 5).

Aos 100 DAS, o isolado UFT 205 diferiu estatisticamente da testemunha e dos outros isolados em H (Tabela 5). Em CR não houve diferença significativa dos isolados em relação a testemunha. Para DC o isolado UFT 202 foi superior ($p<0,01$) a testemunha. Em MSPA e MST os isolados UFT 203 e UFT 205 foram superiores ($p<0,01$) a testemunha e aos demais isolados (Tabela 5).

Para a eficiência relativa do *E. brassiana*, os isolados UFT 203 e UFT 205 foram superiores ($p<0,01$) a testemunha e demais isolados, com variação de 36 a 46%, respectivamente, em relação a testemunha (Figura 3).

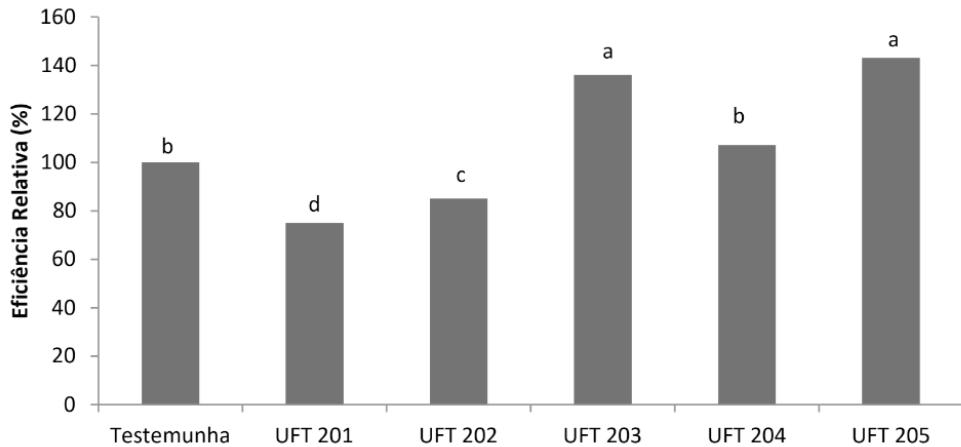


Figura 3. Eficiência relativa na cultura de *Eucalyptus brassiana* com *Trichoderma*. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem entre si pelo teste Duncan a 1% ou 5% de significância.

3.4 Índice de Qualidade de Dickson

Para o índice de qualidade de Dickson (IQD), para a espécie *E. urophylla*, o isolado UFT 204 foi superior ($p<0,05$) a testemunha e obteve melhor média entre os isolados aos 25 DAS (Tabela 6). Na espécie *C. citriodora* o mesmo isolado UFT 204 foi superior estatisticamente à testemunha e todos outros isolados (Tabela 6). Para a espécie *E. brassiana* os isolados UFT 202 e UFT 205 foram superiores ($p<0,01$) a testemunha e aos isolados UFT 201 e UFT 203, apresentando desempenho estatisticamente igual ao UFT 204 (Tabela 6).

Aos 50 DAS, todos os isolados foram superiores ($p<0,01$) a testemunha na espécie *E. urophylla* e *C. citriodora*. Na espécie *E. brassiana* o isolado UFT 204 foi superior estatisticamente a testemunha e a todos os isolados, com 63% de superioridade em relação à testemunha. Na espécie *E. urophylla* o isolado UFT 201 foi superior ($p<0,01$) aos isolados UFT 202 e UFT 203, e apresentou desempenho estatisticamente igual ao UFT 204 e UFT 205. Em *C. citriodora* os isolados UFT 204 e UFT 205 foram superiores ($p<0,01$) aos isolados UFT 201 e UFT 203 e testemunha, variando de 46,6 a 50%, respectivamente, em relação à testemunha (Tabela 6).

IQD			
Isolados	E.urophylla	C.citriodora	E.brassiana
25 DAS			
Testemunha	0,0063 b	0,010 c	0,0061 bc
UFT 201	0,0077 ab	0,014 b	0,0067 bc
UFT 202	0,0066 b	0,015 b	0,0103 a
UFT 203	0,0070 ab	0,013 b	0,0039 c
UFT 204	0,0086 a	0,017 a	0,0087 ab
UFT 205	0,0067 b	0,015 b	0,0109 a
C.V(%)	13,87*	6,93**	25,85**
50 DAS			
Testemunha	0,018 d	0,03 d	0,03 c
UFT 201	0,036 a	0,03 c	0,02 d
UFT 202	0,030 bc	0,043 ab	0,02 d
UFT 203	0,027 c	0,040 bc	0,040 b
UFT 204	0,033 ab	0,044 a	0,049 a
UFT 205	0,034 ab	0,045 a	0,03 c
C.V(%)	10,17**	4,61**	5,66**
75 DAS			
Testemunha	0,121 d	0,13 c	0,17 c
UFT 201	0,132 bc	0,14 b	0,13 d
UFT 202	0,123 d	0,14 bc	0,21 a
UFT 203	0,128 c	0,14 b	0,13 d
UFT 204	0,135 ab	0,15 a	0,20 b
UFT 205	0,138 a	0,14 bc	0,13 d
C.V(%)	2,06**	3,01**	4,5**
100 DAS²			
Testemunha	0,201 c	0,12 e	0,2 b
UFT 201	0,194 c	0,14 cd	0,18 b
UFT 202	0,229 a	0,19 b	0,15 c
UFT 203	0,213 b	0,13 de	0,23 a
UFT 204	0,195 c	0,15 c	0,18 b
UFT 205	0,198 c	0,23 a	0,19 b
C.V(%)³	3,66**	7,34**	8,3**

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Duncan a 1%** ou 5%* de probabilidade. ² DAS = Dias após a semeadura. ³ Coeficiente de variação.

Tabela 6. Valores médios do Índice de qualidade de Dickson (IQD) nas espécies *Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus brassiana*, *Corymbia citriodora* aos 25, 50, 75 e 100 dias após a semeadura cultivados com *Trichoderma*¹

Aos 75 DAS, o isolado UFT 205 apresentou IQD superior ($p<0,01$) à testemunha e aos isolados UFT 201, UFT 202 e UFT 203 na espécie *E. urophylla*, com 14% superior em relação à testemunha (Tabela 6). Em *C. citriodora* o IQD do isolado UFT 204 foi superior ($p<0,01$) a testemunha e aos demais isolados. Na espécie *E. brassiana* o isolado UFT 202 foi superior ($p<0,01$) a testemunha e aos demais isolados, com desempenho de 23,5% em relação à testemunha, para o IQD aos 75 DAS.

Para o IQD aos 100 DAS, em *E. urophylla* os isolados UFT 202 foi superior estatisticamente à testemunha e aos demais isolados (Tabela 6). Em *C. citriodora* o isolado UFT 205 foi superior estatisticamente a todos os tratamentos, em *E. brassiana* o UFT 203 foi o único isolado superior ($p<0,01$) a testemunha.

O Índice de qualidade de Dickson (IQD) é utilizado para atestar a qualidade de mudas levando em consideração vários parâmetros morfológicos como altura, diâmetro do colo, massa seca de raiz, massa seca de parte aérea, massa seca total e a relação entre eles, quanto maior for o valor do IQD, melhor será a qualidade da muda (VIDAL et al., 2006).

O IQD pode apresentar variação em função da espécie, manejo das mudas no viveiro, tipo e proporção do substrato, volume do recipiente e idade em que ocorre a avaliação da muda (CALDEIRA et al., 2013).

Conforme observado em outros trabalhos sem utilização de micro-organismos, cada espécie tem um IQD ideal específico, Oliveira Junior et al. (2011) encontraram aos 100 dias o valor de 0,11 para *E. urophylla*, para a espécie *C. citriodora*, Steffen et al. (2011) encontraram o valor médio de 0,20. O valor do IQD que o isolado UFT 202 apresentou foi duas vezes maior ao valor que Oliveira Junior et al. (2011) relataram para espécie *E. urophylla*. Para a espécie *C. citriodora* o isolado UFT 205 apresentou o valor de IQD de 0,23, superior a média encontrada por Steffen et al. (2011) que foi de 0,20 aos 100 dias após a semeadura.

4 | DISCUSSÃO POR ISOLADOS AOS 100 DIAS APÓS A SEMEADURA (DAS)

4.1 *Trichoderma harzianum* (UFT 202 e UFT 203)

Os fungos promotores de crescimento possuem mecanismos específicos que podem variar conforme o ambiente, o tipo de substrato, a disponibilidade de nutrientes e interferências de outros micro-organismos, fatores climáticos, espécie de vegetal, etc.

Para a espécie *Eucalyptus urophylla* o isolado *T. harzianum* (UFT 202) apresentou desenvolvimento superior em MSPA, MST e IQD, diferindo significativamente da testemunha, em 25,5, 14,6 e 14%, respectivamente, (Tabelas 3 e 6). Na espécie *Corymbia citriodora* o mesmo isolado foi superior em CR e MSR, apresentando 2,5% e 24% de superioridade em relação à testemunha (Tabela 4). Para espécie *Eucalyptus brassiana* em DC o UFT 202 foi superior ($p<0,01$) a testemunha e aos isolados UFT 203 e UFT 204, com 10,1% em relação à testemunha (Tabela 5).

O *T. harzianum* (UFT 203) na espécie *E. urophylla* apresentou crescimento superior

em MSPA e MST de 24% e 6%, maior em relação a testemunha, respectivamente (Tabela 3). Na espécie *E. brassiana* o UFT 203 foi superior em MSPA, MSR, MST e IQD com 35,7, 9,1, 15 e 15%, respectivamente, maior que a testemunha (Tabela 5 e 6, Figura 4).



Figura 4. Parte aérea e raiz da espécie *Eucalyptus brassiana* aos 100 DAS. A1) parte aérea da testemunha X parte aérea com isolado UFT 203. A2) raiz da testemunha X raiz com isolados UFT 203.

Carvalho Filho et al. (2008) com isolado *T. harzianum* (CEM 262) em *Eucalyptus urograndis* obtiveram incremento em H, MSR, MSPA de 43,5; 145,4 e 137,4%, respectivamente. Na espécie *Eucalyptus camadulensis* os ganhos foram de 23,2; 37,5 e 114,2%, respectivamente, para as mesmas variáveis em relação a testemunha.

Li R-X et al. (2015) demonstraram que o *T. harzianum* induziu o crescimento tanto de parte aérea quanto de raiz, devido ao seu potencial em melhorar a absorção dos nutrientes P, Fe, Mn, Cu, e Zn, além de solubilizá-los através da atividade de acidificação, redox e hidrólise, mostrando interação planta x isolado.

Carvalho Filho et al. (2008) analisaram o efeito do isolado *T. harzianum* (CEM 262) em *E. urograndis* em laboratório e encontraram a capacidade de síntese de ácido Idol-3-acético (AIA) por este isolado, e em casa de vegetação a colonização endofítica das raízes pelo isolado, reportando o crescimento vegetal a essas características apresentadas pelo isolado.

A colonização endofítica da raiz por *Trichoderma* promove maior crescimento não somente pela solubilização de nutrientes, mas também devido ao combate a fitopatógenos, como por exemplo, o causador da vassoura da bruxa (*Crinipellis perniciosa*), tombamento (*Rhizoctonia solani*), mofo dos grãos (*Aspergillus flavus*), podridão rosada da espiga (*Fusarium moniliforme*), mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) (MARCO et al., 2003; VERMA et al., 2007).

4.2 *Trichoderma asperelloides* (UFT 201 e UFT 205)

O *T. asperelloides* (UFT 201) na espécie *E. urophylla* foi superior em MSPA, MSR e MST, diferindo significativamente da testemunha em 25,5; 25; e 25,3%, respectivamente (Tabela 3). O mesmo isolado na espécie *E. brassiana* apresentou superioridade em DC de 9,4% em relação a testemunha (Tabela 5).

Para o *T. asperelloides* (UFT 205) na espécie *C. citriodora* apresentou desempenho superior em H, MSPA, MSR, MST e IQD com 7,6; 75,1; 17; 60,5; e 91,6%, respectivamente, maior que a testemunha (Figura 5). Na espécie *E. brassiana* o mesmo isolado foi superior em H, MSPA, MST com 29,7; 42,9; e 28,8%, respectivamente, superior em relação a testemunha (Tabela 4 e 6).

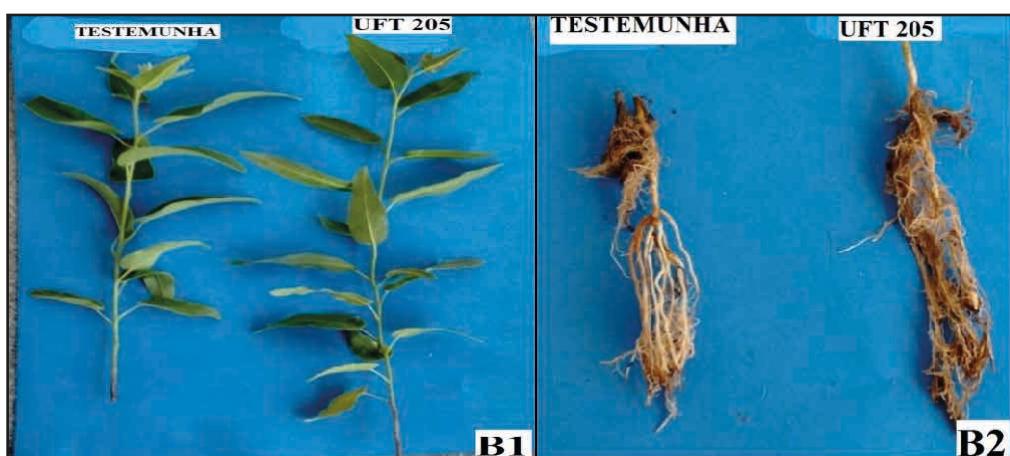


Figura 5. Parte aérea e raiz da espécie *Corymbia citriodora* aos 100 DAS. B1) parte aérea da testemunha X parte aérea com isolado UFT 205. B2) raiz da testemunha X raiz com isolados UFT 205.

Carvalho Filho et al. (2008) utilizaram o *T. asperelloides* (CEM 162) para a espécie *E. urograndis* híbrido G-100, observaram que a H, MSPA e MSR foram superiores a testemunha em 25,9; 120 e 136%, respectivamente. Na espécie *E. camadulensis* a H e MSPA foram superiores em 28,9% e 42% em relação a testemunha.

A colonização da raiz por isolados de *T. asperelloides* pode promover o crescimento tanto da parte aérea quanto da raiz, devido à atuação do isolado na solubilização de fósforo e sideróforos, como reportado por Zhao et al. (2015). Por viverem em simbiose com as raízes, o fungo *Trichoderma* também podem secretar metabólitos secundários, cuja função é proteger a planta contra fitopatógenos, como o *Fusarium oxysporum* (GRUPTA et al., 2014) e aumentam a capacidade da planta em suportar stress abiótico, como o salino e hídrico (BROTMAN et al., 2013).

O *Trichoderma asperelloides* possui a capacidade de produzir ácido indol-3- acético (AIA), ácido giberélico (GA) e ácido abscisico (ABA) (ZHAO LEI et al., 2015). A auxina é

um fitohormônio que regula o crescimento vegetal, atuando no desenvolvimento de caule, dominância apical, aumento de raízes laterais e abscisão foliar (TAIZ e ZEIGER, 2009). As giberelinas atuam na germinação de sementes e alongamento do caule (ROSS, 1984; STEFANINI et al., 2002). O efeito do ácido abscisico (ABA) está relacionado com o fechamento de estômatos, dormência e germinação de sementes, abscisão de folhas e frutos e resposta da planta ao estresse hídrico (TAIZ e ZEIGER, 2009).

4.3 *Trichoderma longibrachiatum* (UFT 204)

O *T. longibrachiatum* (UFT 204) foi superior em crescimento em H, DC, MSPA, MSR e MST, na espécie *E. urophylla*, com 56,5, 13,2, 25, 26,5 e 25,3%, respectivamente, maiores que a testemunha (Tabela 3, Figura 6). Para a espécie *C. citriodora* o UFT (204) foi maior em H e DC, com 3% e 5% de superioridade sobre a testemunha (Tabela 4).



Figura 6. Parte aérea e raiz da espécie *E. urophylla* aos 100 DAS. C1) parte aérea da testemunha X parte aérea com isolado UFT 204. C2) raiz da testemunha X raiz com isolados UFT 204.

Existem poucos estudos sobre o uso do *T. longibrachiatum* como promotor de crescimento vegetal. Os estudos existentes para esses isolados são para combate a fitopatógenos presentes na rizosfera e parte aérea, bem como a capacidade de induzir a planta a resistir a stress abiótico (BATTAGLIA et al., 2013).

4.4 Perspectivas sobre o uso de *Trichoderma*

Em mudas de *Pinus radiata*, Hohmann et al. (2011) encontraram aumento de biomassa (31% do peso seco e 16% parte aérea) com a inoculação de *Thichoderma hamatum* LU592.

Em várias avaliações no presente trabalho observou-se que um isolado apresentou elevado incremento de parte aérea e baixo resultado na parte radicular (Tabelas 3, 4 e 5). Santos et al. (2008) com eucalipto híbrido urograndis (*Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus*

grandis) obtiveram oscilações em seus dados, onde o isolado CEM 513 apresentou o melhor resultado em massa seca de raiz (MSR) com 1,20 g, em MSPA o mesmo isolado não foi o melhor resultado, apresentando o CEM 503 com 3,73 g o melhor resultado. Cada isolado apresenta modo específico de promover crescimento na planta, seja, solubilizando fosfato ou outros nutrientes essenciais, na síntese de hormônios ou biocontrole.

Carvalho Filho et al. (2008) verificaram que o *T. asperellum* não sintetizou AIA, mas estimulou maior crescimento de *E. camadulensis* com incremento de massa seca de parte aérea, sendo reportado a capacidade de promover o crescimento a outras características do *Trichoderma*. Por isso, percebeu-se que isolados de *Trichoderma* tem vários mecanismos de promover o crescimento e precisa-se de mais pesquisas para elucidar todos os meios de promoção de crescimento, principalmente em espécies florestais.

5 | CONCLUSÕES

A inoculação de *Trichoderma* promoveu o crescimento inicial de mudas de *Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus brassiana* e *Corymbia citriodora*.

Houve especificidade para as diferentes espécies de *Trichoderma* em relação às três espécies vegetais, com melhor relação entre as espécies *E. urophylla* com *T. longibrachiatum* (UFT 204), *C. citriodora* com *T. longibrachiatum* (UFT 204) e *T. asperelloides* (UFT 205), e *E. brassiana* com *T. harzianum* (UFT 203).

REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C. Mofo Cinzento Causado por *Botrytis cinerea* (Persoon ex Fries) em estacas e microestacas de *Eucalyptos* sp. resistência a benomil e erradicação de inóculo do patógeno com água quente. **Revista árvore, viçosa, MG**, v, 4, p. 497- 500, 1999.
- AZIZ, N. H.; EL-FOULY, M.Z.; EL-ESSAWY, A. A.; KHALAF, M. A. Influence of bean seedling root exudates on the rhizosphere colonization by *Trichoderma lignorum* for the control of *Rhizoctonia solani*. **Bot. Bull. Acad. Sin.** v. 38, p. 33-39, 1997.
- BAUGH, C.L.; ESCOBAR, B. The genus *Bacillus* and genus *Trichoderma* for agricultural bio-augmentation. **Rice Farm Magazine**, p. 1-4, 2007.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Minnesota: **Burgess Publishing Company**, 4 ed. 218 p., 1998.
- BATTAGLIA, D.; BOSSI, S.; CASCONE, P.; et al. Tomato Below Ground–Above Ground Interactions: *Trichoderma longibrachiatum* Affects the Performance of *Macrosiphum euphorbiae* and Its Natural Antagonists. **The American Phytopathological Society**. v. 26, n. 10, p. 1.249-1.256, 2013.
- BERNADI, M. R.; SPEROTTO JUNIOR, M.; DANIEL, O.; VITORINO, A. C. Crescimento de mudas de *Corymbia citriodora* em função do uso de hidrogel e adubação. **Cerne**, v. 18, n. 1, p. 67-74, jan./mar., 2012.

BROTMAN, Y.; LANDAU, U.; INOSTROZA, A. C.; TAKAYUKI, T.; FERNIE, A. R.; CHET, I.; VIRTEBO, A.; WILLMITZER, L. *Trichoderma*-Plant root colonization: escaping early plant defense responses and activation of the antioxidant machinery for saline stress tolerance. **PLOS Pathog.** v. 9, n. 3, p. 1-15, 2013.

CALDEIRA, M. V.; DELARMELINA, W. M.; PERONI, L.; GONÇALVES, E. O.; SILVA, A. G. Lodo de esgoto e vermiculita na produção de mudas de eucalipto. **Pesq. Agropec. Trop.**, v. 43, n. 2, p. 155-163, abr./jun., 2013.

CARVALHO FILHO, M. R. C.; MELLO, S. C. M.; SANTOS, R. P.; MENÉZES, J. E. Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético *in vitro* e colonização endofítica de mudas de eucalipto. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, 226. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008.

DIANESE, A. C.; BLUM, L. E. B.; MELLO, S. C. M. Uso de *Trichoderma* spp. para o manejo da podridão-do-pé-do-mamoeiro causada por *Phytophthora palmivora* Butler. Planaltina-DF: **Embrapa Cerrados**, 18 p. 2012.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **For. Chron.**, v. 36, p. 10-13, 1960.

DOMSCH, K.H.; GAMS W.; ANDERSON T.H. **Compendium of soil fungi**. Acad. Press, London, v.1 e 2. 859 p.1980.

EMBRAPA. Curso: **Avaliação de qualidade de produtos à base de Trichoderma**. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna - SP, 2012. <http://www.cnpmra.embrapa.br/down_site/forum/2012/trichoderma/Apostila_Trichod erma_2012.pdf> Acesso em: 05/09/2014.

GUPTA, K. J.; MUR, A. J.; BROTMAN, Y. *Trichoderma asperelloides* suppresses nitric oxide generation elicited by *Fusarium oxysporum* in *Arabidopsis* roots. **Molecular Plant-Microbe Interactions**. v. 27, n. 4, p. 307-314, 2014.

HARMAN, G. E.; PETZOLDT, R.; COMIS, A. E CHEN, J. Interactions between *Trichoderma harzianum* Strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. **Plant Physiology**, v. 94, n. 2, p. 146-153, 2004.

HERMOSA, R.; BELÉN, R. M.; CARDOZA, R. E.; NICOLÁS, C.; MONTE, E.; GUTIÉRREZ, S. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. **International Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 69-80, 2013.

HOHMANN, P.; JONES, E. E.; HILL, R. A.; STEWART, A. Understanding *Trichoderma* in the root system of *Pinus radiata*: associations between rhizosphere colonisation and growth promotion for commercially grown seedlings. **Micbiol Ecol**, v. 115, n. 8, p. 759-67, 2011.

HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Genetic and metabolic biodiversity of *Trichoderma* from Colombia and adjacent neotropic regions. **Fungal Genetics and Biology**, v. 46, n. 9, p. 615-631, 2009.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORE. IBA. 2022. Disponível em: <<https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/cenarios/cenarios-iba-edicao-71-3o-trim-2022.pdf>> Acesso em 27/02/2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA IBGE. Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura. Volume 36. 2021 Brasil Notas técnicas.18p. Disponível em:<<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9105-producao-da-extracao-vegetal-e-da-silvicultura.html?=&t=destaques>>. Acesso em 27/02/2023.

INSTITUTO DE PESQUISAS E ESTUDOS FLORESTAIS. IPEF. Consultado em 15/10/15 em: <http://www.ipef.br/identificacao/eucalyptus/indicacoes.asp>. 2005.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes. Wall-map 150cmx200cm.1928.

LI R-X, C. F.; PANG, G.; SHEN, Q. R.; LI, R.; CHEN, W. Solubilisation of phosphate and micronutrients by *Trichoderma harzianum* and Its relationship with the promotion of tomato plant growth. **PLOS ONE**, v. 10, n. 6, p. 1-15, 2015.

MERTZ; L. M.; HENNING, F. A.; ZIMMER, P. D. Bioprotetores e fungicidas químicos no tratamento de sementes de soja. **Ciência Rural**, v. 39, p. 13-18, 2009.

MACHADO; D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.

MARCO J. L. DE; VALADARES-INGLIS, M.C.; FELIX, C.R. - Production of hydrolytic enzymes by *Trichoderma* isolates with antagonistic activity against *Crinipellis perniciosa*, the causal agent of witches' broom of cocoa. **Braz. J. Microbiol.** v. 34, p. 33-38, 2003.

OLIVEIRA JUNIOR, O. A.; CAIRO, P. A. R.; NOVAES, A. B. Características morfológicas associadas à qualidade de mudas de *Eucalyptus urophylla* produzidas em diferentes substratos. **Revista Árvore**, v. 35, n. 6, p. 1173-1180, 2011.

OLIVEIRA, K. F.; SOUZA, A. M.; SOUSA, G. T.; COSTA, L. M; FREITAS, M. L. M. Estabelecimento de Mudas de *Eucalyptus* spp. e *Corymbia citriodora* em Diferentes Substratos. **Floresta e Ambiente**, v. 21, n. 1, p. 30-36, 2014.

PETTER, F. A.; ANDRADE, F. R.; MARIMON JUNIOR, B. H.; GONÇALVES, L. G.; SCHLOSSER, T. R. Biochar como condicionador de substrato para a produção de mudas de eucalipto. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 4, p. 44-51, out-dez., 2012.

PIRES, G. C. C.; APARECIDO, C. C.; FINATTI, D. Preservação em laboratório de fungos filamentosos por longos períodos de tempo. **Biológico**, v. 74, n. 1, p. 9-16, 2012.

REDE TOCANTINS DE NOTICIAS - REDE.TO. Tocantins registra crescimento na área de. Floresta plantada. Disponível em: <http://www.redeto.com.br/noticia-6115-tocantins-registra-crescimento-na-area-de-floresta-plantada.html#.VtV6spwrLIV>. 2012. Acesso em: 10/09/2015.

ROSS, J.D. Metabolic aspects of dormancy. In: MURRAY, D.R. **Seed physiology**. Orlando: Press Australian. v. 2, p. 45- 75, 1984.

SAITO, L. R.; SALES, L. L. S. R.; MARTINCKOSKI, L.; ROYER, R.; RAMOS, M. S. de.; REFFATTI, T. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp. no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v. 2, n. 3. 2009.

SAMUELS, G. J.; ISMAIEL, A.; BON, M. C.; DE RESPINIS, S.; PETRINI, O. *Trichoderma asperellum* sensu lato consists of two cryptic species. **Mycologia**, v. 102, n. 4, p. 944-966, 2010.

SANTOS, F. E. V.; ARAÚJO, J. M.; ANDRADE, W. C.; COSTA, C. C.; SILVA, A. G; Formação de mudas de *Eucalyptus urophylla* s.t. blake com utilização de resíduo sólido orgânico urbano. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n.16, p. 1203-1214, 2013.

SANTOS, R. P.; CARVALHO FILHO, M. R; MARTINS, I. Avaliação de isolado de *Trichoderma* spp. e *Gliocladium Virens* na promoção do crescimento em mudas de Eucalipto e na Produção de Ácido Idolacético In Vitro. Embrapa, Recursos Genéticos e Biotecnológicos, **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento** 232, Brasília, DF, p. 07, 2008.

SECRETARIA DA AGRICULTURA DO TOCANTINS. SEAGRO-TO. 2021. Disponível em:< <https://www.to.gov.br/seagro/noticias/seagro-apresenta-diagnostico-de-cultivo-de-eucalipto-para-empresa-de-cellulose-no-maranhao/17idib93g5u5>>. Acesso em: 27/02/2023.

SILVA, F. de A. S. **ASSISTAT**. Versão 7.6 beta. Campina Grande, 2008. Disponível em: <<http://www.assistat.com/indexp.html>>. Acesso em: 15 mar. 2015

SOUZA, M. O. A.; SILVA, J. C.; LUCIA, R. M. D.; VIANA, W. Avaliação da madeira DE *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh e *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake em ensaios de usinagem, visando à produção moveleira. **R. Árvore**, v. 33, n. 4, p. 751-758, 2009.

STEFANINI, M. B.; RODRIGUES, S. D.; MING, L. C. Ação de fitorreguladores no crescimento da erva-cidreira-brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 18-23, 2002.

STEFFEN, G. P. K.; ANTONIOLLI, Z. I.; STEFFEN, R. B.; SCHIEDECK, G. Utilização de vermicomposto como substrato na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* e *Corymbia citriodora*. **Pesq. Flor. Bras.**, Colombo, v. 31, n. 66, p. 75-82, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

VERMA, M.; BRAR, S. K.; TYAGI, R. D.; SURAMPALLI, R. Y.; VALÉRO, J. R. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. **Biochemical Engineering Journal**, v. 37, p. 1-20, 2007.

VIDAL, L. H, I; SOUZA, J. R. P. de; FONSECA, E. de P.; BORDIN, I. Qualidade de mudas de guaco produzidas por estauquia em casca de arroz carbonizada com vermicomposto. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 1, p. 26-30, 2006.

WOO, S. L.; RUOCCHI, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANELLO, G.; LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, p. 71-126, 2014.

ZAFARI, D., ZARE, R., ERSHAD, D. and ALIZADEH, A. Introduction of three new species of *Trichoderma* for mycoflora of Iran. **Rostaniha**, v. 5, p. 63-65, 2004.

ZHAO, L. E. I.; ZHANG, Y. Effects of phosphate solubilization and phytohormone production of *Trichoderma asperellum* Q1 on promoting cucumber growth under salt stress. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 14, n. 8, p. 1-15.

LEONARDO FRANÇA DA SILVA - Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal De Minas. Mestre em Agronomia pela Mestre em Agronomia pela Universidade Estadual Paulista -UNESP. Atualmente, é pesquisador de Doutorado em Engenharia Agrícola (Construções Rurais e Ambiência) pela Universidade Federal de Viçosa e membro colaborador do Núcleo de Pesquisa em Ambiência e Engenharia de Sistemas Agroindustriais - AMBIAGRO- UFV. Além de ser aluno de pós graduação lato sensu em Engenharia de Segurança do Trabalho, Engenharia de Produção. Possui experiência nas áreas de Engenharia agrícola, com ênfase em Engenharia de Construções Rurais, Desenvolvimento rural, Sustentabilidade em sistemas de produção (Agrícola / Animal), Segurança do trabalho e Ergonomia.

VICTOR CRESPO DE OLIVEIRA - Engenheiro Agrícola pela Universidade Federal de Lavras. Mestre em Engenharia Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa. É atualmente pesquisador de doutorado em Engenharia Agrícola na Universidade Estadual Paulista (UNESP). Possuí experiência internacional no desenvolvimento de projetos científicos e atua diretamente no desenvolvimento de pesquisas na área de Construções Rurais e Ambiência.

A

- Ácido indol-butírico 1
Agricultura familiar 15, 52, 53, 54, 55, 57, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69

B

- Babesia bigemina* 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 80, 86, 88, 89
Babesia bovis 70, 71, 72, 74, 75, 76, 88
Bioestimulante 180
Brasil 1, 2, 3, 4, 6, 8, 11, 12, 14, 15, 17, 22, 24, 25, 26, 27, 28, 32, 33, 34, 40, 51, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 66, 67, 68, 69, 115, 116, 117, 127, 128, 129, 130, 143, 175, 176, 177, 181, 183, 202

C

- Costos del fertilizantes 133
Crop protection 115, 142
Cultivos básicos 133

D

- Deficiência 28, 29, 30, 31, 33, 34, 38, 39
Degree days 115, 142
Desarrollo sostenible 90
Desenvolvimento rural 52, 53, 58, 59, 61, 67, 69, 132, 136, 138, 204

E

- Enxertia 1, 5, 7, 8, 12, 14, 22, 23, 24, 25, 35
Época de propagação 14, 23
Est aquia 1, 5, 6, 9, 11, 13, 14, 22, 24, 203

F

- Fitotoxicidade 28, 35
Fruit fly 115, 127, 142, 176
Fruticultura 1, 4, 11, 12, 14, 15, 20, 25, 26, 113, 116, 127, 143

G

- Graus-dias 114, 115, 118, 141, 142, 145

H

- Helianthus annuus* L. 28, 39, 45, 49
Hierro asimilable 90, 93, 94, 96, 97, 98

Hierro total 90, 93, 94, 97, 98

Huerta 90, 91, 92, 99, 113

I

Indutores de enraizamento 1, 6, 7

M

Micropropagação 1, 5, 8, 9, 13

Mosca-das-frutas 115, 142

P

Patógenos 7, 33, 86, 101, 102, 103, 105, 182, 202

PCR-RFLP 70, 71, 72, 80, 82, 83, 85, 86, 87, 88, 89

Persea americana 101, 102, 112

Política pública 52, 53, 54, 57, 60, 66, 132, 133, 135, 136, 138

Praga quarentenária 114, 115, 127, 129, 141, 142, 175, 177

Produção de mudas 1, 5, 12, 20, 21, 22, 23, 26, 180, 182, 191, 201, 202, 203

Propagação por sementes 14, 20, 21

Proteção de cultivos 115, 142

Q

Quarantine pest 115, 142

R

Raíz 101, 102, 104, 111

S

Segurança alimentar 52, 53, 54, 55, 57, 58, 60, 61, 66, 67, 68

Silvicultura 8, 180, 181, 202

Suelos agrícolas 90

T

Tephritidae 114, 115, 127, 128, 141, 142, 143, 175, 176

Trichoderma sp. 101, 102, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111

V

Vaccinium spp. 1, 2

Z

Zeolita Clinoptilolita 133



CIENCIAS AGRARIAS:

ESTUDIOS SISTEMÁTICOS E INVESTIGACIÓN AVANZADA

-
- 🌐 www.atenaeditora.com.br
 - ✉️ contato@atenaeditora.com.br
 - 📷 [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
 - ❗ www.facebook.com/atenaeditora.com.br

3



CIENCIAS AGRARIAS:

ESTUDIOS SISTEMÁTICOS E INVESTIGACIÓN AVANZADA

-
- 🌐 www.atenaeditora.com.br
 - ✉️ contato@atenaeditora.com.br
 - 📷 [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
 - ❗ www.facebook.com/atenaeditora.com.br

3