

**XIX INTERNATIONAL SYMPOSIUM
ON PLANT DISEASE MANAGEMENT
PLANT HEALTH IN TROPICAL AGRIBUSINESS:
THE NUMBERS OF THE GIANT**



Organization



EDITORES

Edson Ampélio Pozza
Nevenka de Matos Moura
Mario Roberto Nogueira Colares
Jéssica Vieira Lima Teixeira
Rafaela Balisa Massote
Eduardo França Porto
Maria Carolina de Carvalho Rocha Souza
Anny Kellen Miranda Pereira
Janaina Martins de Sousa
Maria Eduarda Rodrigues Andrade
Indiara Carol Lopes Pinheiro
Daniel da Silva Gomes Guimarães
Carla Maria Cavalcanti Ribeiro
Felipe Douglas Soares Leal
Guilherme Swart
Joana Caroline D'arc de Oliveira
Julia Marques Oliveira
Ana Paula Silva
Eduardo Alves da Silva
Muhammad Siddique Afridi
Thamires Yslanny Oliveira Sousa
Weslei Alan Carvalho Nascimento

REVISORES

Aline Ferreira Barros
Edson Ampélio Pozza
Helon Santos Neto
Janaina Martins de Sousa
Maria Luiza Nunes Costa
Mário Roberto Nogueira Colares
Natália Chagas Freitas
Rafaela Araújo Guimarães
Sarah da Silva Costa
Valter Cruz Magalhães
Willian César Terra

© Núcleo de Estudos em Fitopatologia

Capa: Reginaldo Mamede

Projeto Gráfico e Diagramação: Heider Alvarenga de Jesus

**Ficha Catalográfica preparada pela Coordenadoria de Processos
Técnicos da Biblioteca Universitária da UFLA**

International Symposium on Plant Disease Management Plant Health in
Tropical Agribusiness (19. : 2019 : Lavras, MG)
[Anais do] XIX International Symposium on Plant Disease
Management Plant Health in Tropical Agribusiness: the numbers of the
giant, 26 a 29 de novembro de 2019 / organizado pelo Núcleo de Estudos em
Fitopatologia ; editores, Edson Ampélio Pozza ... [et al.] – Lavras :
Ed. UFLA, 2019
211 p. : il.

Publicação do Núcleo de Estudos em Fitopatologia da Universidade
Federal de Lavras.

ISBN 978-85-54882-02-0

1. Biotecnologia. 2. Nanotecnologia. 3. Proteômica. I. Pozza, Edson
Ampélio. II. Universidade Federal de Lavras, Núcleo de Estudos em
Fitopatologia. III. Título.

CDD - 632

COORDENAÇÃO NEFIT - GESTÃO 2019



Flávio Henrique Vasconcelos Medeiros (Coordenador Docente)

Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFPE (2004). Mestre em Agronomia/Fitopatologia pela Universidade de Lavras - UFLA (2005). Doutor em Agronomia/Fitopatologia pela mesma Instituição (2009). Atualmente é professor Adjunto do Departamento de Fitopatologia na Universidade Federal de Lavras - UFLA.

Nevenka de Matos Moura (Coordenadora Geral)

Engenheira Agrônoma pela Universidade Federal de Lavras - UFLA (2018). Mestranda em Agronomia/Fitopatologia na mesma instituição.

Mário Roberto Nogueira Colares (Vice-Coodenador Geral)

Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal do Mato Grosso - UFMT (2016). Mestre em Agronomia/Fitopatologia pela Universidade Federal de Lavras - UFLA (2018). Doutorando em Agronomia/Fitopatologia na mesma instituição.

Jéssica Vieira Lima Teixeira (Coordenadora de Finanças)

Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Lavras - UFLA (2014). Engenheira Agrônoma pela Universidade Federal de Lavras - UFLA (2017). Mestranda em Agronomia/Fitopatologia na mesma instituição.

Rafaela Balisa Massote (Vice-Coodenadora de Finanças)

Engenheira Agrônoma pela Universidade Federal de Lavras - UFLA (2018). Mestranda em Agronomia/Fitopatologia na mesma instituição.

Maria Carolina de Carvalho Rocha Souza (Coordenadora Administrativa)

Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras - UFLA.

Anny Kellen Miranda Pereira (Vice-Coordenadora Administrativa)

Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras - UFLA.

Janaina Martins de Sousa (Coordenadora Técnico-Científica)

Engenheira Agrônoma pela Universidade Federal do Ceará - UFC (2018). Mestranda em Agronomia/Fitopatologia na Universidade de Lavras - UFLA.

Maria Eduarda Rodrigues Andrade (Vice-Coordenadora Técnico-Científica)

Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras - UFLA.

Indiara Carol Lopes Pinheiro (Coordenadora Sócio-Cultural)

Engenheira Agrônoma pela Universidade Federal de Lavras - UFLA (2018). Mestranda em Agronomia/Fitopatologia na mesma instituição.

Daniel da Silva Gomes Guimarães (Vice-Coordenador Sócio-Cultural)

Graduando em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras - UFLA.

Felipe Douglas Soares Leal (Coordenador Gestão-de-Pessoas)

Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM (2018). Mestrando em Agronomia/Fitopatologia pela Universidade Federal de Lavras - UFLA.

Guilherme Swart (Vice-coordenador Gestão-de-Pessoas)

Graduando em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras - UFLA.

Carla Maria Cavalcanti Ribeiro (Membro)

Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE (2007). Mestre em Agronomia pela Universidade Federal de Roraima - UFRR (2016). Doutoranda em Agronomia/Fitopatologia na Universidade Federal de Lavras – UFLA.

Eduardo França Porto (Membro)

Graduando em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras - UFLA.

Joana Caroline D'arc de Oliveira (Membro)

Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras - UFLA.

Ana Paula Silva (Trainee)

Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras - UFLA.

Eduardo Alves da Silva (Trainee)

Engenheiro Agrônomo pela Universidade de São João del-Rei - UFSJ (2015). Mestre em Ciências Agrárias/Fitotecnia na mesma instituição (2017). Doutorando em Agronomia/Fitotecnia na Universidade de Lavras - UFLA.

Julia Marques Oliveira (Trainee)

Engenheira Agrônoma pela Universidade Federal de Lavras - UFLA (2015). Mestre em Agronomia/Fitopatologia pela Universidade Federal de Lavras - UFLA (2017). Doutoranda em Agronomia/Fitopatologia na mesma instituição.

Muhammad Siddique Afridi (Trainee)

Bacharel em Ciências Biológicas pela University of Agriculture Peshawar Pakistan (2014). Mestre em ciências de plantas pela University Islamabad (2017). Doutorando em Agronomia/Fitopatologia na Universidade Federal de Lavras - UFLA.

Thamires Yslanny Oliveira Sousa (Trainee)

Engenheira Agrônoma pela Universidade Estadual do Maranhão - UEMA (2017). Mestranda em Agronomia/Fitopatologia na Universidade de Lavras - UFLA.

Weslei Alan Carvalho Nascimento (Trainee)

Graduando em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras - UFLA.

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de luz e paz, por nos dar disposição para a organização do “XIX International Symposium on Plant Disease Management” com o tema “Plant Health in Tropical Agribusiness: The Numbers of the Giant”.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), a qual temos o orgulho de fazer parte e o privilégio de estudarmos nessa universidade maravilhosa.

Ao Departamento de Fitopatologia (DFP), por toda infraestrutura concedida ao Núcleo de Estudos em Fitopatologia (NEFIT). Aos professores e funcionários do DFP, em especial, ao professor Eduardo Alves, chefe do Departamento e as secretárias da graduação e pós-graduação, Ariane de Souza Alvarenga e Zenóbia de Souza Andrade, respectivamente pelo apoio ao NEFIT.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pelo apoio científico ao evento.

Ao professor Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros por seu amor à Fitopatologia, por ser o coordenador docente do núcleo, ter satisfação em contribuir no desenvolvimento e acreditar no potencial do NEFIT.

Ao professor Edson Ampélio Pozza por coordenar a realização do simpósio e confecção do e-book, além de contribuir com suas ideias para almejar sempre o melhor.

Aos membros e trainees do NEFIT, por toda a dedicação e por estarem sempre dispostos a colaborar para obtermos o sucesso do evento.

Aos palestrantes pela confiança no núcleo, disponibilidade, empenho e dedicação na elaboração das palestras e dos capítulos presentes neste livro.

Aos revisores dos resumos e capítulos na agilidade, empenho e contribuição nos capítulos e anais do evento.

As empresas pelo patrocínio e apoio para a realização do evento.

A todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram com a realização do evento e publicação deste livro, o nosso muito obrigado!!!

Nevenka de Matos Moura

Coordenadora Geral / Gestão 2019

Mário Roberto Nogueira Colares

Vice-Coodenador Geral / Gestão 2019



PREFÁCIO

O Núcleo de Estudos em Fitopatologia (NEFIT), criado a 19 anos atrás, por iniciativa dos discentes com apoio dos docentes e técnicos do Departamento de Fitopatologia (DFP) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), foi criado principalmente para incentivar e apoiar a integração dos alunos(as) ao mundo real. Ou seja, aproximá-los da realidade dos produtores e da iniciativa privada, estimular o contato com as empresas e órgãos públicos para organizarem eventos e atividades desde a pesquisa até o campo, captando recursos financeiros, redigindo textos e executando as atividades as quais se propuseram. Com o objetivo nobre de aprenderem a gestão de projetos, pesquisa e eventos e assim complementarem a sua formação para o mercado de trabalho, agora com responsabilidade social e financeira, pois o NEFIT administra seus próprios recursos de forma responsável e sustentável. É claro, nesse ambiente democrático, exercitam o poder das palavras, discutem, debatem e ajustam as suas ideias as demandas do dia a dia, para então se tornarem realidade e visíveis ao público.

Nesse contexto uma das atividades do grupo é a realização dos Simpósios de Manejo de Doenças de Plantas, hoje um evento de aderência internacional, o “XIX International Symposium on Plant Disease Management” com o tema “Plant Health in Tropical Agribusiness: The Numbers of the Giant”. Sua realização, ininterrupta, desde a sua fundação, é possível, devido ao acúmulo de experiência dos alunos, ao repasse de gestão e tecnologia de execução ao longo desses quase 20 anos de existência, a duras penas, para vencer as adversidades do contato do público com o privado e a burocracia, capaz de aniquilar esse contato e vencida devido a persistência de toda a equipe.

Nesse ano, o evento aborda um tema polêmico entre nós, o quanto o Brasil é gigante no agronegócio, desde os pequenos até os grandes produtores. No tamanho de sua área de cultivo ou de plantio de lavouras, de mais de 66 milhões de hectares ou 7,8% do seu território e ainda preservando 66% do seu território, sendo os produtores responsáveis por 25% dessa área. Em alguns biomas, ainda é maior, caso da Amazônia legal preservada em 86%, incluindo os grandes espelhos de água.

Certamente, em breve seremos os maiores produtores de soja do mundo, já somos de café, suco de laranja, entre vários outros e com isso, alimentamos quase 1,5 bilhão de seres humanos, com tendência a crescer, sem a necessidade de derrubar florestas, avançando somente nas áreas de pastagens degradadas e aumentando a produtividade. Toda essa produção, capaz de gerar empregos, renda e impostos, utilizados na manutenção da máquina pública, foi capaz devido aos princípios da “Revolução Verde”, o emprego de cultivares resistentes de baixo porte, os fertilizantes, a irrigação e os agroquímicos. É esse sistema responsável atualmente por fornecer alimentos de baixo custo e com qualidade aos consumidores. É óbvio, embora muitos não acreditem, para aumentar, na mesma área, a produtividade, os produtores brasileiros utilizam esse sistema, inclusive para não desmatar e avançar sobre a floresta. Sim, embora muitos não acreditem, consumimos água, sem a qual seria impossível produzir alimentos. Também, devido aos nossos solos serem pobres em nutrientes e ácidos, temos de utilizar fertilizantes e calcário

e ainda a maioria de nossos cultivares plantados são suscetíveis a pragas e patógenos. Sendo assim, se a planta fica doente, como nós, precisa de remédio. Esse é veneno para as pragas e usado na dose certa, no momento correto e respeitando o período de carência será o responsável por produzir alimentos. Não ensinamos nossos alunos a envenenar o ambiente ou o seu semelhante, ensinamos a produzirem alimentos de qualidade. Mas, a humanidade clama por mudanças e o “Pensamento Verde” é uma realidade e um caminho sem volta para o planeta. Dessa forma, esse evento, além de tentar aproximar e desmistificar o meio rural perante o urbano, mostrando a realidade dos fatos, discutirá de forma sustentável para o ambiente, o social, o cultural e o financeiro do produtor as diferentes técnicas de manejo em plena inovação para juntas oferecerem a população alimentos de baixo custo e com qualidade e sustentabilidade plena. No entanto, ainda é necessário desenvolver tecnologia para cumprir essas premissas. Principalmente, para produzir fontes de carboidrato e proteína para uma população de quase 8 bilhões de pessoas. Porém, esse desafio, sem dúvida, é o motor da existência dos pesquisadores, produtores, empresas e governo. Vamos vencê-lo. Todos queremos um mundo melhor.

Esperamos assim, além de contribuir com a formação dos discentes e a sua integração com a sociedade, estar demonstrando o empenho da academia em se ajustar a realidade do planeta e contribuir para cada vez mais minimizarmos os efeitos da produção de alimentos e aumentar a sustentabilidade ambiental, social, cultural e financeira de nossos produtores.

Edson AmpélioPozza

Coordenador Geral do XIX International Symposium on Plant Disease Management
“Plant Health in Tropical Agribusiness: The Number of the Giant” 2019, Professor Titular,
Epidemiologia e Manejo de Doenças de Plantas,
Departamento de Fitopatologia – Universidade Federal de Lavras

SUMÁRIO

Capítulo 1 - Brasil: Números e Desafios do Gigante! 16

Janaina Martins de Sousa
Edson Ampélio Pozza
Jessica Vieira Lima Teixeira
Eduardo França Porto
Carla Maria Cavalcanti
Guilheme Swart
Daniel da Silva Gomes Guimarães
Ana Paula Silva
Muhammad Siddique Afridi

1	Introdução	16
2	Áreas Preservadas do Brasil	18
3	Fatores que Afetam a Produção Brasileira	18
4	Quantidade de Agroquímicos Usados no Brasil, Princípios Ativos e Culturas	20
5	Métodos Alternativos de Controle de Doenças de Plantas	22
6	Considerações e Perspectivas	24
	Referências	24

Capítulo 2 - Desenvolvimento e Criação de Novos Fungicidas 28

Felipe Douglas Soares Leal
Edson Ampélio Pozza
Rafaela Balisa Massote
Indiara Carol Lopes Pinheiro
Eduardo Alves da Silva
Thamires Yslanny Oliveira Souza
Nevenka de Matos Moura
Maria Carolina de Carvalho Rocha Souza
Joana Caroline D'arc de Oliveira
Maria Eduarda Rodrigues Andrade
Anny Kellen Miranda Pereira
Weslei Alan Carvalho Nascimento

1	Fungicidas – Ainda Precisamos?	28
2	A História dos Fungicidas	31
3	Como os Fungicidas são Desenvolvidos	33
3.1	A Descoberta de Uma Molécula – A Pesquisa	35
4	A Legislação Brasileira para o Registro de Produtos Agrícolas – Agroquímicos	39
5	Processo de Registro	42
6	Considerações	46

Referências	47
Capítulo 3 - A Defesa Fitossanitária Brasileira no Agronegócio Mundial	50
Ângela Pimenta Peres	
Referências	55
Capítulo 4 - Use of Nanotechnology in Plant Disease Suppression	56
Júlia Marques Oliveira	
Edson Ampélio Pozza	
Wade Elmer	
1 Abstract	56
2 Introduction	56
3 What are Nanoparticles?	57
4 Types of Nanoparticles Used in Plant Pathology	58
5 Summary	61
Literature Cited	62
Capítulo 5 - Nutrição Mineral no Manejo da Ferrugem e da Cercosporiose do Cafeeiro. 67	67
Helon dos Santos Neto	
Edson Ampélio Pozza	
1 Introdução	67
2 Ferrugem do Cafeeiro	68
3 Cercosporiose do Cafeeiro	68
4 Nutrição Mineral no Manejo da Ferrugem e da Cercosporiose	69
5 Geoestatística	71
5.1 A Geoestatística no Estudo da Interação Espaço-Temporal da Ferrugem e da Cercosporiose com a Nutrição Mineral do Cafeeiro	71
6 Considerações Finais	75
Referências	76
Capítulo 6 - Minicurso: o Uso do R e suas Aplicações na Fitopatologia.	79
Fernanda Aparecida Castro Pereira	
Kelly Pereira Lima	
1 O que é R e RStudio?	79
2 Como instalar o R?	79
3 Como instalar o RStudio?	82

4	Console do R	83
5	Console do RStudio	83
6	Pacotes	84
7	Tipos de dados de entrada	85
8	Comandos Básicos	86
8.1	Operações Matemáticas	86
8.2	Funções Matemáticas Simples	87
9	Tipos de objetos	88
9.1	Vetores	88
9.2	Matrizes	88
9.3	Lista	89
9.4	Data Frame	89
10	Gráficos	90
10.1	Gráficos Para Análise Descritiva	92
10.1.1	Histograma	92
10.1.2	Boxplot	93
11	Estatística Descritiva	95
11.1	Medidas De Posição	95
11.2	Medidas De Dispersão	96
	Considerações	97
	Referências	98

Capítulo 7 - Exploring the Logic of the Publication Game 99

Teodorico de Castro Ramalho
Thaís Aparecida Sales

1	Design of a Scientific Study	99
1.1	Some Questions and Principles	99
1.2	Why Publish?	100
1.3	Why Writing Fails?	100
1.4	Going Deep Into The Message/Market Aspects	101
2	Scientific Writing	103
2.1	Literary Genre, Style and Language	103
2.2	Title	104
2.3	Authors	105
2.4	Abstract	105
2.5	Introduction	106
2.6	Results and Discussion	108
2.7	Conclusion Section	108
3	Conclusion	108

Literature Cited	109
----------------------------	-----

Capítulo 8 - Modelos Estatísticos Aplicados à Fitopatologia 110

Edilson Marcelino Silva
Mário Roberto Nogueira Colares

1 Introdução	110
2 Modelos estatísticos	110
2.1 Modelos lineares.	111
2.1.1 Modelos de ponto crítico	111
2.1.2 Modelos de múltiplos pontos	112
2.1.3 Modelo integral ou área abaixo da curva do progresso da doença.	113
2.2 Modelos não lineares	114
2.2.1 Modelo exponencial.	114
2.2.2 Modelo logístico.	115
2.2.3 Modelo gompertz.	117
2.2.4 Modelo monomolecular	118
Referências	118

Capítulo 9 - Contribution of Proteomics to Phytopathology. 120

Sarah da Silva Costa Guimarães
Gláucia Mara Moreira

1 What is Proteomics?	120
2 Proteomics Studies	120
2.1 Structural proteomics	120
2.2 Functional proteomics.	120
2.3 Expression proteomics	121
3 Experimental Designs	121
4 Proteomics: Applications in Phytopathology	124
4.1 Identification and detection of pathogens	124
4.2 Plant-pathogen interaction	125
4.3 Biocontrol agents-pathogen interaction	126
5 Concluding Remarks	127
Literature Cited	127

**Capítulo 10 - Where Will the Next Virus Come From? Lessons from Coffee Ringspot
Virus 130**

Michael Goodin
Antonia Dos Reis Figueira

1	Abstract	130
2	Plant Viruses: Are They Only Pathogens?	130
3	The Importance of Studying Virus Emergence	131
4	The Importance of Virus Emergence in Globalized Agriculture	132
5	Coffee Ringspot Virus: General Characteristics, and Occurrence in Brazil	133
6	Characterization of soybean yellow shoot virus, an emerging potyvirus infecting soybean plants in Brazil	135
7	Can We Predict Plant Virus Emergence?	136
	Literature Cited	137

Capítulo 11 - Nematodes in Vegetables: Occurrence, Impacts on the Brazilian Olericulture Productive Sector and Sustainable Management 140

Jadir Borges Pinheiro
Raphael Augusto de Castro e Melo
Giovani Olegário da Silva
Danielle Biscaia

1	Olericulture and Plant-Parasitic Nematodes (PPN)	140
2	PPN Impacts	141
3	PPN Vigilance and International Market Opportunities	142
4	OSTS Related to PPN and R&D Activities	143
5	Brazilian Vegetable Production and PPN Management Context	144
	Literature Cited	146

Capítulo 12 - Manejo de Resistência a Doenças no Agronegócio 152

Fernando Gilioli

1	Histórico	152
2	O Cenário dos Grupos Químicos Diante da Resistência de Doenças	153
2.1	O Exemplo na Prática	154
2.2	Adoção de Fungicidas de Ação Multissítio	156
3	Cenas do Próximo Capítulo	159
	Referências	161

Capítulo 13 - Mercado de Produtos Biológicos: Uma Visão Atual da Aplicação no Território Brasileiro 162

Rafaela Araújo Guimarães
Julio Carlos Pereira da Silva
Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros

1	Introdução	162
2	O Início do Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil	162
3	Os Números do Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil	163
4	Principais Inovações do Uso do Controle Biológico	167
5	Principais Contribuições do Controle Biológico de Doenças de Plantas para o Agronegócio.	169
6	Perspectivas futuras do mercado	170
	Referências	170
	Resumos	171

CAPÍTULO 1 - BRASIL: NÚMEROS E DESAFIOS DO GIGANTE!

Janaina Martins de Sousa¹
Edson Ampélio Pozza²
Jessica Vieira Lima Teixeira¹
Eduardo França Porto³
Carla Maria Cavalcanti¹
Guilheme Swart³
Daniel da Silva Gomes Guimarães³
Ana Paula Silva³
Muhammad Siddique Afridi¹

1 Introdução

O crescimento populacional demanda aumento na produção de alimentos. Hoje a população mundial é estimada em 7 bilhões e 700 milhões de pessoas (FAOSTAT, 2019) e aumentando a cada minuto. Esse incremento também implica em maior consumo de água, energia e alimentos, em mais de 50, 40 e 35%, respectivamente. A atual demanda social, disseminada na mídia mundial é um desafio para os agricultores e tem a prerrogativa de aumentar a produção de alimentos, com custo acessível e de qualidade para a população de baixa renda e ainda preservar os biomas onde são cultivados, sem aumentar o desmatamento. Parece impossível, mas certamente a humanidade terá de unir a pesquisa, os consumidores e os produtores para juntos compreenderem um ao outro e gerarem um sistema produtivo capaz de produzir o máximo, de forma sustentável e com baixo custo. Sem tomar medidas drásticas, passíveis de reduzir o fornecimento de alimentos. Nesse contexto, o Brasil pode contribuir, cumprindo as exigências desse novo sistema produtivo.

Entre os anos de 1950 e 1960 a humanidade assistiu ao desenvolvimento da revolução verde. Seu maior ícone foi o cientista “Norman Bourlaug”, o qual recebeu o prêmio Nobel da paz em 1970, justamente devido aos seus estudos responsáveis por aumentar a produtividade e assim ajudar a derrubar a teoria populacional de “Malthus”. Os princípios da nova era agrícola foram baseados principalmente em quatro alicerces, quais sejam, o emprego de monoculturas com cultivares resistentes e de baixo porte, o uso de fertilizantes, a irrigação e os agroquímicos.

Esses métodos, em conjunto, foram responsáveis por aumentar a produtividade para patamares inimagináveis e assim dar sustentabilidade alimentar e social ao crescimento da população mundial, minimizando o avanço do cultivo em novas áreas, muitas vezes ainda com florestas nativas e assim evitando o desmatamento. O Brasil adotou as práticas da revolução verde e ao

¹ Pós-graduando em Fitopatologia, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras.

² Professor, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras – MG, edsonpozza@gmail.com

³ Graduando em Agronomia, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras.

longo do tempo tem sido frequentemente chamado de “O celeiro do mundo”, em função de seu potencial agrícola, responsável por números de importância mundial.

Nesse contexto, a agricultura brasileira fornece atualmente mais de 4000 produtos de origem animal e vegetal. Somos os maiores produtores mundiais de açúcar, café e suco de laranja e nessa safra também de soja, com o segundo lugar de vários outros. Em 2018 mais de 160 países importaram produtos do agronegócio brasileiro sendo China, União Europeia (e os países componentes deste bloco econômico), Estados Unidos, Irã, Japão e Coreia do Sul os principais países importadores. Aproximadamente, 101 bilhões de dólares foram obtidos a partir das exportações realizadas em 2018 (AGROSTAT, 2019).

O Agronegócio é o principal setor para a balança comercial e para a economia brasileira. Entre os anos de 1997 a 2017, o setor agrícola brasileiro exportou 1,23 trilhões de dólares (MAPA, 2019a). Sem a exportação do agro brasileiro, a balança comercial seria deficitária, pois sua participação representou 42,4% das exportações totais do Brasil no ano de 2018 (MAPA, 2019a).

Os principais produtos de exportação são a soja, as carnes, os produtos florestais, o complexo sucra-alcooleiro, o café, os cereais, os sucos, as fibras, o fumo, o couro, entre outros. Contudo, o Brasil também importa produtos de origem agrícola principalmente da Argentina, União Europeia, EUA, Chile e China. Em 2018, o valor das importações totalizou 14 bilhões de dólares para obtenção de cereais, produtos florestais, pescados e produtos oleaginosos (com exceção de soja) (AGROSTAT, 2019).

Segundo dados obtidos por imagens de satélites da NASA, aproximadamente 40% da área mundial corresponde a áreas cultivadas. Os países detentores das maiores áreas cultivadas são Índia, Estados Unidos, China, Rússia e Brasil. Contudo, os quatro primeiros países ocupam uma área de aproximadamente 30% desse montante com lavouras, enquanto o Brasil ocupa apenas 3,2% da área mundial (USGS, 2019).

Segundo a Embrapa territorial, a área cultivada do Brasil corresponde a 7,8% do território nacional, são 66 milhões de hectares destinados a lavouras. Somando às áreas ocupadas com lavouras, pastagens nativas e plantadas e florestas plantadas tem-se aproximadamente 30,2% do território nacional (Embrapa Territorial, 2019). No Brasil 632 milhões de hectares, o equivalente a 66,3% do território, são dedicados a proteção e a conservação, sendo ocupados por vegetação nativa, correspondente ao bioma local, o equivalente a área de 43 países e 5 territórios da Europa. Comparando a área destinada a lavouras do Brasil e dos Estados Unidos, um dos principais concorrentes do agronegócio, como, por exemplo, na produção e exportação de soja, os Estados Unidos apresentam 74,3% do seu território ocupado respectivamente com uso agropecuário e 19,9 % destinados a preservação da vegetação nativa (Embrapa Territorial, 2019), incluindo o Alasca e alguns desertos como o de Sonora. Enquanto no Brasil, por exemplo, na Amazônia legal, 84,1% ou 353.156.844 ha desse bioma são cobertos por vegetação nativa (Miranda, 2019), ou seja, um exemplo de conservação, o qual temos de preservar.

2 Áreas Preservadas do Brasil

O atual Código Florestal brasileiro, estabelecido por meio da Lei de Proteção da Vegetação Nativa (LPVN), Lei nº 12.651, de 25 maio de 2012, é responsável por regulamentar a exploração, recuperar e conservar a vegetação nativa em nível nacional e estabelecer normas para Proteção da Vegetação Brasileira Nativa (BRASIL 2012).

O Cadastro Ambiental Rural (CAR), é o principal instrumento da legislação ambiental vigente, conforme a Lei nº 13.295, de 14 de junho de 2016. O CAR obriga o produtor rural a realizar o cadastramento de todas as propriedades e posses rurais, condicionado à restrição de crédito rural (INCRA, 2016) e ainda de transmissão de posse da terra nos cartórios de registro de imóveis. Ele abrange dois importantes pontos, as Áreas de Preservação Permanente (APP) e a Reserva Legal (RL).

As APPs consistem em áreas protegidas, podendo ser cobertas ou não por vegetação nativa, com o objetivo de preservar recursos hídricos, solo, paisagem e biodiversidade. As faixas mínimas e obrigatórias de recomposição das APPs variam de acordo com o tamanho da propriedade. Áreas de Reserva Legal (RL) são denominadas como áreas mínimas de preservação, as quais não devem ser desmatadas dentro da propriedade privada (BRASIL, 2016). As áreas RLs estão estabelecidas no código. Na Amazônia Legal, incluindo os estados brasileiros do Acre, Amazonas, Amapá, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins, é obrigatório preservar área de 80% em propriedades situadas no bioma floresta, 35% para o cerrado e 20% para campos gerais. Nas demais regiões do país, devem ser preservadas uma área de 20% para qualquer bioma, de acordo com a **LEI Nº 12.651, DE 25 DE MAIO DE 2012, o novo código florestal** (CHIAVARI; LOPES, 2016). Ou seja, é necessário separar o desmatamento legal dos ilegais, quando forem divulgados dados oficiais do total de áreas desmatadas.

Os setores agrícolas sofrem os maiores impactos com as leis ambientais. Pensando na segurança alimentar, (FERREIRA FILHO, RIBERA e HORRIDGE 2015) conduziram um estudo no qual comprovam ser o uso de mecanismos de produção de alimentos responsáveis por aumentar a oferta de produtos alimentares sem a necessidade da expansão de terra cultivável, ou seja, de desmatar. Levando em conta o futuro papel da vasta área de pastagem extrativista, de baixo rendimento. Essas áreas podem ser um território imprescindível para evitar o avanço sobre as florestas brasileiras. Respeitando os pecuaristas dessas áreas, sua capacidade de investimento, sua cultura e o âmbito social das medidas a serem tomadas, o pensamento atual é tratar as pastagens como área de cultivo agrícola, ou seja, sendo capaz de aumentar sua produtividade e assim ceder área para produzir alimentos. Desse modo, a capacidade de oferta dos produtos agrícolas não seria comprometida com o controle do desmatamento em um futuro próximo.

3 Fatores que Afetam a Produção Brasileira

Os diferentes tipos de clima do Brasil proporcionam ambiente adequado para adaptação, estabelecimento e disseminação de insetos pragas, patógenos e plantas daninhas, bem como

aumento da variabilidade genética, por não haver interrupção do ciclo de vida desses organismos, como ocorre por exemplo em regiões de clima temperado, nas quais as pragas morrem ou ficam inativas durante o período frio, o inverno, com ocorrência de nevascas.

Além disso, o ser humano proporciona a formação de ambientes favoráveis à adaptabilidade desses organismos ou seleção direcional de populações, como por exemplo, o uso de um mesmo cultivar em áreas extensas, de agroquímicos do mesmo grupo químico, de modo de ação específica nas pragas e patógenos e tecnologias transgênicas. Um exemplo é o controle da Ferrugem Asiática (*Phakopsora pachyrhizi*), doença da cultura da soja, cuja a eficiência do controle químico tem sido reduzida nos últimos anos, em função do uso contínuo de princípio ativos do mesmo grupo químico, resultando no aumento do número de aplicações, mudança nas estratégias de manejo e redução no intervalo de aplicações (TISOT, 2016).

Moura (2018) avaliou diversas moléculas para controlar *Phakopsora pachyrhizi* (Tabela 1), na pesquisa, a dose recomendada foi ineficiente no controle, sendo necessárias doses maiores para controlar o fungo. Além disso, mensurou o fator de redução da sensibilidade (FRS), o qual quantifica o grau de alteração da sensibilidade do patógeno à molécula, o FRS superior a 1,0, indica redução na sensibilidade do patógeno à molécula. Dessa forma evidencia a tolerância do fungo a determinadas concentrações de algumas moléculas.

Tabela 1: Concentração inibitória (CI_{50}) de fungicidas em mg/L e fator de redução da sensibilidade (FRS) para o isolado de *Phakopsora pachyrhizi* proveniente de Passo Fundo, RS. Passo Fundo - 2018

Fungicidas	CI 50 ¹	Intervalo de confiança		CI 50 ref ²	FRS
Azoxistrobina	3,362	2,800	4,008	0,07	48,28
Azoxistrobina difenconazol benzovindiflupir	+ 1,137 +	0,950	1,352	-	-
Difenconazol	6,826	5,668	8,203	-	-
Epoxiconazol	1,383	1,064	1,777	0,45	3,073
Fluxapiraxade	7,674	6,156	9,609	-	-
Piraclostrobina	0,405	0,326	0,500	0,075	5,4
Piraclostrobina fluxapiraxade	+ 0,143	0,109	0,184	-	-
Protioconazol	0,009	0,007	0,010	-	-
Trifloxistrobina	1,145	0,927	1,400	0,015	76,333
Trifloxistrobina Protioconazol	+ 0,538	0,448	0,642	-	-

¹ Valores obtidos por regressão do Probit, com intervalo de confiança de 95%.

² Refere-se a sensibilidade de referência (BLUM; REIS, 2013).

– Dados numéricos não disponíveis.

Fonte: Moura, B. (2018)

Da mesma maneira, a alta pluviosidade em alguns biomas brasileiros, além de proporcionar altas produções, pode levar a erosão do solo, em muitas áreas nas quais não são empregadas tecnologias de manejo e conservação do solo. Segundo DECHEN et al. (2015) os custos da erosão do solo relacionados às perdas de P, K⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺, em lavouras anuais no Brasil, seriam da ordem de US\$ 1,3 bilhão ao ano.

O Brasil como potência agrícola é dependente do uso de corretivos e fertilizantes para alcançar altas produtividades (FAO, 2019), pois a maioria dos solos do país são velhos, intemperizados e pobres em nutrientes, embora em muitos casos tenham uma boa estrutura. É comum a divulgação por vários meios da possibilidade de produzir em todo território nacional sem a necessidade de fornecer nutrientes. Esse fato é impossível de forma generalizada, mesmo e principalmente no bioma amazônico. Se somente extrair qualquer tipo de produto agrícola sem repor os nutrientes exportados, o destino do produtor extrativista será a falência e a migração para grandes centros urbanos. A floresta é incapaz de gerar por si própria os nutrientes eternamente. Ela está em equilíbrio e não se pode minerá-la até o seu colapso. Segundo a Associação Nacional para Difusão de Adubos (ANDA, 2019), o Brasil importou mais de 27 milhões de toneladas de fertilizantes para a agricultura no ano de 2018, o equivalente a 77,44% dos adubos usados no Brasil. A dependência do mercado externo para obter esses insumos gera custos elevados, devido a sua cotação em dólar. Sendo assim, os gastos com fertilizantes representam entre 20 e 41% dos custos de produção em culturas importantes como soja, milho e trigo (MATSON et al., 1998; CASTRO et al., 2006; CAVALETTI; ORTEGA, 2009; SOUZA et al., 2015), porém são necessários a produção, devido às características dos solos brasileiros. A alta produtividade devido ao uso desse sistema contribui para evitar o avanço da agricultura sobre novas áreas.

Além disso, problemas de logística, tanto para levar os insumos até as propriedades rurais quanto para o transporte dos alimentos produzidos, também afetam a produção agrícola do Brasil, em razão deste possuir extensão continental. Um transporte ineficaz, muitas vezes baseado no meio rodoviário, torna os produtos menos competitivos. Na agricultura a característica de transporte é de alta tonelagem (CONFEDERAÇÃO NACIONAL DO TRANSPORTE, 2019). Na agricultura a característica do transporte é de alta tonelagem, seja de insumos ou de produtos desse meio. Dessa forma, é necessário meios de transporte para tal finalidade.

4 Quantidade de Agroquímicos Usados no Brasil, Princípios Ativos e Culturas

O Brasil é um dos maiores consumidores de agroquímicos. Justificado, devido a extensão territorial de cultivo, cerca de 66 milhões de hectares de lavouras. Porém, comparando o valor investido em agroquímicos sob diferentes perspectivas como, número por área cultivada e por volume de produção agrícola, o cenário se altera. O Brasil ocupa a sétima posição, ficando atrás de países como Holanda, Japão, Coreia do Sul, Alemanha, França, Itália e Reino Unido, no ranking de consumo de defensivos agrícolas por hectare, sendo empregados menos de US\$ 200,00 dólares por área plantada. E em 13º lugar quanto ao emprego de defensivos agrícolas por produção, por empregar menos de US\$10 dólares por tonelada de produtos agrícolas. Nas duas abordagens o Japão e Coreia do Sul lideram os rankings de consumo de agroquímicos (SINDIVEG, 2019a).

O consumo relativo de agroquímicos no Brasil foi de 4,31 kg ha⁻¹ em 2016, figurando na 44º posição em um ranking da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura

(FAO), sobre uso de defensivos agrícolas. Dentre os países europeus, os maiores consumidores de defensivos são os Países Baixos (9,38 kg ha⁻¹), Bélgica (6,89 kg ha⁻¹), Itália (6,66 kg ha⁻¹), Montenegro (6,43 kg ha⁻¹), Irlanda (5,78 kg ha⁻¹), Portugal (5,63 kg ha⁻¹), Suíça (5,07 kg ha⁻¹) e Eslovênia (4,86 kg ha⁻¹) (MAPA, 2019b).

De acordo com o critério de consumo de defensivos em função da produção agrícola, o Brasil ocupa o 58º lugar, empregando 0,28 kg t⁻¹ de produtos agrícolas. Os países como Portugal (0,66), Itália (0,44), Eslovênia (0,36), Espanha (0,35), Suíça (0,34), Países Baixos (0,29) e Grécia (0,30) estão à frente do Brasil. Para esse balanço foram considerados os valores de produção de grãos, fibras, frutas, pulses, raízes, nozes e o consumo total de defensivos disponíveis no portal de estatísticas da FAO (MAPA, 2019b).

Segundo dados do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), a quantidade de agroquímicos comercializada no país passou de 162.461,96 t de ingrediente ativo em 2000 para 539.944,95 t em 2017. Os herbicidas lideram o ranking de vendas por classe de usos de produtos formulados, representando 58,45% do total, seguido por fungicidas, 12,06%, e por inseticidas, 10,10% (IBAMA, 2018).

O herbicida glifosato foi o defensivo agrícola mais vendido no país em 2017 (IBAMA, 2018). O alto consumo desse produto é devido ao emprego de cultivares transgênicas resistentes ao mesmo (BOMBARDI, 2017). Essa tecnologia foi a principal responsável por reduzir custos e aumentar a produtividade de cultivos como a soja, o principal item de exportação do agronegócio brasileiro.

Segundo dados do Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal - SINDIVEG, as culturas com maior emprego de agroquímicos no país em 2018 foram a soja, a cana de açúcar e o milho, representando respectivamente 50, 12 e 11% do total comercializado (SINDIVEG, 2019a).

Contudo, as culturas com maior quantidade média de litros de agroquímicos aplicados por hectare, em 2015, foram o fumo, com 60 l ha⁻¹, seguido por algodão (28,6 l ha⁻¹) e por cultivo de cítricos (23 l ha⁻¹) (PIGNATI et al., 2017).

Na atualidade, o debate sobre o uso de agrotóxicos no país acirrou-se em função da aprovação do Projeto de Lei (PL) nº 6.299/02 pela Câmara dos Deputados em junho de 2018. Esse projeto foi proposto com o objetivo de acelerar o processo de registro para facilitar a entrada de tecnologias mais modernas e eficazes no mercado, já empregados em países como Estados Unidos e União Europeia, entre os maiores usuários por hectare de agroquímicos, principalmente devido ao controle de insetos e patógenos nas culturas agrícolas do trigo e da batata, principais fontes de carboidratos desses países e citados como necessários à sua segurança alimentar, para evitar a fome.

Além disso, segundo Carlos Venâncio, coordenador-geral da área de agrotóxicos do Ministério da Agricultura, o grande desafio é aumentar a fiscalização no campo, para garantir o uso seguro e evitar o contrabando de produtos formulados com substâncias não permitidas no Brasil (G1, 2019).

5 Métodos Alternativos de Controle de Doenças de Plantas

No momento atual a sociedade demanda produção de alimentos de forma sustentável, visando o menor consumo de recursos naturais e preservando a flora e a fauna de acordo com as leis brasileiras. O conceito de agricultura sustentável envolve o manejo adequado dos recursos naturais, evitando a degradação do ambiente e permitindo a satisfação das necessidades humanas das gerações atuais e futuras (GHINI; BETTIOL, 2000). Porém a sociedade deve ficar atenta também à sustentabilidade social, cultural e financeira dos produtores rurais. Caso falem recursos financeiros, o destino do produtor será migrar para as grandes cidades, fenômeno já bem conhecido no Brasil. No sentido de reduzir o uso de agroquímicos, um caminho sem volta para a humanidade, em função dos problemas ambientais e risco a saúde humana, a pesquisa vem estudando diversos métodos e produtos para controlar pragas e doenças de plantas (BETTIOL; GHINI; MORANDI, 2005).

Entre os principais métodos de controle de doenças de plantas, está o melhoramento genético. O sonho da humanidade é a resistência geral e irrestrita à todas as pragas e doenças e ainda ter plantas altamente produtivas, somente com a fertilidade natural dos solos e preservando os recursos hídricos, em qualquer parte do planeta. Como ainda esse sonho é impossível, embora todos nós o desejamos implantar em futuro próximo, além do controle químico, podemos utilizar métodos alternativos, entre eles o controle físico, cultural, o uso de agentes de controle biológico, indução de resistência, melhoramento genético de plantas, preservar a boa fertilidade do solo e a nutrição equilibrada das plantas, entre outros.

O controle biológico pode contribuir para o controle de doenças e pragas, aumento de produtividade e a redução dos impactos negativos causados por produtos químicos aplicados no campo, além de não apresentarem, na maioria das vezes, risco a saúde humana, desde que devidamente estudados e comprovados segundo as leis brasileiras (PIRES et al., 2016; HAHN, 2014; RIGOTTO et al., 2014). No Brasil entre os anos de 2018 a 2019, o mercado de produtos biológicos para controlar pragas e doenças agrícolas cresceu mais de 70%, tendo movimentado R\$ 464,5 milhões em contraste ao ano de 2017, cujo o valor foi de R\$ 262,4 milhões (MAPA, 2019c). Nessa linha, outro método alternativo é o uso de biopesticidas. Quaisquer produtos produzidos por microrganismos, substâncias naturais ou resultantes de plantas modificadas geneticamente (USEPA, 2019). Esses compostos também necessitam ser identificados quimicamente, para conhecer seus princípios ativos, toxicidade à flora e a fauna e obedecer a regulamentos para uso no campo, seguindo as leis vigentes do país, para evitar qualquer contaminação da flora, da fauna e da população. Ou seja, devem ter registro para o uso ao qual são destinados, nos órgãos governamentais, igual aos demais produtos utilizados na agricultura.

A indução de resistência busca ativar mecanismos de defesa inativos. Esses podem ser acionados por alguns agentes de indução, bióticos ou abióticos, tornando-se também ótima ferramenta no processo de controle. A resistência induzida é obtida quando a planta reconhece a infecção do patógeno ou o contato com a praga e dessa forma ativa os seus mecanismos de defesa, para sobreviver (CARVALHO, 2012). Por meio da ativação de mecanismos latentes na

planta, além da resistência das mesmas também pode se obter altas produtividades e grãos de melhor qualidade (PASCHOLATI et al., 2015), com equilíbrio de gastos de energia da planta.

O emprego da nutrição mineral como forma de aumentar a resistência das plantas às doenças também é uma opção viável. Segundo Pozza e Pozza (2003), plantas com deficiência ou excesso de nutrientes normalmente são vulneráveis à ocorrência de doenças. O balanço de nutrientes no solo e na planta com fornecimento sustentável de água contribui para estabelecer barreiras de resistência, principalmente as horizontais, como a camada de cera e a parede celular, entre outras. Essas barreiras reduzem a taxa de progresso da doença e assim a intensidade da doença, como observado em estudos dos aspectos espaço-temporais da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro, com análise geoestatística (SILVA et al 2019, DA SILVA et al 2018).

A nutrição mineral equilibrada está relacionada ao menor progresso de doenças, pois favorece o acúmulo de compostos inibidores ao redor do sítio de infecção e/ ou barreiras mecânicas a penetração e a infecção por patógenos. Porém não é possível generalizar o efeito de um nutriente para todas as combinações patógeno-hospedeiro. Ainda há necessidade de mais estudos acerca do controle de doenças de plantas com a nutrição mineral em sistemas integrados, principalmente nas regiões tropicais. Pensando em indução de resistência e nutrição mineral, o uso de nanopartículas (NPs) é promissor para o controle de doenças de plantas. Seu tamanho nanométrico resulta em alta relação superfície/volume, capaz de gerar alto contato com as membranas microbianas (ALLAKER, 2010; MORONES et al., 2005). As NPs demonstraram atividade na supressão de doenças de plantas, quando integradas às estratégias de controle de doenças como bactericidas/fungicidas, e também como nanofertilizantes de plantas. Além disso, algumas NPs de Ag e Cu podem ser diretamente tóxicas para os microrganismos e as de B, Cu, Mn, Si e Zn alteram o estado nutricional do hospedeiro e, assim, ativam os mecanismos de defesa (ELMER; MA; WHITE, 2018).

O controle cultural de doenças consiste na manipulação das condições do campo de cultivo desde o pré-plantio até a colheita, de modo a reduzir a ocorrência da epidemia, por reduzir o contato entre o hospedeiro e o inóculo viável, reduzindo a taxa de infecção e o subsequente progresso da doença (ROTEM; PALTI, 1980). Um exemplo de controle cultural é a operação de “roguing”, prática utilizada para evitar disseminação de doenças e diminuir o inóculo de patógenos. Cita-se também o método do alqueive para o controlar nematóides, cujo procedimento consiste em deixar a área sem vegetação (cultura ou plantas daninhas) por um período prolongado, para reduzir a população de nematóides a níveis abaixo do limite de dano econômico (PINHEIRO; AMARO; PEREIRA, 2011). Mesmo em curto período de duração, isto é, por 30 a 45 dias resulta em redução de populações de *Meloidogyne* spp. (DI VITO; CARELLA, 1985; CAMPOS, 1987).

Já, dentre os métodos físicos, a eficácia da termoterapia, exposição das sementes à ação do calor em combinação com o tempo de tratamento, tem sido demonstrada em vários estudos (TRIGO, 1998; MACHADO, 2000; COUTINHO, et al., 2007).

Vale ressaltar ainda o uso de tecnologias como imagens aéreas obtidas por drones e satélites no monitoramento de doenças de plantas, de modo a gerar diagnósticos mais rápidos e com isso possibilitar uma melhor estratégia de manejo (FRANCHINI et al., 2018), além de possibilitar

a pulverização em áreas específicas na dose certa e no momento correto. A estimativa de parâmetros biofísicos e bioquímicos com alta acurácia e baixo custo são importantes para práticas de manejo sustentáveis e do potencial produtivo de sistemas de produção dentro dos conceitos da agricultura de precisão (VIBHUTE; BODHE, 2012).

6 Considerações e Perspectivas

A agricultura brasileira tem o desafio de se adaptar e desenvolver novas estratégias para atender a atual demanda mundial por alimentos, de modo a produzir de forma mais sustentável, seja ambiental, social, cultural e financeira, dentro dos anseios globais do “Pensamento Verde”, de maneira a se consolidar como o maior fornecedor de alimentos do mundo, respeitando os princípios da sustentabilidade em todos os níveis. Todavia, as medidas para isso já estão sendo tomadas na ciência, com empenho de milhares de pesquisadores ao redor do mundo, com a geração e o desenvolvimento de pesquisas para fornecer alimentos com o emprego mínimo de agroquímicos e fertilizantes, se possível orgânicos e ainda de baixo custo para alimentar a população mundial com produtos em quantidade, com qualidade e adequado ao futuro ambientalmente correto das próximas gerações.

Referências

- AGROSTAT. **Estatísticas de Comércio Exterior do Agronegócio Brasileiro**. Disponível em: <http://indicadores.agricultura.gov.br/agrostat/index.htm>. Acesso em: 18 de set. 2019.
- ALLAKER, R. P. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. **Journal of dental research**, v. 89, n. 11, p. 1175-1186, 2010.
- ANDA - Associação Nacional para Difusão de Adubos. **Principais indicadores de fertilizantes**. Disponível em: http://anda.org.br/wp-content/uploads/2019/08/Principais_Indicadores_2019.pdf. Acesso em 12 de out. 2019
- BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M. A. B. Alguns métodos alternativos para o controle de doenças de plantas disponíveis no Brasil. **Embrapa Meio Ambiente-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2005.
- B LUM, M. M. C.; REIS, E. M. Phakospora pachyrhizi in vitro sensitivity to fungicides. **Summa Phytopathologica**, v.39, n. 3, p. 215-216, 2013.
- BOMBARDI, L. M. **Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Europeia**. São Paulo: USP, 2017.
- BRASIL. **Lei no 12.651, de 25 de maio de 2012**. Dispõe sobre a proteção da vegetação nativa; altera as Leis nos 6.938, de 31 de agosto de 1981, 9.393, de 19 de dezembro de 1996, e 11.428, de 22 de dezembro de 2006; revoga as Leis nos 4.771, de 15 de setembro de 1965, e 7.754, de 14 de abril de 1989, e a Medida Provisória no 2.166-67, de 24 de agosto de 2001; e dá outras providências. Brasília: Congresso Nacional, 2012.
- BRASIL. Lei no 13.295, de 14 de junho de 2016. Altera a Lei no 12.096, de 24 de novembro de 2009, a Lei no 12.844, de 19 de julho de 2013, a Lei no 12.651, de 25 de maio de 2012, e a Lei no 10.177, de 12 de janeiro de 2001. Brasília: Congresso Nacional, 2016.

CAMPOS, V.P. Sobrevivência de *Meloidogyne javanica* no solo e em raízes de tomateiros. **Summa Phytopathologica** 13:191-196. 1987.

CARVALHO, N. L. Resistência genética induzida em plantas cultivadas. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 7, n. 7, p. 1379-1390, 2012.

CASTRO, S.H.; REIS, R.P.; LIMA, A.L.R. Custos de produção da soja cultivada sob sistema de plantio direto: estudo de multicaseiros no oeste da Bahia. **Ciência e agrotecnologia**, v. 30, p. 1146-1153, 2006.

CAVALETT, O.; ORTEGA, E. Emergy, nutrients balance, and economic assessment of soybean production and industrialization in Brazil. **Journal of Cleaner Production**, v. 17, n. 8, p. 762-771, 2009.

CHIAVARI, J.; LOPES, C. L. Os caminhos para a regularização ambiental: decifrando o novo código florestal. 2016.

CNT - Confederação Nacional do Transporte. O transporte move o país: Resumo das propostas da CNT ao país. Brasília: 2019. Disponível em: http://cms.cnt.org.br/Imagens%20CNT/PDFs%20CNT/Propostas%20aos%20Candidatos/Documento_final_integra.pdf. Acessado em: 19 de set. 2019.

COUTINHO, W. M.; SILVA-MANN, R.; VIEIRA, M.G. G.C.; MACHADO, C. F.; MACHADO, J. C. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho submetidas a termoterapia e condicionamento fisiológico. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 6, p. 458-464, 2007.

DA SILVA, M. G.; POZZA, E. A.; CHAVES, E.; NETO, H. S.; VASCO, G. B.; DE PAULA, P. V. A. A.; DORNELAS, G. A.; ALVES, M. C.; SILVA, M.L. O.; POZZA, A. A. A. Spatio-temporal aspects of brown eye spot and nutrients in irrigated coffee. **European Journal Of Plant Pathology**, v. 153, p. 931-946, 2018

DECHEN, S.C.F.; TELLES, T.; GUIMARÃES, M.F.; MARIA, I.C. Perdas e custos associados à erosão hídrica em função de taxas de cobertura do solo. **Bragantia**, v. 74, n. 2, p. 224-233, 2015.

DI VITO, M.N.G.; CARELLA, A. Population densities of *Meloidogyne incognita* and yield of *Capsicum annum*. **Journal of Nematology** 17:45-49. 1985.

ELMER, W. MA, C.; WHITE, J. Nanoparticles for plant disease management. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, v. 6, p. 66-70, 2018.

EMBRAPA TERRITORIAL. **Agricultura e preservação ambiental**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/car/resultados>. Acessado em: 19 de set. 2019.

FAOSTAT. Food and agriculture 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#home>. Acesso em: 17 de set. 2019.

FERREIRA FILHO, J. B. S.; RIBERA, L.; HERRIDGE, M. Deforestation control and agricultural supply in Brazil. **American Journal of Agricultural Economics**, v. 97, n. 2, p. 589-601, 2015.

FRANCHINI, J. C.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; JORGE, L. A. C.; DEBIASI, H.; DIAS, W.P.; GODOY, C.V.; OLIVEIRA JÚNIOR, A.; OLIVEIRA, M.C.N. **Uso de imagens aéreas obtidas com drones em sistemas de produção de soja**. Embrapa Soja-Documents (INFOTECA-E), 2018.

G1. **Brasil usa 500 mil toneladas de agrotóxicos por ano, mas quantidade pode ser reduzida, dizem especialistas**. Disponível em: <https://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2019/05/27/brasil-usa-500-mil-toneladas-de-agrotoxicos-por-ano-mas-quantidade-pode-ser-reduzida-dizem-especialistas.ghtml>. Acesso em: 07 de nov. 2019d.

GHINI, R.; BETTIOL, W. Proteção de plantas na agricultura sustentável. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 17, n. 1, p. 61-70, 2000.

HAHN, M. The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: Botrytis as a case study. **Journal of Chemical Biology**. v. 7, n. 4, p. 133-141, 2014.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Relatório de comercialização de agrotóxicos**. 2018. Disponível em: <https://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#sobreosrelatorios>. Acesso em: 12 de set 2019.

INCRA – INSTITUTO NACIONAL DE COLONIZAÇÃO E REFORMA AGRÁRIA. Sistema Nacional de Cadastro Rural (SNCR). INCRA, 2016.

MACHADO, J.C. Tratamento de sementes no controle de doenças. **Lavras: Laps/Ufla/Faepe**, v. 200, 2000.

MAPA– Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Notícia - **Exportações do agronegócio garantiram superávit da balança comercial 2019a**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/exportacoes-do-agro-garantiram-superavit-da-balanca-comercial>. Acesso em: 08 de nov 2019.

MAPA– Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Notícias - **Ranking da FAO mostra que uso de defensivos no Brasil é menor que em diversos países da Europa 2019b**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/ranking-da-fao-mostra-que-uso-de-defensivos-no-brasil-e-menor-que-em-diversos-paises-da-europa> Acesso em: 07 de nov. 2019.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Mercado de Biodefensivos Cresce mais de 70% no Brasil em Um Ano**. 2019c. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/feffmercado-de-biodefensivos-cresce-em-maisde-50-no-brasil>. Acesso em: 16 de out. 2019.

MATSON, P.A.; NAYLOR, R.; ORTIZ-MONASTERIO, I. Integration of environmental, agronomic, and economic aspects of fertilizer management. **Science**, v. 280, n. 5360, p. 112-115, 1998.

MIRANDA, E. Reportagem do Jornal ‘O Estado de São Paulo’. Disponível em: <https://digital.estadao.com.br/o-estado-de-s-paulo/20191104>. Acesso em: 08 de nov. 2019d.

MORONES, J.R.; ELECHIGUERRA, J. L.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J. B.; RAMÍREZ, J. T.; YACAMAN, M. J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Nanotechnology**, v. 16, n. 10, p. 2346, 2005.

MOURA, Bianca de. **Ferrugem-asiática da soja: interações entre cultivares e volumes de calda no controle da doença e sensibilidade de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas**. 2018. 118 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, 2018.

PASCHOLATI, S. F.; MELO, T.A. de; DALIO, R.J.D. Indução de resistência contra patógenos: definição e perspectivas de uso. **Visão agrícola** nº13 jul, p. 110-112, 2015.

PIGNATI, W.A.; SOUZA E LIMA, F.A.N.; LARA, S.S.; CORREA, M. L. M.; BARBOSA, J. R.; LEÃO, L. H. C.; PIGNATTI, M. G. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 3281-3293, 2017.

PINHEIRO, J. B.; AMARO, G. B.; PEREIRA, R. B. Nematoides em pimentas do gênero Capsicum. Embrapa Hortaliças-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2011.

PIRES, C.S.S.; PEREIRA, F.M.; LOPES, M.T.R.; NOCELLI, R. C. F.; MALASPINA, O.; PETTIS, J. S.; TEIXEIRA, E. W. Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD?. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 422-442, 2016.

FAO Statistical. World food and agriculture. FAO: Rome, Italy, 2019.

POZZA, E. A.; POZZA, A. A. A. Manejo de doenças de plantas com macro e micronutrientes. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 52-54, 2003.

RIGOTTO, R.M; VASCONCELOS, D.R.; ROCHA, M.M. Pesticide use in Brazil and problems for public health. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, p. 1360-1362, 2014.

ROTEM, J.; PALT, J. Epidemiological factors as related to plant disease control by cultural practices. Comparative epidemiology: a tool for better disease management. **Wageningen:Centre for Agricultural Publishing and Documentation**, p. 104-116, 1980.

SINDIVEG - Sindicato Nacional da Industria de Produtos para Defesa Vegetal. Comercialização de Defensivos Agrícolas no Brasil. **O que você precisa saber sobre defensivos agrícolas**. Disponível em: <https://sindiveg.org.br/wp-content/uploads/2018/08/oquevoceprecisasabersobre-defensivosagricolas.pdf>. Acesso em: 08 de nov. 2019.

SILVA, M. G.; POZZA, E. A.; Vasco, G. B.; FREITAS, A. S.; CHAVES, E.; PAULA, P. V. A. A.; DORNELAS, G. A.; ALVES, M. C.; SILVA, M. L. O.; POZZA, A. A. A. Geostatistical analysis of coffee leaf rust in irrigated crops and its relation to plant nutrition and soil fertility. **Phytoparasitica**, v. 46, p. 1-18, 2019.

SOUZA, J.A.; BUZETTI, S.; TARSITANO, M.A.A.; VALDERRAMA, M. **Lucratividade do milho em razão das fontes, doses e épocas de aplicação de nitrogênio**. Ceres, v. 59, n. 3, 2015.

TISOT, B. **O comportamento da ferrugem asiática na soja ao longo dos anos, dificuldades de controle e seus custos**. [S. l.], 28 jul. 2016. Disponível em: www.pioneersementes.com.br/media-center/artigos/193/o-comportamento-da-ferrugem-asiatica-na-soja-ao-longo-dos-anos-dificuldades-de-controle-e-seus-custos. Acesso em: 16 out. 2019.

TRIGO, M. F. O. Tratamento térmico em sementes de cenoura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 3, p. 357-361, 1998.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. Washington, D.C. **What are biopesticides**. Disponível em: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/what-are-bio-pesticides>. Acesso em: 16 de out. 2019.

USGS - United States Geological Survey. **Global Food Security-Support Analysis Data at 30 m**. Disponível em: <https://www.usgs.gov/>. Acesso em: 19 de set. 2019.

VIBHUTE, A.; BODHE, S. K. Applications of image processing in agriculture: a survey. **International Journal of Computer Applications**, v. 52, n. 2, 2012.

CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO E CRIAÇÃO DE NOVOS FUNGICIDAS

Felipe Douglas Soares Leal¹
Edson Ampélio Pozza²
Rafaela Balisa Massote¹
Indiara Carol Lopes Pinheiro¹
Eduardo Alves da Silva³
Thamires Yslanny Oliveira Souza¹
Nevenka de Matos Moura¹
Maria Carolina de Carvalho Rocha Souza⁴
Joana Caroline D'arc de Oliveira⁴
Maria Eduarda Rodrigues Andrade⁴
Anny Kellen Miranda Pereira⁴
Weslei Alan Carvalho Nascimento⁴

1 Fungicidas – Ainda Precisamos?

O crescimento da população ao longo dos séculos acarretou o aumento da demanda mundial por alimentos, principalmente, no século XX. Segundo a teoria de Thomas Malthus, criada em 1798, o número de pessoas aumentaria em taxa geométrica, enquanto a produção de alimentos de forma aritmética. Essa situação levaria a escassez de alimentos em todo o mundo, aumentando ainda mais a desigualdade social.

Mas por que as previsões de Malthus ainda não se consolidaram? Existem várias teorias. Entre elas, a de ocorrência de guerras e de doenças, responsáveis por reduzir a população e a sua taxa de crescimento exponencial. Entretanto, o grande aumento, foi o da produção agrícola, ou seja, a oferta de alimentos. Baseado na “revolução verde”, tendo o Prof. Norman Ernest Borlaug, da Universidade de Iowa, como o seu maior defensor e representante no cenário mundial (THE NOBEL PRIZE, 2019). Essa reviravolta agrícola teve como alicerce quatro pilares principais para aumentar a oferta de alimentos, quais sejam, o uso de variedades resistentes e de pequeno porte, para facilitar a mecanização, a irrigação, o uso de produtos químicos (fertilizantes e defensivos). Essa, ainda é a teoria mais aceita para a quebra da teoria Malthusiana. A garantia de maior estabilidade das safras agrícolas e o aumento das colheitas leva a segurança alimentar, ou seja, a oferta de alimentos em quantidade suficiente para suprir a fome. Uma das principais causas de guerra na história da humanidade. Inicialmente os conflitos podem ser políticos, mas depois, a fome leva aos horrores já presenciados inúmeras vezes através dos

1 Pós-graduando em Fitopatologia, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras.

2 Professor, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras – MG, edsonpozza@gmail.com

3 Doutorando em Fitotecnia, Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras

4 Graduando em Agronomia, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras.

séculos. Quem não se lembra de Scarlett O'Hara no clássico filme "E o vento levou", em um ato de desespero, no cenário arrasado pela guerra de secessão nos Estados Unidos, arrancou com suas mãos o alimento do solo para comer, e dizendo a frase que nunca queremos falar: "Com Deus por testemunha, nunca mais passarei fome!". No Brasil, o pintor Candido Portinari, perpetuou esse cenário com detalhes em seu quadro "Os Retirantes", com imigrantes em carne e osso, imagem recorrente ainda em nossos dias, em várias partes do globo. Por várias pessoas ao redor do mundo não terem falado a frase da atriz do filme, o Prof. Borlaug foi agraciado com o Prêmio Nobel da Paz em 1970 (THE NOBEL PRIZE, 2019).

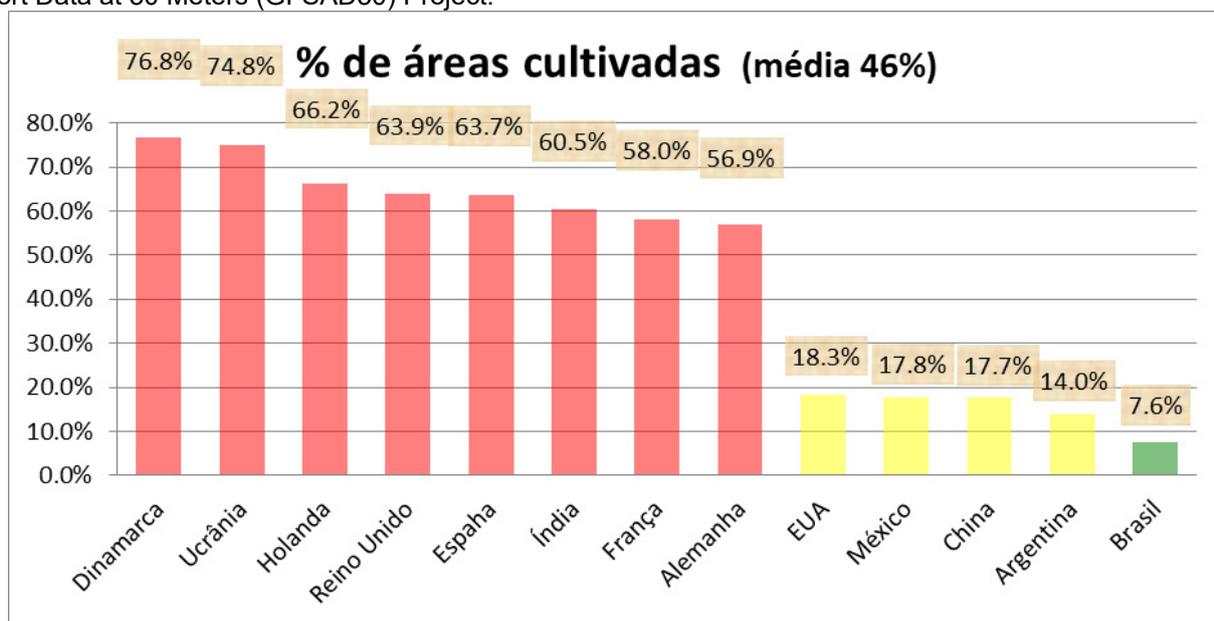
O Brasil adotou esses princípios de produção agrícola e entre outros grandes projetos agrícolas, foi criado o Programa de Desenvolvimento dos Cerrados – POLOCENTRO em 1975 e o Programa Nacional para Aproveitamento de várzeas Irrigáveis - PROVÁRZEAS NACIONAL em 1981, para produzir no bioma cerrado e incrementar a produção de arroz em várzeas, respectivamente (BRASIL, 1975; BRASIL 1981). Em ambos os projetos a antiga ESAL (Escola Superior de Agricultura de Lavras) e atualmente UFLA (Universidade Federal de Lavras), teve papel de destaque. Ainda não existia a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), a qual teve início com o importante papel e persistência administrativa do ex-diretor da Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL) à época, o Prof. Alysso Paolinelli e sua equipe. A EMBRAPA, assim como várias outras instituições de pesquisa no Brasil, têm em seu quadro de cientistas, os mestres e doutores formados não somente na UFLA, mas em vários centros de ensino superior do Brasil. A ciência básica, na maioria das vezes, tem sua origem nessas escolas.

Esses projetos ajustaram a realidade dos diferentes tipos de solo e do clima brasileiros aos princípios da revolução verde. Os solos do Brasil, pobres em nutrientes, sem fertilidade natural, a maioria não armazena água, os latossolos e cambissolos, ácidos e muitas vezes com alumínio tóxico as plantas. Ainda com diferentes tipos de clima e chuvas concentradas em determinados períodos, podendo ser mal distribuídas. Ou seja, "em se plantando tudo dá", será? Essa frase escrita por Pero Vaz de Caminha ao rei Dom Manuel em 1º de maio de 1500, contando sobre a nova terra, o "Brasil", foi imortalizada e ainda é pensamento vivo em várias partes do mundo por aqueles que não conhecem a nossa realidade. É claro, "tudo dá", desde que o agricultor utilize a tecnologia proveniente da pesquisa, para realizar a calagem, adubar, utilizar sementes resistentes a doenças e pragas, de cultivares de alta produtividade, irrigar e manter a água no solo, otimizando seu uso e ainda pulverizar os agroquímicos na dose certa e no momento correto, respeitando o período de carência, ou seja, o prazo entre a última aplicação e a sua colheita. Esse sistema de produção, baseado em muita ciência e fiscalizado por leis rigorosas e órgãos de controle tanto no Brasil quanto fora dele, é responsável por alimentar mais de 1 bilhão de pessoas no mundo, com grande chance e necessidade de aumentar.

Atualmente, a produção agrícola brasileira (Grãos, café, laranja, entre outros) utiliza cerca de 7,8% do território brasileiro (EMBRAPA, 2019). Em outro estudo, a NASA afirma que o Brasil cultiva 7,6% do seu território (NASA/USGS, 2019) (Figura 1). Preservamos ainda, cerca de 66% do território nacional, em Áreas de Proteção Ambiental (APA's), Áreas de Proteção Permanente (APP's), terras indígenas, reservas florestais, reservas legais, entre outros e o agricultor é responsável por manter cerca de 25% desse total. No bioma Amazônico é ainda maior a conservação, 86% da sua área, incluindo seus

grandes espelhos de água. Uma exceção no mundo moderno, quando vários países desenvolvidos, membros da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico - OCDE utilizam mais de 50% do seu território e preservam menos de 10% da sua área florestal (Figura 1). E mais, chegam a consumir quase 70% dos derivados de petróleo em todo o mundo, direta ou indiretamente, principalmente para aquecer seus lares durante o inverno rigoroso ou ainda consumindo os produtos de fábricas instaladas em outros países.

Figura 1: Porcentagem de terras cultivadas por país. Fonte: Global Cropland (2019). Global Food Security Analysis Support Data at 30 Meters (GFSAD30) Project.



Certamente, no Brasil, não é preciso desmatar, pois existem áreas de pastagens degradadas. Essas áreas não se enquadram no princípio de tratar as pastagens como lavouras, ou seja, deve ser realizada a conservação do solo, a calagem e a adubação, entre outras práticas, para evitar a mineração do solo ou o extrativismo dos poucos nutrientes disponíveis em nossos solos. **NÃO PODEMOS MINERAR O SOLO**, para produzir alimentos, ou ainda realizar o extrativismo, para qualquer cultura agrícola. É necessário alocar nutrientes e corrigir a acidez de nossos solos para produzir em escala capaz de alimentar a população, hoje de vários países.

A falta de conhecimento sobre a realidade do solo e do clima do Brasil estimula influenciadores a formular frases em redes sociais onde disseminam a ideia de Pero Vaz de Caminha, de maneira equivocada. Ainda existem pessoas disseminando ideias sobre ser possível produzir dentro da floresta em escala capaz de alimentar os quase 8 bilhões de habitantes do planeta Terra, apenas utilizando os recursos minerais desse bioma, sem repor sua fertilidade, ou ainda, retirar a matéria orgânica de áreas de floresta e inserir em ambientes de alta produtividade. Ou seja, ainda somente retirando da mata. Com certeza, a floresta será levada a extinção, pois está em equilíbrio, não se pode extrair desses biomas de forma indefinida. Os nutrientes, como K, Ca, Mg, P, entre outros, não são transportados por chuva em quantidade suficiente para produzir em áreas agrícolas de alta produtividade. A tecnologia utilizada atualmente, ainda não é suficiente para tal.

O futuro então será utilizar ao mínimo os agroquímicos, podendo chegar a grandes cultivos orgânicos, mas ainda não temos tecnologia, fabricação e logística suficiente para tal. Com certeza, esse caminho não tem volta, pois precisamos do planeta habitável para as próximas gerações. Esse é o papel das instituições de pesquisa no Brasil e no mundo, migrar para a agricultura com o uso mínimo de insumos e produzir alimentos de baixo custo, de qualidade e em quantidade suficiente para a sociedade.

Atualmente vivemos a nova “revolução verde”, na qual o uso da engenharia genética, biotecnologia e nanotecnologia resultam no aumento da produtividade na mesma área produtiva, ou seja, sem avançar sobre a floresta, porém em consonância com os preceitos da sustentabilidade ambiental e segurança alimentar e do ‘Pensamento Verde’. Nesse contexto, sim ainda precisamos dos fungicidas, o Manejo de Doenças de Plantas conta com esses produtos para contribuir no controle de patógenos. Sendo necessário o desenvolvimento de novos princípios ativos, geralmente agrupados em grupos químicos, mais sustentáveis e respeitando os princípios já citados.

2 A História dos Fungicidas

Ao final da segunda guerra mundial a humanidade teve acesso a grupos químicos de produtos desenvolvidos durante esse triste evento e também foi dado início a projetos de pesquisa e desenvolvimento de novas gerações de moléculas por grandes corporações. Entre esses produtos, os fertilizantes, herbicidas, inseticidas e fungicidas (SERRA et al., 2016). Entre esses, serão abordados os fungicidas. Muitos deles desenvolvidos para controlar patógenos em humanos, aos quais temos fácil acesso em farmácias e até mesmo em supermercados, caso de produtos para controle da caspa, muitos do grupo do triazóis, dos fármacos para controlar vermes, como as lombrigas e também piolhos, do grupo dos benzimidazóis e das ivermectinas, respectivamente, utilizados também na agricultura.

Seu uso é relatado desde as civilizações antigas, embora de forma empírica (SOUZA; DUTRA, 2003). A história dos fungicidas é dividida em quatro ‘Eras’. Na primeira predominou o uso do enxofre, entre o período de 1000 a.C. até a descoberta dos cúpricos. A segunda, conhecida como a Era do Cobre, teve início em 1882 e durou até 1934. Nesse período foi desenvolvida a calda bordalesa, seu descobridor, o ‘ampelografista’ e botânico Pierre Marie Alexis Millardet, professor da Universidade de Bordeaux na França, região que deu nome a calda cúprica. Esse produto, a base de cobre, é usado ainda nos dias atuais. Na terceira Era (1934) predominaram os fungicidas orgânicos e na quarta (1966) o desenvolvimento dos fungicidas sistêmicos (SOUZA; DUTRA, 2003) (Figura 2).

Figura 2: Histórico do desenvolvimento de fungicidas.



Fonte: Adaptado de: IAMAUTI, M. (2014).

No início do século XX os estudos em fitopatologia avançaram significativamente, no entanto, voltados para as doenças mais comuns, principalmente do hemisfério norte. Dessa forma o controle era voltado principalmente para a horticultura, com destaque para o cultivo da batata e de plantas de jardim (RUSSELL, 2005). Segundo o mesmo autor, o uso de substâncias com propriedades fungicidas permitiu maior controle de doenças, contudo, até meados da década de 1950, pouco se preocupava com a toxicologia dos mesmos. As aplicações eram realizadas, muitas vezes sem o uso de equipamentos de proteção individual (EPI's), pois não existiam regras e regulamentações voltadas a segurança do operador e tão pouco o conhecimento sobre seus impactos ambientais, muitas vezes devido a não existir ainda tecnologia suficiente para tal.

No entanto, o uso contínuo e excessivo de um mesmo modo de ação teve seus resultados negativos. A resistência a fungicidas já começou a ser observada em 1960, em sementes tratadas com compostos organomercuriais, mas não foi considerado um grande risco (NOBLE et al., 1966). Algumas estratégias visando mitigar os problemas gerados foram a mistura de moléculas, retirada de compostos de modo de ação específicos por um tempo, na esperança dos indivíduos resistentes desaparecerem das populações. Todas as estratégias empregadas foram úteis, porém, não foram bem-sucedidas. O mercúrio, por ser um metal, capaz de acumular no ambiente, tóxico aos humanos em doses baixas, foi banido da agricultura posteriormente.

No final da década de 1970, essa situação estava causando efeitos graves e ameaçava o uso de produtos de grupos químicos semelhantes de diferentes fabricantes. Assim, a indústria iniciou um projeto de colaboração entre as empresas, com a formação do Comitê de Ação de Resistência a Fungicida ou FRAC, no início dos anos 1980 (RUSSELL, 2005) a fim de coordenar estratégias de gerenciamento de produtos em risco de desenvolvimento de resistência.

Novos fungicidas poderiam ser descobertos dentro dos grupos de ação já empregados no manejo de doenças e também em grupos com modos de ação completamente novos. Fungicidas com um novo modo de ação (preferencialmente com baixo risco de resistência e específicos para um ou poucos patógenos ou um alvo específico) de baixa toxicidade ao ambiente, tanto a flora quanto a fauna e aos humanos, são de interesse especial para a humanidade. Igualmente importantes são os novos fungicidas com moléculas e modos de ação conhecidos, no entanto, as suas características de sistemicidade e cura, são aprimoradas para elevar a longevidade do controle da doença e evitar a pressão de seleção a indivíduos resistentes.

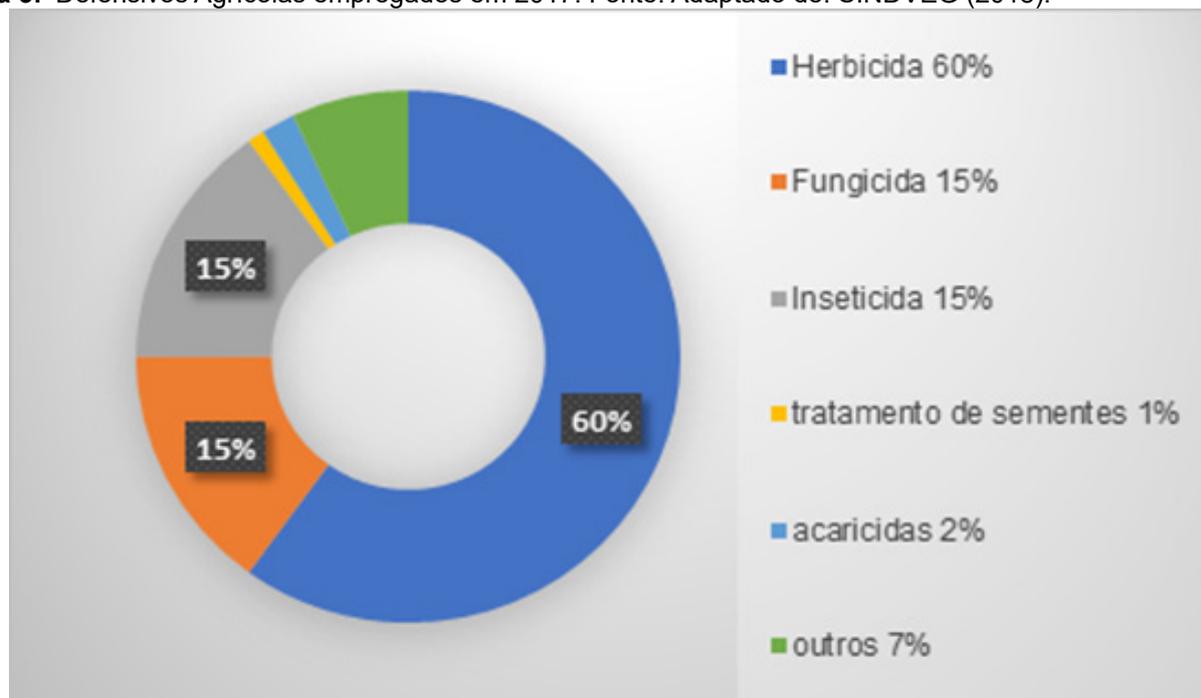
Como ensinado nas escolas de agronomia, a vida útil ou a longevidade de fungicidas de modo de ação específico, sistêmicos e curativos, são prolongadas se forem misturados a outros de diferentes grupos químicos e principalmente se essa mistura for realizada com os multissítios ou ainda se forem alternadas aplicações com esses produtos.

Deve-se sempre lembrar, o produtor “JAMAIS” poderá basear sua estratégia de manejo de doenças somente no emprego de fungicidas. O patógeno é um dos vértices do triângulo da doença, os outros dois são o patógeno e o ambiente. Deve-se prezar por manter a disponibilidade de água no ambiente, fertilizar de forma adequada o solo e com isso nutrir as plantas adequadamente para manter suas estruturas ou barreiras de resistência, utilizar cultivares com diferentes sistemas de resistência aos patógenos, realizar o controle físico e biológico, prezar por uma semente sem patógenos ou com o mínimo possível de contaminação entre várias outras medidas de manejo. Sendo assim, somos o quarto elemento ou vértice formador dos pilares do controle de doenças, responsáveis por integrar todas as medidas de manejo, tomando as decisões corretas e não pensando somente no controle químico, para buscar a sustentabilidade tão almejada no “Pensamento Verde”.

3 Como os Fungicidas são Desenvolvidos

Os agroquímicos têm sido empregados com bons resultados na agricultura desde o final da segunda guerra mundial, protegendo as lavouras contra perdas causadas por pragas e doenças (SERRA et al., 2016). Dependendo da cultura o controle químico é a opção mais viável de manejo (SOUZA; DUTRA, 2003). Considerados elementos essenciais nos programas de proteção de plantas, os agroquímicos mais empregados são os herbicidas, os fungicidas e os inseticidas (Figura 3).

Figura 3: Defensivos Agrícolas empregados em 2017. Fonte: Adaptado de: SINDVEG (2018).



A grande vantagem do controle químico está na facilidade de sua aplicação e na obtenção rápida dos resultados, a exploração comercial de diversas espécies de plantas seria impossível sem o emprego de fungicidas em locais ou épocas sujeitas a doenças. Apesar disso, o seu uso em larga escala não diminui a ocorrência de insucessos no manejo de doenças, um exemplo disso é a pressão de seleção, a qual favorece a multiplicação de indivíduos geneticamente resistentes (SOUZA; DUTRA, 2003). A resistência a fungicidas pode ser definida como uma redução da sensibilidade (herdada ou adquirida) de um fungo a um fungicida. Isso resulta na alteração da sensibilidade a determinado modo de ação específico, aplicado sucessivas vezes no tempo e no espaço (FRAC, 2019).

As grandes companhias reúnem, continuamente, informações para entender melhor as necessidades do cliente, à ação do produto de interesse e como será a conjuntura do mercado no futuro. As informações sobre a necessidade de novos produtos são originadas pela equipe de campo do fabricante, informações de pesquisas de uso de agroquímicos, grupos de consumidores, pesquisadores universitários e do governo e de serviços de marketing e consultoria, entre outros.

O processo de desenvolvimento de novos produtos é longo, dinâmico e contínuo. Além disso, o posicionamento correto na identificação das necessidades dos agroquímicos de amanhã, significa sucesso para o fabricante, garantindo o primeiro passo para estabelecer novo nicho de mercado e gerar lucro. Todos esses preceitos estão relacionados às exigências dos consumidores. Atualmente com grande exigência por produtos capazes de respeitar o 'Pensamento Verde' e assim garantir o futuro das próximas gerações.

Após confirmar a necessidade de novos produtos, a empresa pode optar por objetivos em curto prazo, englobando uma modificação ou mistura de moléculas já existentes ou a longo prazo, com a busca de uma nova molécula a qual apresente uma maior eficiência

O alto nível de risco no investimento da descoberta, desenvolvimento e lançamento de um agroquímico vem fazendo com que a quantidade de novas moléculas introduzidas ao mercado venha diminuindo com o passar dos anos. Dois fatores principais acarretam esse risco, o tempo de desenvolvimento para se obter um produto final moderno e o incerto mercado dos sistemas biológicos, ou melhor da interação entre planta, patógeno e os hospedeiros.

A corrida por uma nova molécula custa em média US\$ 180 milhões – mais o custo de uma nova fábrica – para introduzir um ingrediente ativo no mercado com toda a sua rede de logística e distribuição, podendo chegar esse montante a bilhões de dólares (WHITFORD et al., 2006).

3.1 A Descoberta de Uma Molécula – A Pesquisa

O processo de descobrimento, desenvolvimento e formulação de uma molécula em agroquímicos é arriscado e leva normalmente de um a dois anos para determinar se possui propriedades úteis. As moléculas podem ser obtidas de diversas maneiras, os fabricantes podem adquiri-las por meio de compras, vendas ou trocas com outros laboratórios comerciais, empresas farmacêuticas e universidades. Outras moléculas podem ser selecionadas em programas de computador, com base em características e requisitos determinados internamente e ainda a partir da mineração em ambientes com grande biodiversidade de flora e de fauna (WHITFORD et al., 2006). Começar essa triagem, utilizando compostos com atributos ideais, pode aumentar substancialmente a chance de sucesso (ZHANG et al., 2018).

A construção de uma molécula com potencial provém de conhecimento científico, fornecendo uma base para bioquímicos, químicos e tecnólogos projetarem as moléculas com a eficácia desejada (WHITFORD et al., 2006). Essas então devem proteger as culturas, assim como os inimigos naturais e organismos benéficos e assim obter total segurança ambiental e alimentar (BHATTACHARYYA et al., 2009). Conseqüentemente ocorre um direcionamento para o uso de moléculas com menores taxas de aplicação e melhor perfil toxicológico (DONATE; FREDERICO, 2019). Mesmo porquê essa é a exigência atual da população global.

Geralmente, uma grande equipe de pesquisadores, com laboratórios bem equipados e com recursos fartos, determina os sítios metabólicos mais adequados nos organismos alvo e visualizam a estrutura de uma enzima ou receptor a fim de determinar como as moléculas interagem e inibem a enzima alvo, podendo projetar uma nova molécula, baseada inteiramente em uma modelagem computacional.

O processo examina infinidades de moléculas na busca de algumas candidatas promissoras, e sendo este muito oneroso, os pesquisadores devem eliminar moléculas questionáveis o mais rápido possível. Dessa forma, podem focar seus recursos em compostos comercializáveis. Para isso, usufruem de computadores e programas eficazes para classificar, selecionar e descartar moléculas oferecidas para venda por meio de fornecedores. Esses programas geram informações como pesos moleculares, grupos funcionais e outras características químicas de cada exemplar, com base em sua estrutura. As empresas dispõem de listas eletrônicas de moléculas, os compostos virtuais e suas estruturas para comprarem (WHITFORD et al., 2006).

A grande parte dos agroquímicos existentes foi descoberta por meio de procedimentos de triagem baseados em testes de tentativa e erro. Nesse sentido, houve a redução do emprego das técnicas de identificação computacional de compostos químicos, comumente aplicadas em pesquisas farmacêuticas. A fim de reduzir o tempo das fases de pesquisas e atender às exigências de mercado, a aplicação de novos métodos acaba tornando o processo de descoberta de novos compostos mais eficiente (DONATE; FREDERICO, 2019).

As moléculas existentes são avaliadas com base em critérios de seleção específicos de cada empresa e mudam de acordo com o objetivo do produto final desejado. Um exemplo é a eliminação de moléculas com metais pesados e a seleção de outras, de acordo com propriedades físicas necessárias para a mobilidade nas plantas. Esse procedimento intitulado de '*screening*' virtual é mais rápido e barato comparado com a realização da seleção no alvo biológico, tanto em ambiente controlado quanto no campo.

Os fabricantes não estão interessados apenas na busca de uma molécula química para utilizar na agricultura, mas sim na descoberta de moléculas para atender às necessidades dos produtores e competitivas no mercado. Muitas delas podem ter origem na indústria farmacêutica, destinadas a controlar doenças em humanos.

Após a seleção, as moléculas passam por um '*screening*' biológico, para medir sua atividade biológica, por meio de testes de alto rendimento, usando métodos analíticos típicos para medição. As moléculas sem atividade biológica em doses razoáveis são eliminadas. Outros métodos são utilizados para testar a atividade de um composto, envolvendo o uso de um inseto, planta daninha ou patógeno. Além disso, são realizadas investigações mais profundas com o intuito de observar se as moléculas possuem características químicas desejáveis e um nível de atividade biológica. Quando as moléculas são consideradas fracas em algumas situações, passam por um processo de modificação para torná-las mais ativas, testando as moléculas mediante "indicadores". Após o *screening* biológico, podem ser realizados os processos de produção de moléculas análogas, formas diferentes de uma mesma molécula. Uma única molécula pode desenvolver mais de 500 análogos. (WHITFORD et al., 2006).

Para obter novas moléculas é necessário preparar vários compostos análogos dessa matéria prima, obtida por '*screening*', para avaliação da atividade biológica. Em seguida, os resultados são utilizados em uma nova avaliação. Dessa vez, da relação entre a estrutura química de uma molécula e sua atividade biológica, em diferentes formulações, destinadas a constituir uma nova série de agroquímicos. As moléculas podem demonstrar impacto ambiental desfavorável e apresentarem características tóxicas para a planta. Enquanto, os análogos podem ser desenvolvidos com a capacidade reduzida de toxidez para humanos, plantas hospedeiras, vida selvagem e ambiente como um todo (DONATE; FREDERICO, 2019).

Após o processo de síntese de moléculas, iniciam-se os testes em estufas ou ambientes controlados. Os pesquisadores e suas equipes podem passar semanas ou meses para sintetizar compostos em laboratório em quantidade suficiente para os testes futuros. A seguir, a molécula começa a ser testada contra organismos listados nos objetivos estabelecidos, no "marketing" do produto, pelas empresas. Muitas moléculas não conseguem avançar além desse ponto, por

muitas razões. Entre elas, por suas atividades observadas durante o processo de triagem inicial das moléculas não se consolidarem na avaliação em casa de vegetação, ocorrer alguma fitotoxicidade, não ser economicamente viável para produtores ou a baixa solubilidade do produto em água, entre outros. Geralmente apenas uma ou duas moléculas justificam os testes em casa de vegetação (WHITFORD et al., 2006).

Também serão realizados testes, dentro do processo de avaliação da molécula, quanto a sua toxicidade aguda em animais de laboratório, em sua maioria, os testes são realizados utilizando-se do princípio ativo da molécula, a fim de aprovação do produto no mercado. Antes da inserção desses produtos químicos no mercado e no ecossistema é fundamental ocorrer a avaliação de genotoxicidade, entre outros, com base na possibilidade de efeito causado por esse agroquímico. Tendo em vista a avaliação das substâncias e obtendo resultados, estes serão significativos na construção de políticas e regulamentos internacionais na proteção da saúde humana, animal e do meio ambiente (JOSEPH et al., 2019). Todos esses procedimentos ainda dentro do local de desenvolvimento da nova molécula ou grupo químico.

Os pesquisadores identificam as doses ideais e o espectro de pragas e doenças a serem controladas por meio de pesquisas. Testes preliminares são realizados para estabelecer a dose correta, tornando referência experimental em casa de vegetação, sendo comparados e testados com doses três níveis mais alto ou mais baixo à dose definida em diferentes condições de temperatura e umidade para as culturas alvo. As variações nos resultados com essas diferentes quantidades permitem avaliar de forma abrangente como podem agir em diferentes estádios de vida e ambientes. Outro método aplicado, ao invés de utilizar seringas ou pulverizador manual para aplicar essas doses, é utilizar um protótipo de pulverizadores de grande porte, para simular o campo de produção. Esses testes auxiliam principalmente na identificação das doses de aplicação, época e os estádios mais sensíveis das pragas e culturas.

Após a fase de descobrimento da molécula, a qual normalmente dura de três a quatro anos, de obter as autorizações necessárias para realizar os testes de campo, chega-se a fase denominada de pré-desenvolvimento. Nesse ponto, a empresa deve decidir se deseja continuar a pesquisa sobre os poucos compostos experimentais viáveis restantes. Para isso é necessário saber se a molécula possui potencial para gerar lucros à empresa. (WHITFORD et al., 2006). Assim, é constituída uma equipe de vários departamentos da empresa trabalhando coletivamente, desenvolvem um caso de negócios, e geram previsões financeiras a partir de perguntas como, por exemplo:

- A. Quanto o cliente pagará pelo produto?
- B. Qual participação no mercado de curto e longo prazo pode se esperar do produto?
- C. Quanta receita de vendas o produto gerará?

Nesse momento os gerentes técnicos reúnem dados biológicos, de casas de vegetação e campo, resumidos em um conjunto de suposições técnicas os quais direcionam as previsões do mercado. Então, profissionais de “marketing” transformam suposições técnicas em projeções de vendas e estabelecem a missão da empresa (WHITFORD et al., 2006). Para isso devem ter delineado suas principais metas, valores e em quais âmbitos pretendem atuar a organização (nicho

de mercado, locais geográficos de atuação, setor, etc.). Para obter sucesso é necessário a missão ser breve e demonstrar de forma clara e objetiva os propósitos definidos. (ABDALLA, 2019).

Depois de demonstrados todos os dados e pressuposições, a gerência possui uma difícil decisão a tomar, levando em consideração não apenas os custos das pesquisas e descobertas, mas os custos de desenvolvimento e “marketing” adicionais.

Posteriormente, decidido avançar com as pesquisas, durante os anos finais dos testes em campo, muitas vezes em vários países, os quais duram de três a quatro anos, os pesquisadores fazem simulações das práticas utilizadas por agricultores em relação a termos de aplicação e o cultivo das culturas, expandindo os experimentos para diversas regiões. Dessa forma, permitem a análise estatística completa com diferentes variáveis. São verificadas misturas de tanque com outros produtos, a tolerância de diferentes variedades da cultura, o controle de pragas e doenças secundárias e a utilização secundária por meio do mercado. Nesta fase também será definida a dose ideal de uso do produto, qual a melhor época de aplicação, como o tipo de solo, se for o caso, pode interferir na resposta do produto, dentre outros fatores considerados importantes. A empresa após todas as etapas pode decidir por fazer o composto comercial, ou terceirizar a produção desse composto.

Encerrada a fase de pré-desenvolvimento a empresa inicia o desenvolvimento do produto. Nessa fase o foco é coletar e redigir os relatórios necessários para registrar o produto, se for no Brasil, segundo a legislação brasileira de agrotóxicos. O envio e a aprovação do registro começam a partir de seis anos no processo de desenvolvimento e é encerrado aos oito a dez anos.

Apenas uma ou duas moléculas selecionadas justificam os testes em campo. Essas moléculas agora são chamadas de “candidatos do produto”. O volume utilizado nesse momento para realizar os ensaios em campo passa de miligramas (mg) para quilogramas (kg). Para liberar os ensaios, com maiores concentrações dos produtos devem ser realizados estudos ambientais e toxicológicos de longo prazo, em órgãos certificados e cadastrados junto aos órgãos públicos, incluindo ensaios de aplicação e exposição do usuário. As empresas utilizam de várias abordagens e protocolos específicos para realizar essas pesquisas no campo, além de instituições acadêmicas e instalações de pesquisa privadas para a triagem. Para isso, o produto deve ter o ‘Registro Especial Temporário’ ou ‘RET’, detalhado no próximo tópico.

Os protocolos utilizados nos primeiros testes de campo e os ensaios finais em casa de vegetação são quase idênticos. Assim a principal questão abordada é se os resultados no campo serão semelhantes aos de casa de vegetação. Nos ensaios conduzidos em campo, devido a quantidade de amostras, as parcelas são relativamente pequenas e replicados duas a quatro vezes, geralmente em diferentes áreas. Geralmente são utilizadas culturas indicadoras e estas são plantadas em áreas experimentais isentas de pragas, doenças e plantas daninhas, para impedir interferência não direcionada. Ao final do ensaio ocorrem coletas intensivas de dados, iniciando após aplicação dos tratamentos, com foco nas taxas necessárias para um controle efetivo. Dependendo dos alvos, podem ser avaliados alguns aspectos como a porcentagem de controle e quais pragas e doenças os tratamentos abrangem, a duração do efeito residual, caso haja, a rapidez da ação dos tratamentos, como a molécula se compara em relação aos produtos ou já

padrões de mercado de outras empresas concorrentes e como o desempenho é influenciado por características do solo e condições ambientais.

A equipe de pesquisa responsável analisa estatisticamente um grande volume de dados coletados, os pontos fortes e fracos do produto após os testes realizados no campo, onde determinam em quais culturas, pragas e doenças deverão ser utilizados, se a segurança e a seletividade a elas são um problema, como as pragas e doenças reagem às diferentes doses do produto, se o desempenho do produto final é confiável ao que foi proposto e se o desempenho do produto em campo se compara aos concorrentes e se satisfaz os padrões internos da empresa.

O mercado de produtos patenteados possui uma dinâmica definida devido às inovações tecnológicas, as estratégias de diferenciação correlacionados com a marca e qualidade. Esse processo está conectado basicamente com o desenvolvimento de novas moléculas com efeito agrônômico e menor toxicidade, para manter a integridade da saúde humana, animal e ao meio ambiente, além de obter a redução do ciclo de vida dos agroquímicos. Dentro desses processos, as grandes empresas utilizam das estratégias de marketing para divulgação do produto tanto quanto para reduzir o efeito da concorrência exclusiva de preços com outras empresas (HERMIDA, 2011).

Todos esses procedimentos podem ser realizados no país de origem da companhia ou empresa, porém, os testes de campo já podem ser desenvolvidos em países com culturas “alvo” não disponíveis na região do centro de pesquisa. Nesses locais estarão submetidas às leis do país e dos blocos econômicos a quais pertencem. Já se estiverem no Brasil terão de se submeter às leis do país e as regulamentações de seus diferentes ministérios, secretarias e órgãos, descritos em legislação própria, descrita a seguir.

4 A Legislação Brasileira para o Registro de Produtos Agrícolas – Agroquímicos

A demanda, as condições edafoclimáticas e a tecnologia de aplicação no Brasil, um país de dimensões continentais com diferentes tipos de clima, solo, culturas e outras variáveis, obviamente é diferente dos países de clima temperado. Normalmente esses países possuem inverno rigoroso, muitas vezes com neve, ocorrendo o decréscimo natural de pragas e de doenças e conseqüentemente os seus danos. Outra diferença está no fato desses países apresentarem apenas uma safra por ano. A demanda por um novo produto pode variar, principalmente em relação a natureza etiológica e epidemiológica da doença, da cultura e das condições climáticas. Todos esses aspectos podem influenciar a política de registro de novos produtos.

Vale ressaltar que os agroquímicos são os produtos com as mais rígidas legislações no mundo. Cada vez mais, os países estabelecem requisitos técnicos, por meio de normas, regulamentos e avaliações, não só para produção, aplicação, exportação e importação desses produtos, mas também sobre a responsabilidade de quem os recomenda. Sempre em consonância com as expectativas e demandas da população mundial, a qual exige, e com razão, o alinhamento com o pensamento e a sustentabilidade verde. Esse fato deve-se, principalmente, à periculosidade dos agroquímicos, “quando utilizados de forma indevida”, para a saúde humana

e para o ambiente (MAPA, 2012). Devido então, serem recomendados por profissional habilitado junto ao Conselho Regional de Engenharia e Agronomia (CREA) de cada estado, por meio de “Receituário Agrônomo” específico em “Anotação de Responsabilidade Técnica” (ART) própria de cada profissional, seguindo as leis Brasileiras.

A legislação brasileira é rígida em relação à preservação ambiental e o uso de agroquímicos. A Lei nº 6938 de 31 de Agosto de 1981 é regulamentada pelo decreto de nº 99274 de 6 de junho de 1990. Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente. Estabelece critérios para avaliar os impactos ambientais e o controle permanente de atividades potencialmente poluidoras, aliando o desenvolvimento econômico junto à proteção ambiental.

A Lei sobre Crimes Ambientais, nº 9605 de 12 de fevereiro de 1998 e o Decreto nº 6.514, de 22 de julho de 2008 dispõem sobre as sanções penais e administrativas oriundas de condutas ou atividades lesivas ao meio ambiente. Aplicando-se processo administrativo federal, civil e penal para apurar possíveis infrações ambientais (BRASIL, 2008).

O Brasil tem rigorosos critérios de regulamentação, pois é um importante competidor global na exportação de alimentos e na segurança alimentar global. Os órgãos nacionais responsáveis por setores da agricultura, da saúde e do meio ambiente (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA); Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA), avaliam a viabilidade do uso de agroquímicos e sua eficácia para conceder registros no Brasil, além disso, fiscalizam a segurança dos novos produtos para agricultura, os seres humanos e o meio ambiente.

Os órgãos de fiscalização se baseiam no decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, que regulamenta a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, com as alterações do decreto nº 5.981, 6 de dezembro de 2006 e o decreto N° 6.913, de 23 de Julho de 2009. Essa legislação contém a informação necessária para registrar produtos destinados à pesquisa e à experimentação agropecuária, registro de componentes, proibições, cancelamento e a sua impugnação, comercialização e distribuição de produtos entre outros atos pertinentes. Por regimento do decreto de N° 4.074, de 4 de janeiro de 2002 ficou definido:

“Agrotóxicos são produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento” (BRASIL, 2002).

Vale ressaltar que o artigo 10 D parágrafo 5° do decreto nº 6.913/09 designa produtos com uso aprovado para agricultura orgânica passam a ser denominados “produtos fitossanitários” (BRASIL, 2009).

Contudo, há no plenário federal um novo projeto de lei em apreciação, de N° 6.229 de 2002, o qual pretende alterar a lei N° 7.802, de 11 de julho de 1989. Entre outros objetivos, um

dos principais é a alteração do termo agrotóxico por “defensivos agrícolas” e/ou “produtos fitossanitários”, ou seja, o nome poderá ser alterado.

Ainda de acordo com o decreto N° 4.074, as instituições governamentais devem fiscalizar e regulamentar os novos produtos, respectivamente. De acordo com o artigo 5°, cabe o dever ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA):

“Avaliar a eficiência agronômica dos agrotóxicos e afins para uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas florestas plantadas e nas pastagens; e conceder o registro, inclusive o RET (Registro Especial Temporário), de agrotóxicos, produtos técnicos, pré-misturas e afins para uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas florestas plantadas e nas pastagens, atendidas as diretrizes e exigências dos Ministérios da Saúde e do Meio Ambiente” (BRASIL, 2002).

De acordo com o artigo 6° do decreto citado acima, cabe ao Ministério da Saúde por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA):

“Avaliar e classificar toxicologicamente os agrotóxicos, seus componentes, e afins, avaliar os agrotóxicos e afins destinados ao uso em ambientes urbanos, industriais, domiciliares, públicos ou coletivos, ao tratamento de água e ao uso em campanhas de saúde pública, quanto à eficiência do produto, realizar avaliação toxicológica preliminar dos agrotóxicos, produtos técnicos, pré-misturas e afins, destinados à pesquisa e à experimentação, estabelecer intervalo de reentrada em ambiente tratado com agrotóxicos e afins; conceder o registro, inclusive o RET, de agrotóxicos, produtos técnicos, pré-misturas e afins destinados ao uso em ambientes urbanos, industriais, domiciliares, públicos ou coletivos, ao tratamento de água e ao uso em campanhas de saúde pública, atendidas as diretrizes e exigências dos Ministérios da Agricultura e do Meio Ambiente; e monitorar os resíduos de agrotóxicos e afins em produtos de origem animal” (BRASIL, 2002).

O artigo 7° designa a obrigação do Ministério do Meio Ambiente por meio do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA):

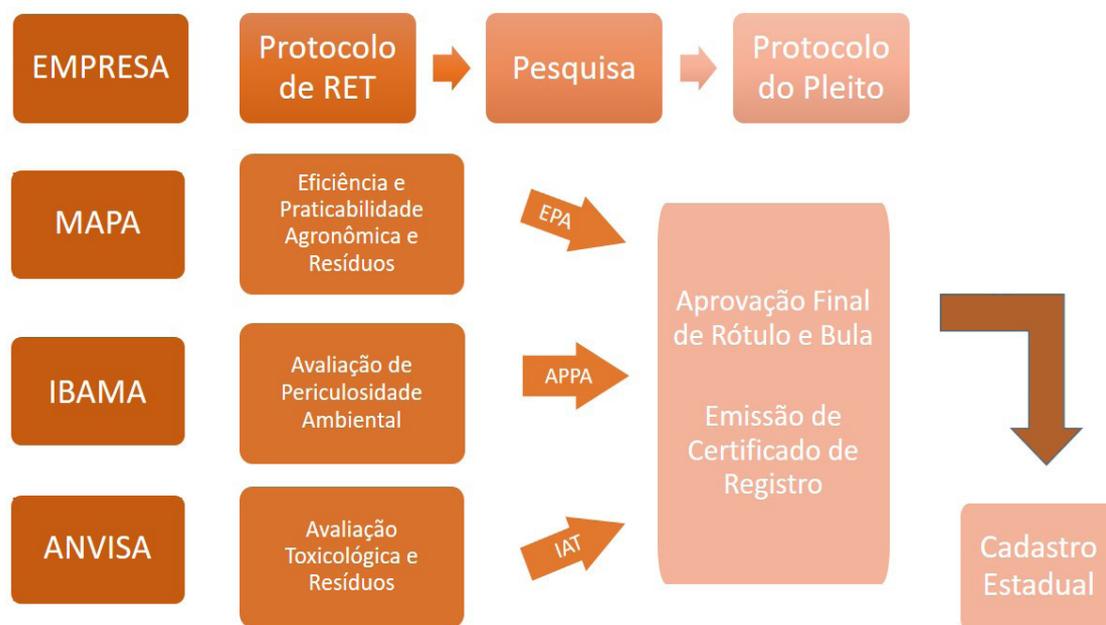
Avaliar os agrotóxicos e afins destinados ao uso em ambientes hídricos, na proteção de florestas nativas e de outros ecossistemas, quanto à eficiência do produto, realizar a avaliação ambiental, dos agrotóxicos, seus componentes e afins, estabelecendo suas classificações quanto ao potencial de periculosidade ambiental, realizar a avaliação ambiental preliminar de agrotóxicos, produto técnico, pré-mistura e afins destinados à pesquisa e à experimentação, conceder o registro, inclusive o RET, de agrotóxicos, produtos técnicos e pré-misturas e afins destinados ao uso em ambientes hídricos, na proteção de florestas nativas e de outros ecossistemas, atendidas as diretrizes e exigências dos Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e da Saúde (BRASIL, 2002).

5 Processo de Registro

Para a descoberta de uma molécula capaz de atender às necessidades dos consumidores, cujas características toxicológicas, ecotoxicológicas e de eficácia agrônômica ainda são desconhecidas, serão realizadas caracterizações preliminares, para as quais se utiliza quantidades de 25g ou menos de produto sem a necessidade de solicitação de autorização ou registro ao governo. Porquê nesses casos a molécula pode não se caracterizar ainda como agrotóxico e, portanto, não seria regulada sob legislação específica de agrotóxicos e afins.

A partir do momento que a empresa deseja trabalhar com quantidades superiores a 25g ou define a molécula como agroquímico é dado início ao processo e interação com o setor regulamentador de agroquímicos (MAPA, 2012) (Figura 4).

Figura 4: Fluxograma para registro de defensivos agrícolas.



Fonte: Adaptado de: Reunião técnica sobre pesquisa com agrotóxico (2015).

Após os trabalhos preliminares com o desenvolvimento de moléculas, descritos anteriormente, inicia-se a pesquisa na área biológica, com testes em laboratório ou em casa de vegetação, do país onde pretende-se comercializar. Avaliando as moléculas mais promissoras no controle de doenças, insetos ou plantas espontâneas. Contudo anteriormente, cabe a empresa requerente do registro, pedir o Registro Especial Temporário (RET) o qual permite a utilização de um agrotóxico, componente ou afim para finalidades específicas em pesquisa e experimentação, por tempo determinado, podendo conferir o direito de importar ou produzir a quantidade necessária à pesquisa e a experimentação (BRASIL, 2002). Destinado a conceder o direito de utilizar um agroquímico, componente ou afim para finalidades específicas em pesquisa e experimentação, por até 3 anos, renováveis por igual período.

O RET possibilitará a importação/fabricação/formulação/utilização de quantidades específicas de agrotóxicos a serem utilizados em pesquisas e estudos, conduzidos no Brasil, com o objetivo de gerar dados necessários para compor os Relatórios Técnicos a serem protocolados em cada órgão para pleito do registro definitivo (MAPA, 2012). Desde que devidamente cadastradas no MAPA, ANVISA e IBAMA, entidades públicas e privadas de ensino, assistência técnica e pesquisa podem realizar experimentação e pesquisas, e fornecer laudos no campo da agronomia, toxicologia, resíduos, química e meio ambiente sobre tais produtos (BRASIL, 2002).

Essas instituições devem mensalmente informar ao MAPA as situações dos experimentos em andamento. Essa planilha será utilizada por fiscais para conferir se a documentação está em dia com as leis brasileiras, o trânsito dos produtos desde seu centro de origem, a localização do experimento, como e quando foram realizadas as pulverizações e se a produção das parcelas do ensaio com produtos em RET foram destruídas. Durante as pesquisas devem ser gerados relatórios demonstrativos do comportamento do produto em relação à toxicologia, potencial de contaminação ambiental, comportamento genético e possíveis efeitos no mecanismo hormonal (BRASIL, 2002).

Um ponto importante a abordar é, quando organizações internacionais responsáveis pela saúde, alimentação ou meio ambiente, das quais o Brasil seja membro integrante ou signatário de acordos e convênios, alertarem algum risco do uso de produtos (Agrotóxicos), caberá à autoridade brasileira competente tomar imediatas providências sobre a sua regulamentação (BRASIL, 2002).

Para efeito de registro e pedido de cancelamento ou impugnação de agrotóxicos e afins, todas as informações toxicológicas de contaminação ambiental e comportamento genético, bem como os efeitos no mecanismo hormonal, são de responsabilidade do estabelecimento registrante ou da entidade impugnante e devem proceder de laboratórios nacionais ou internacionais (BRASIL, 2002).

De maneira geral os requisitos referentes a aspectos de segurança e qualidade de agroquímicos e afins têm-se alterado com frequência, devido à rapidez com que novas tecnologias são desenvolvidas e adotadas, tanto para obter produtos mais adequados ao consumo, quanto para controlar a qualidade desses produtos nos vários estádios de produção, processamento e comercialização. Após a pesquisa e o desenvolvimento de uma molécula com atividade na proteção de plantas, a empresa detentora deve pleitear o registro do produto junto aos órgãos governamentais. O registro é básico para controlar a produção, importação, exportação, comercialização e no país, bem como sobre os seus efeitos no ambiente, na saúde e na agricultura.

Por meio da submissão dos registros, serão avaliadas por órgãos federais dos setores da saúde, do meio ambiente e da agricultura as características toxicológicas, ecotoxicológicas e a eficácia de cada produto a partir de dados encontrados nas pesquisas e estudos apresentados pelas empresas requerentes do registro (BRASIL, 2002).

A avaliação para registro no Brasil é realizada em três etapas:

1. A análise do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA);
2. A autarquia federal da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA);

3. E do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais (IBAMA).

O MAPA, além de avaliar a sua eficiência agrônômica, é o órgão responsável por conceder o registro federal.

A ANVISA realiza a avaliação do potencial toxicológico à saúde humana e da periculosidade ambiental do produto em estudo e encaminha seu parecer ao MAPA. A classificação do potencial de periculosidade ambiental obedece às diretrizes do Sistema de Classificação Globalmente Unificado (Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals — GHS, em inglês), padrão internacional endossado na Organização das Nações Unidas (ONU). Os produtos são classificados da seguinte maneira (BRASIL, 2019):

- I. Categoria 1: Extremamente tóxico- faixa vermelha,
- II. Categoria 2: Altamente tóxico - faixa vermelha,
- III. Categoria 3: Moderadamente tóxico - faixa amarela,
- IV. Categoria 4: Pouco tóxico - faixa azul,
- V. Categoria 5: Improvável de causar dano agudo – faixa azul; e
- VI. Não classificado: Não classificado (por não ter toxicidade) – faixa verde.

O IBAMA, por sua vez, realiza a avaliação ambiental, estabelecendo suas classificações quanto ao potencial de periculosidade ambiental (PPA). Esse procedimento inclui o estudo das informações físico-químicas do ingrediente ativo. Além de demonstrar seu comportamento no ambiente, estabelecer a toxicidade crônica e aguda para organismos não “alvos”, demonstrar o comportamento no solo e avaliar a toxicidade aos animais superiores.

Após obter o registro federal, os agroquímicos, obrigatoriamente devem ser comercializados mediante receituário agrônômico, emitido por profissional obrigatoriamente habilitado junto ao Conselho Regional de Engenharia e Agronomia (CREA) do seu estado, um órgão de fiscalização. Esse profissional vai preencher uma anotação de responsabilidade técnica (ART) para adquirir um determinado número de receituários a serem emitidos. Esse receituário possui mais de 20 itens a serem preenchidos por profissional habilitado. Desde a sua identificação junto ao CREA, do proprietário agrícola, o nome da doença, praga ou planta daninha e de seu agente etiológico, em qual cultura será empregado, o nome do produto comercial e de seu princípio ativo, pois o produtor poderá adquirir um genérico, incluindo sua dose no produto, sua formulação, sua dose prescrita em estrita relação com a bula registrada no MAPA e disponibilizada no sistema AGROFIT (http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons), a quantidade total a ser adquirida para a área a ser pulverizada, além dos EPI's, informações de pulverização e aplicação, entre outras informações. Ou seja, é extremamente técnico, completo e capaz de ser rastreado, caso ocorra qualquer inadequação ou casos de intoxicação.

Sendo assim, é imprescindível o preenchimento do receituário por profissional habilitado, o responsável por visitar a propriedade rural e diagnosticar a doença, praga ou planta daninha, e dentro dos princípios da ética, da honestidade e sempre pensando no juramento feito para concessão do seu diploma. O objetivo é evitar fraudes, desvios de conduta e principalmente zelar por um bem maior, a saúde dos consumidores e a preservação do ambiente.

A legislação também trata do transporte, armazenagem e aplicação de agroquímicos. Além disso, as embalagens vazias desses produtos devem ser obrigatoriamente encaminhadas para as centrais de descartes, de onde poderão ser recicladas ou incineradas. Em 2018 das embalagens de agroquímicos disponibilizadas no mercado agrícola brasileiro, aproximadamente 94% tiveram a destinação adequada, o que corresponde a 500 mil toneladas (INPEV, 2018). Essa relação é mensurada por meio da divisão do número de embalagens recebidas nas centrais de recolhimento e a quantidade de embalagens com produtos disponibilizadas no mercado. Contudo, existe a possibilidade de parte dos produtos disponibilizados para comercialização não terem sido utilizados por agricultores ou permaneceram em estoque nas empresas, dessa forma, ainda não foi possível a devolução. Do percentual, 93% das embalagens passíveis de reciclagem retornaram ao ciclo produtivo como matéria-prima e 7% foram incineradas (INPEV, 2018).

Como já dizia Theophrastus Bombastus Von Hohenheim, mais conhecido como Paracelso, “Todas as coisas são veneno e nada é desprovido de veneno. Somente a **dose** faz com que uma coisa não seja veneno!”. Ou seja, a dose diferencia o remédio do veneno. Portanto, é preciso consciência quanto ao uso dos agrotóxicos. Esses devem ser pulverizados na dose certa e no momento correto, respeitando sempre o período de carência.

Enquanto o produto está em fase de registro, a companhia já pode ou estar provisionando estoque do produto em outro país, onde é registrado, para importar posteriormente ou já construindo fábrica ou planta específica no Brasil. Nesse mesmo tempo as equipes de mercado ou “marketing” também poderão estar trabalhando no material de campanha para seu lançamento. Ao longo dessa fase, os produtos experimentais são colocados em ensaios em instituições de ensino e em parcelas de demonstração nas fazendas, sendo utilizados códigos ou acordos de confidencialidade, regulamentados por leis específicas.

Distribuidores, vendedores, compradores e consultores podem visitar os locais dos ensaios e aprenderem sobre o produto e como ele funciona. Esses testes adicionais constroem forte histórico de eficácia do produto e indicam como ele será empregado em sistemas de produção integrado.

Um dos processos mais complexos enfrentados nessa fase é o desenvolvimento do nome do produto. O nome escolhido deve ser fácil e lembrar o posicionamento desejado do produto. São abordados também os detalhes finais da fabricação do produto.

No caso do Brasil, ainda existem as características de grande extensão territorial do país, sua logística de distribuição por diferentes estados, os quais ainda podem possuir leis específicas, as diferentes culturas e características sociais do local onde será comercializado, a tributação em cascata, desde a importação de princípios ativos, fabricação, transporte e venda do novo produto, entre outros.

Após obter o número de registro do produto, a empresa começará a campanha publicitária multimídia focada principalmente em potenciais clientes, distribuidoras e revendas.

Os passos do plano de marketing são definidos por quatro elementos, sendo esses, o produto, o preço, a praça e a promoção. A partir desse meio as empresas definirão o plano de

marketing em cima do lançamento de novos produtos, estratégias de comunicação e mídia, canais de distribuição, estratégias de precificação, dentre outros processos. As ações previstas dentro do plano de marketing das empresas devem possuir um orçamento definido, projeções financeiras, previsões de retorno de investimento e controle das ações de marketing (ABDALLA, 2019). O plano de marketing consiste principalmente de:

- A. Princípios de mercado;
- B. Pontos fortes e vulnerabilidades competitivas do produto;
- C. Premissas e estimativas internas sobre custos de desenvolvimento e fabricação, cronogramas e preços;
- D. Canais de distribuição;
- E. Os “Cinco Ps do Marketing”: produto, praça, preço, promoção e pessoas;
- F. Estratégia de transferência de tecnologia para treinar representantes e clientes da empresa no uso e manuseio adequados.

Durante os anos de 2010 a 2014, os custos em Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) de agroquímicos convencionais nas cinco principais empresas do setor chegaram a 2,86 bilhões de dólares. Desse montante, 4,7 bilhões de dólares foram investidos na fase de Desenvolvimento, já na fase de Pesquisa o investimento foi de 5,1 bilhões de dólares. O custo médio para lançar um novo produto no mercado durante o período de 2010 a 2014 foi de 3,3 bilhões de dólares. O investimento das empresas em P&D pode representar de 6% a 7% das vendas (MCDUGALL, 2016).

Em outro estudo, foram levantados os gastos com P&D de 11 empresas do setor agroquímico a partir de 2014. O custo total dessas empresas foi de 2,62 bilhões de dólares no ano de 2014 (5,4% das vendas). Além disso, as 11 empresas forneceram dados sobre a expectativa de gastos com P&D no período de 2014 a 2019 e a projeção foi de aumento a uma taxa média de 4,1% p. a., ou seja, um aumento de 22,6% nos gastos (MCDUGALL, 2016).

6 Considerações

Com o aumento dos requisitos regulatórios, destinados as novas moléculas com melhores perfis ambientais, menos tóxicas a flora e a fauna e mais eficazes. Produtos antes comercializados já não alcançam os atuais padrões esperados e muitas vezes são banidos do mercado. Fazendo-se necessário a busca por novos compostos para atender as novas exigências e os anseios da população globalizada. Integradas por plataformas sociais e corretamente pensando verde e nas próximas gerações.

Essa busca torna-se cada vez mais desafiadora e com períodos de desenvolvimento maiores. Sendo necessário maior investimento por parte das companhias e setores públicos, universidades e empresas de pesquisas para desenvolver um novo agroquímico, um novo remédio para as plantas, um novo veneno para as pragas e patógenos, capaz de contribuir para a produção de alimentos em quantidade e de qualidade para a população.

O desenvolvimento de um novo produto é investimento de alto risco, pois o tempo necessário para iniciar o descobrimento de uma molécula e o seu eventual lançamento é extenso. Outro fator determinante para o sucesso do produto é relacionado ao mercado, muitas vezes incerto. Não obtendo nenhuma garantia da recuperação do investimento realizado.

Um produto de sucesso deve atender as exigências dos clientes, associando-o como uma verdadeira tecnologia inovadora, respeitando as leis ambientais, com menor toxicidade aos seres humanos e animais. Se possível agir de forma específica em um sítio da praga ou patógeno, que exista somente nesse indivíduo. Sem dúvida, no futuro, caso as cultivares ainda não sejam resistentes a todas as pragas e doenças, os agroquímicos serão de baixíssimo impacto ambiental e sem toxidez aos humanos. Esse certamente é o cenário almejado por todos e o que as novas gerações têm o direito de encontrar.

Referências

- ABDALLA, C. C. **Planejamento de vendas e técnicas de negociação**. Editora Senac São Paulo, 195p., 2019.
- BHATTACHARYYA, A. et al. New pesticide molecules, formulation technology and uses: Present status and future challenges. **The Journal of Plant Protection Sciences**, v. 1, n. 1, p. 9-15, 2009.
- BRASIL. Decreto Federal nº 75.320, de 29 de Janeiro de 1975. Dispõe sobre a criação do Programa de Desenvolvimento dos Cerrados (POLOCENTRO). **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF 30 de Jan. de 1975. Seção 1, p. 1382.
- BRASIL. Decreto Federal nº 86.146, de 23 de Junho de 1981. Dispõe sobre a criação do Programa Nacional para Aproveitamento de várzeas Irrigáveis - PROVÁRZEAS NACIONAL. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF 24 de Jun. de 1981. Seção 1, p. 1.1781.
- BRASIL. Lei de Nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998. Lei dos Crimes Ambientais; Lei da Natureza; Lei dos Crimes contra o Meio Ambiente. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF 12 de Fev. de 1998. Seção 1, p. 1.
- BRASIL. Decreto de nº 99274 de 6 de junho de 1990. Regulamenta a Lei nº 6.902, de 27 de abril de 1981, e a Lei nº 6.938, de 31 de agosto de 1981, que dispõem, respectivamente sobre a criação de Estações Ecológicas e Áreas de Proteção Ambiental e sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 07 de Jun. de 1990. Seção 1, p. 10887.
- BRASIL. Decreto Federal nº 4074, de 04 de janeiro de 2002. Regulamenta a lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 08 de Jan de 2002.
- BRASIL. Decreto Nº 6.913, de 23 de Julho de 2009. Acresce dispositivos ao Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, que regulamenta a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre o registro de produtos fitossanitários com o uso aprovado para agricultura orgânica. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF 24 de jul. de 2009. Seção 1, p. 8 - 9.
- BRASIL. Decreto nº 5.981, 6 de dezembro de 2006. Dá nova redação e inclui dispositivos ao Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, que regulamenta a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a

importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 07 de Dez. de 2006. Seção 1, p. 13.

BRASIL. Decreto nº 6.514, de 22 de Julho de 2008. Dispõe sobre as infrações e sanções administrativas ao meio ambiente, estabelece o processo administrativo federal para apuração destas infrações, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF 23 de Jul. de 2008. Seção 1, Página 1.

BRASIL. Lei nº 6938, de 31 de Agosto de 1981. Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 02 de Set. de 1981. Seção 1, p. 16509.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 12 de Jul. de 1989. Seção 1, p. 11459.

BRASIL. **Projeto de Lei de Nº 6.229 de 2002**. Câmara Legislativa Alteração dos art. 3º e 9º da Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Disponível em: <<https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/fichadetramitacao?idProposicao=46249>>. Acesso em: 15/09/2019.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 294, de 29 de Julho de 2019. Dispõe sobre os critérios para avaliação e classificação toxicológica, priorização da análise e comparação da ação toxicológica de agrotóxicos, componentes, afins e preservativos de madeira, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 de Jul. de 2019. Seção: 1, p. 78.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 294, de 29 de Julho de 2019. Dispõe sobre os critérios para avaliação e classificação toxicológica, priorização da análise e comparação da ação toxicológica de agrotóxicos, componentes, afins e preservativos de madeira, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 de Jul. de 2019. Seção: 1, p. 78.

BRASSARD, D. et al. **The Pesticide Marketplace**. 2006. Disponível em: <<https://www.extension.purdue.edu/extmedia/PPP/PPP-71.pdf>>. Acessado: 17/09/2019.

DONATE, P. M.; FREDERICO, D. Synthesis of New Agrochemicals. In: **Sustainable Agrochemistry**. Springer, Cham, 2019. p. 223-273.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Agricultura e Preservação Ambiental - Síntese Ocupação e Uso das Terras no Brasil**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/car/sintese>>. Acessado em: 22/10/2019.

FUNGICIDE RESISTENCE ACTION COMIITTEE (FRAC). **Definition of fungicide resistance**. Disponível em: <<https://www.frac.info/resistance-overview>>. Acessado em: 18/09/2019.

HERMIDA, C. C. **O nexó econômico-legal na lei sobre informações não divulgadas**. 2011. 97 p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Econômico) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

IAMAUTI, M. **Descoberta e desenvolvimento de fungicidas**. ESALQ, 2014. Disponível em: <https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/2268912/mod_resource/content/1/Fungicidas.pdf>. Acessado em: 20/09/2019.

INSTITUTO NACIONAL DE PROCESSAMENTO DE EMBALAGENS VAZIAS (inpEV). **Sistema Campo Limpo**. 2018. Disponível em: <<https://www.inpev.org.br/sistema-campo-limpo/em-numeros/>>. Acessado em: 14/11/2019.

JOSEPH, Sherin John et al. ASSAYS AVAILABLE FOR GENO TOXICITY ASSESSMENT OF AGROCHEMICALS: A REVIEW. **Plant Archives**, v. 19, n. 1, p. 25-32, 2019.

MCDUGALL, P. **The cost of new agrochemical product discovery, development and registration in 1995, 2000, 2005-8 and 2010-2014. R&D expenditure in 2014 and expectations for 2019**. March, 2016. Disponível em: <<https://croplife.org/wp-content/uploads/2016/04/Cost-of-CP-report-FINAL.pdf>>. Acessado em: 23/08/2019.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E MEIO AMBIENTE (MAPA) - **Manual de Procedimentos para Registro de Agrotóxicos**. Coordenação de agrotóxicos e afins, 2012. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/arquivos/manual-de-procedimentos-para-registro-de-agrotoxicos.pdf>>. Acessado em: 18/09/2019.

NOBLE, M.; MACGARVIE, Q. D.; HAMS, A. F.; LEAFE, E. L. Resistance to mercury of *Pyrenophora avenae* in Scottish seed oats. **Plant Path.**, v. 15, p 8-23, 1966.

RUSSELL, P. E. A century of fungicide evolution. **The Journal of Agricultural Science**, v. 143, n. 1, p. 11-25, 2005.

SERRA, L. S., MENDES, M. R. F., SOARES, M.; MONTEIRO, I. P. Revolução Verde: reflexões acerca da questão dos agrotóxicos. **Revista Científica do Centro de Estudos em Desenvolvimento Sustentável da UNDB**, v. 1, n. 4, jan/jul de 2016.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA VEGETAL (SINDIVEG). **O QUE VOCÊ PRECISA SABER SOBRE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS, 2018**. Disponível em: <<https://sindiveg.org.br/wpcontent/uploads/2018/08/oquevoceprecisasabersobredefensivosagricolas.pdf>>. Acessado: 18/09/2019.

SOCIEDADE NACIONAL DE AGRICULTURA (SNA). **94% das embalagens vazias de defensivos agrícolas têm destino certo no Brasil, 2014**. Disponível em: <<https://www.sna.agr.br/94-das-embalagens-vazias-de-defensivos-agricolas-tem-destino-certo-no-brasil/>>. Acessado em: 16/09/2019.

SOUZA, P. E.; DUTRA, M. R. . **Fungicidas no controle e manejo de doenças de plantas**. 1ª. Ed. Lavras: Editora UFLA, v. 1. 174p, 2003.

THE NOBEL PRIZE. **Norman Bourlaug – Facts**. Disponível em: <<https://www.nobelprize.org/prizes/peace/1970/borlaug/facts/>>. Acessado em: 17/10/2019.

UNITED STATES GEOLOGICAL SURVEY (USGS). **Global Food Security Support Analysis Data at 30m**. Disponível em: <<https://croplands.org/app/map/statsMap>>. Acessado em: 22/10/2019.

WHITFORD, F. et al. **The pesticide marketplace, discovering and developing new products**. Purdue University, 2006. Disponível em:<<http://www.ppp.purdue.edu/Pubs/ppp-71.Pdf>>. Acessado em: 17/09/2019.

ZHANG, Yu et al. Physicochemical property guidelines for modern agrochemicals. **Pest management science**, v. 74, n. 9, p. 1979-1991, 2018.

CAPÍTULO 3 - A DEFESA FITOSSANITÁRIA BRASILEIRA NO AGRONEGÓCIO MUNDIAL

Ângela Pimenta Peres¹

O agronegócio tornou-se reconhecidamente o setor mais dinâmico e competitivo da economia brasileira, mantendo uma progressiva trajetória de crescimento. O PIB do agronegócio brasileiro representa 22% do PIB total do país. Os empregos gerados pelo setor correspondem a 32% dos existentes atualmente, e os excedentes exportados têm, geralmente, correspondido nos últimos anos, a mais de 40% do valor total das exportações brasileiras. O saldo comercial do agronegócio tem sido positivo há décadas.

O Brasil exporta para mais de 140 países e é o maior exportador de açúcar, de suco de laranja, de café em grãos, do complexo soja (grãos, farelo e óleo), de carne de frango. Somos o segundo maior exportador de carne bovina, de milho e o quarto em carne suína. O país vem crescendo em algodão, em produtos hortifrutigranjeiros, flores e orgânicos; e é um grande exportador de produtos florestais e de fumo. Portanto, temos crescido em mercados de alimentos, energia e fibras, de forma sistemática, firme e com sustentabilidade.

O agronegócio brasileiro enfrenta inúmeros desafios e excelentes oportunidades de melhorias em várias frentes, com potencial significativo de ganhos econômicos e sociais. Alguns pontos fortes devem ser enfatizados: a existência de mais de 100 milhões de hectares de terra que podem ser incorporados ao processo produtivo, clima favorável, a existência de recursos humanos qualificados, de boa capacidade de gestão na produção e comercialização e bom nível de desenvolvimento tecnológico.

No entanto para continuar a atender à uma demanda mundial, que deve crescer 41% em 10 anos, o país deve construir e implementar uma estratégia que perpassa por vários aspectos, como a implementação de políticas voltadas para a indústria, visto que a agropecuária depende dos fabricantes de insumos e equipamentos, além de políticas efetivas para a indústria de alimentos, sem que isso signifique protecionismo ou subsídios.

Investimentos em logística e infraestrutura também são fundamentais, pois a agricultura brasileira de décadas atrás passou da região costeira e avançou rumo às fronteiras do centro-oeste, do nordeste e do norte. Mas a infraestrutura não acompanhou essa mudança e, portanto, são necessários investimentos em armazenagem, rodovias, ferrovias, hidrovias e portos.

O Brasil necessita ainda de mais investimentos em inovação, considerando a imensa onda de conectividade que vem chegando ao campo, além da preocupação com insumos cada vez mais sustentáveis e menos agressivos ao meio ambiente. É importante estimular o cooperativismo e o associativismo e o sindicalismo, bem como a assistência técnica e a extensão rural para que a tecnologia seja democratizada e não se transforme num elemento de concentração da renda no campo.

¹ Auditora Fiscal Federal Agropecuária, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA.

Não obstante os avanços e desafios apontados e que conduziram a trajetória de sucesso do agronegócio brasileiro, é imperioso destacar a relevância da existência de um Sistema de Defesa Agropecuária ágil, transparente e eficiente. No âmbito do Ministério da Agricultura (MAPA), a Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA) é a responsável pela coordenação e execução das ações de defesa agropecuária, o que inclui a Sanidade Vegetal.

Ao Departamento de Sanidade Vegetal e Insumos Agrícolas (DSV) cabe a missão de elaborar as diretrizes de ação governamental para a sanidade vegetal, com vistas a contribuir para a formulação da política agrícola. Assim, o DSV é o órgão da SDA que coordena as ações de defesa fitossanitária no Brasil e para isso tem a função de implementar as ações de vigilância fitossanitária; estabelecer os requisitos fitossanitários; prevenir e controlar pragas; fiscalizar o trânsito de vegetais e implementar ações de educação fitossanitária. O processo de gestão e de interlocução entre o DSV, por meio da SDA, suas unidades e os demais atores estaduais e municipais influenciam diretamente a execução das atividades e dos programas voltados para a defesa fitossanitária brasileira.

Neste contexto cabe ao MAPA o estabelecimento da Política Nacional de Sanidade Vegetal que é o conjunto de ações coordenadas pelo Estado que visem à sanidade dos vegetais e a sustentabilidade do agronegócio, sempre alinhada com o princípio científico, a transparência das decisões e a legislação vigente. Para isto existem acordos, organizações internacionais e bases legais norteadoras, tais como o Acordo SPS (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures” – SPS Agreement); a CIPV (Convenção Internacional de Proteção dos Vegetais); o COSAVE (Comitê de Sanidade Vegetal do Cone Sul); o Decreto de Sanidade Vegetal (24.114/1934); a Lei Agrícola (8.171/1991) e a Lei 9.712/98 SUASA.

O Acordo sobre Medidas Sanitárias e Fitossanitárias (Acordo SPS) estabeleceu os critérios que norteiam a ação dos governos na adoção de normas sanitárias e fitossanitárias, com o objetivo de evitar que medidas adotadas para proteger a saúde das pessoas, animais e plantas se tornem barreiras desnecessárias ao comércio. São três as organizações internacionais responsáveis pela harmonização das medidas adotadas individualmente e por estabelecer os padrões internacionalmente reconhecidos. São elas: a Organização Internacional de Epizootias (OIE), responsável por medidas de saúde animal, o *Codex Alimentarius*, para medidas de segurança de alimentos e a Convenção Internacional de Proteção de Vegetais (CIPV) responsável pela normatização da saúde das plantas, que é um tratado multilateral que inclui as Normas Internacionais de Medidas Fitossanitárias (NIMFs).

Através da CIPV, seus membros cooperam para combater pragas dos vegetais e seus produtos, evitando sua disseminação internacional e concordam que as medidas fitossanitárias aplicadas devem ser tecnicamente justificadas e não devem servir como barreiras encobertas ao comércio internacional. Cada país signatário da CIPV tem sua Organização Nacional de Proteção Fitossanitária (ONPF), responsável pela regulamentação fitossanitária nacional e pela fiscalização do seu cumprimento. A ONPF do Brasil, é o DSV - Departamento de Sanidade Vegetal e Insumos Agrícolas, vinculado à SDA-Secretaria de Defesa Agropecuária do MAPA.

O Comitê de Sanidade Vegetal do Cone Sul (COSAVE) é a Organização Regional de Proteção Fitossanitária e reúne as ONPFs dos países do Cone Sul: Brasil, Argentina, Paraguai, Uruguai, Peru, Bolívia e Chile. O COSAVE harmoniza procedimentos, define políticas regionais e fortalece os princípios do SPS e da CIPV.

O atual cenário do agronegócio tem imposto ao nosso país a necessidade de adaptação às normas internacionais, aos compromissos assumidos nos acordos e ao avanço do conhecimento técnico científico. Embora o Brasil seja signatário do SPS e da CIPV, sendo também membro do COSAVE, um desafio real envolve a atualização de todo o arcabouço legal nacional relacionado à sanidade vegetal, bem como a reestruturação de uma equipe forte de fiscalização e a capilarização das atividades dos órgãos que fazem parte do sistema brasileiro de defesa agropecuária.

Isso implica na implementação eficiente da Política Nacional de Sanidade Vegetal estabelecida, a qual pressupõe a existência de um marco legal apropriado para proteger os vegetais e seus produtos dos danos produzidos pelas pragas. Desta forma, a revisão do arcabouço legal de sanidade vegetal, especialmente o Decreto de Sanidade Vegetal nº 24.114 de 1934, é necessária para estabelecer o âmbito de atuação e distribuição de competências entre União, Estados, Distrito Federal e Municípios, oriundas de dispositivos constitucionais; além de atualizar conceitos e princípios estabelecidos nos acordos internacionais.

A organização de um sistema de sanidade agropecuária, com três instâncias de atuação na defesa agropecuária, foi instituída pela Lei nº 9.712/98 (SUASA). A implantação desse sistema depende da definição de uma estrutura organizacional capaz de permitir que cada instância atue e controle as etapas do processo da sua responsabilidade. Com melhor distribuição da mão de obra e sem sobreposição de ações, haverá melhoria da situação fitossanitária do país.

Além disso, existe a necessidade de estabelecimento de critérios básicos e homogêneos para abordar os problemas de detecção de pragas num determinado território, possibilitando uma rápida adoção de medidas fitossanitárias; a necessidade de caracterização de medidas preventivas, educativas ou punitivas visando desencorajar ações que representem risco contra o agronegócio nacional; e a necessidade de se estabelecer fontes de recursos complementares ao Orçamento da União, para custeio das atividades de Sanidade Vegetal.

Em atendimento à demanda dos mercados interno e externo, cada vez mais exigentes quanto à sanidade dos produtos de origem vegetal, o Governo Federal, em conjunto com os órgãos de defesa estaduais, implementa ações como campanhas de educação fitossanitária, planos de contingência e programas fitossanitários, além de estabelecer as normas técnicas de certificação fitossanitária.

A Certificação Fitossanitária é o processo que objetiva o cumprimento de uma série de procedimentos fitossanitários que resultam na emissão do certificado fitossanitário, uma ferramenta utilizada para evitar a introdução e/ou disseminação de pragas quarentenárias em um determinado local, região, estado ou país, ou ainda para limitar o impacto econômico de pragas regulamentadas. Praga quarentenária é todo organismo vivo exótico (animal, vegetal, fungo, vírus ou bactéria) de importância econômica para a área em perigo, onde ainda não se encontra

presente, denominada praga quarentenária ausente (PQA), ou, quando presente, não se encontra amplamente distribuída e sob controle oficial, denominada praga quarentenária presente (PQP).

O Sistema de Certificação Fitossanitária de Origem (SCFO) é uma exigência da Convenção Internacional para Proteção de Vegetais (CIPV), tendo como justificativa a manutenção do patrimônio fitossanitário, a competitividade, a harmonização de procedimentos e o atendimento ao Decreto de Sanidade Vegetal n.º 24.114.

Tendo como objetivo garantir a conformidade fitossanitária, assegurar a identidade e a origem do produto, dar credibilidade ao processo de rastreabilidade e sustentabilidade ao setor produtivo, a Certificação Fitossanitária envolve a seguinte estrutura documental básica:

- Certificado Fitossanitário de Origem (CFO);
- Certificado Fitossanitário de Origem Consolidado (CFOC);
- Permissão de Trânsito de Vegetais (PTV);
- Certificado Fitossanitário (CF) – para exportação;
- Certificado Fitossanitário de Reexportação (CFR).

A Certificação Fitossanitária é assistida por profissionais da iniciativa privada (Engenheiros Agrônomos ou Engenheiros Florestais), devidamente inscritos em curso específico organizado pelo MAPA e pelos órgãos estaduais. Posteriormente à aprovação dos profissionais no curso, estes são credenciados junto aos órgãos estaduais como Responsáveis Técnicos – RT, habilitados para emissão de documentos de certificação para atestar a sanidade do material vegetal comercializado.

O Certificado Fitossanitário de Origem - CFO e o Certificado Fitossanitário de Origem Consolidado – CFOC, emitidos somente por RTs habilitados, são os documentos que atestam a condição fitossanitária da partida de plantas ou de produtos vegetais de acordo com as normas de sanidade vegetal do MAPA ou requisito fitossanitário do país importador.

Estes documentos embasam a Permissão de Trânsito de Vegetais - PTV, documento emitido somente por Engenheiros Agrônomos e que acompanha todo o trânsito de partida (lote) de plantas, partes de vegetais ou produtos de origem vegetal com potencial de veicular praga para áreas consideradas livres de sua ocorrência. A emissão deste documento atesta a condição fitossanitária do material quando as pragas são regulamentadas por exigência do país importador ou da Unidade da Federação destinatária do produto. Por outro lado, se não houver regulamentação sobre a praga, o trânsito do produto é livre.

Especialmente para proteger o Brasil das Pragas Quarentenárias Ausentes (PQAs), o MAPA e a Embrapa estão trabalhando para a priorização das 20 pragas que, pelo menos por enquanto, não atingem as lavouras do Brasil, mas que precisam ser acompanhadas de perto para evitar desastres agrícolas, principalmente nas culturas como milho, soja, mandioca, batata, arroz e frutas. Existem atualmente cerca de 500 pragas quarentenárias - entre fungos, insetos, bactérias, vírus, nematoides e plantas daninhas - oficialmente reconhecidas como ausentes no Brasil. Das 20 pragas listadas como prioritárias, três já contam com planos de contingência: um inseto que ataca principalmente a maçã (*Cydia pomonella*), um fitoplasma que causa o amare-

lecimento-letal-do-coqueiro (*Candidatus Phytoplasma palmae*), e o fungo *Moniliophthora roreri*, que infecta os frutos do cacauzeiro.

Outras ações também são implementadas pelo MAPA, entre elas a Quarentena, que objetiva a prevenção da introdução e disseminação de pragas ausentes no Brasil, por meio do controle de vegetais e seus produtos importados. Para maior segurança na entrada e comercialização desses produtos no Brasil, o MAPA cadastra e credencia estações quarentenárias, bem como laboratórios de diagnóstico fitossanitários para exames de acarologia, bacteriologia, entomologia, micologia, nematologia e virologia nos produtos importados, criando uma rede capaz de identificar a praga para nortear as ações de controle.

Ainda relacionado à prevenção da entrada de pragas no Brasil, o MAPA executa a Análise de Risco de Pragas (ARP) que é o processo de avaliação biológica ou outra evidência científica e econômica para determinar se um organismo é uma praga, se ela deve ser regulamentada, e a intensidade de quaisquer medidas fitossanitárias a serem adotadas contra ela.

A ARP deve ser realizada quando estas nunca tiverem sido importadas pelo Brasil; quando houver novo uso proposto para o produto; provierem de novo país de origem; somente tiverem registro de importação em data anterior a 12 de agosto de 1997. Dependendo da categoria de risco do produto a ARP pode ser dispensada. Após a finalização do relatório de ARP pelos técnicos do MAPA, são estabelecidos os requisitos fitossanitários específicos para a importação da espécie vegetal/parte vegetal/uso proposto/país de origem. Uma proposta destes requisitos é enviada à ONPF do país exportador para manifestação. Segue um período de negociação entre as partes interessadas que finaliza com a publicação dos requisitos fitossanitários no Diário Oficial da União. Assim, a espécie vegetal/parte vegetal/país de origem é incluído na lista de Produtos Vegetais de Importação Autorizada – PVIA e tem a sua importação autorizada, sob o aspecto fitossanitário, pelo MAPA.

Em se tratando de garantia de qualidade fitossanitária de vegetais e seus produtos exportados, visando à abertura e manutenção dos mercados internacionais, o DSV do MAPA tem disponibilizado os requisitos fitossanitários de exportação na tabela de Requisitos Fitossanitários de Exportação (T-Rex). Os requisitos fitossanitários de exportação do país importador e disponibilizados no T-Rex poderão ser apresentados na Unidade da Vigilância Agropecuária do MAPA - Vigiagro do ponto de egresso, conjuntamente aos demais documentos obrigatórios para a operação. Contudo, importante alertar que os requisitos fitossanitários disponibilizados no T-Rex poderão ser alterados a qualquer momento pelas ONPFs dos países importadores, sem aviso prévio, portanto, ao exportar produtos vegetais, essas informações devem ser confirmadas pelo exportador junto às autoridades fitossanitárias do país importador.

Diante do exposto, para que o país continue a desempenhar papel relevante e possa se transformar de fato no celeiro do mundo, alimentando os 1,4 bilhões de novos consumidores em 2025, a Sanidade Vegetal deve ser fortalecida e enfrentada como uma questão de segurança nacional, devido à sua importância estratégica como instrumento de garantia da produção agropecuária, contribuindo para a sustentabilidade do agronegócio mundial, segurança alimentar e preservação dos recursos naturais.

Referências

SCOLARI, D. D. G. **Produção agrícola mundial: o potencial do Brasil**. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/160161/1/Producao-agricola-mundial.pdf>.

NOVAES, A. L. et. al. Análise dos fatores críticos de sucesso do agronegócio brasileiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**. Anais do 48 Congresso Brasileiro da SOBER, Campo Grande, 25 a 28 de julho de 2009.

STANCIOLI, A. R. **Análise de risco de pragas como política de viabilização de importação de produtos vegetais e de prevenção de entrada de organismos potencialmente prejudiciais à agricultura brasileira**. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Defesa Sanitária Vegetal, para obtenção do título de Magister Scientiae.

CAPÍTULO 4 - USE OF NANOTECHNOLOGY IN PLANT DISEASE SUPPRESSION

Júlia Marques Oliveira¹

Edson Ampélio Pozza²

Wade Elmer³

1 Abstract

Engineered nanoparticles are materials between 1-100 nm and exist as metalloids; metallic oxides; non-metals, carbon nanomaterials, and as functionalized dendrimers, liposomes, and quantum dots. Their small size, large surface area, and high activity has enabled their use as bactericides/fungicides and nano-fertilizers. Nanoparticles can be designed as biosensors for plant disease diagnostics and as delivery vehicles for genetic material, probes, and agrichemicals. In the past decade, reports of nanotechnology in phytopathology have grown exponentially. Nanomaterials have been integrated into disease management strategies, diagnostics, and as molecular tools. Most reports summarized herein are directed toward pathogen inhibition using metalloid/metallic oxide nanoparticles as bactericides/fungicides and as nanofertilizers to enhance health. The use of nanoparticles as biosensors in plant disease diagnostics is also reviewed. As global demand for food production escalates against a changing climate, nanotechnology could sustainably mitigate many challenges in disease management by reducing chemical inputs and promoting rapid detection of pathogens.

2 Introduction

Brazil is by far the fastest growing agricultural producer, with output expected to rise in the coming years. As effort to increase sustainable intensification of agriculture with low carbon production, new technologies must be developed to maximize production without increased energy inputs. One of the most important advances in the field of chemistry within the last 50 years has been the ability to synthesize nanomaterials with precisely controlled chemical compositions, surface chemistry, size, and shape that can be tailored to enable new and emerging applications.

The utilization of nanotechnology in plant disease management, diagnosis, and genetic transformations is growing. The cascade of information on nanoparticle use in agriculture is astounding. Therefore, we have restricted the chapter to brief definitions, synthesis, and a review of uses of nanotechnology in disease management and disease diagnostics, specifically as they relate to bactericides/fungicides and novel fertilizers to enhance disease resistance in agronomic system important to Brazil. Outside the scope of this report are an expanding array of new tools

¹ Graduate student, Agronomy/Plant Pathology, Department of Phytopathology, Federal University of Lavras, 37200-000, Lavras MG. julia.moliveira@ymail.com.

² Professor, Department of Phytopathology, Federal University of Lavras, 37200-000, Lavras MG. edsonpozza@gmail.com.

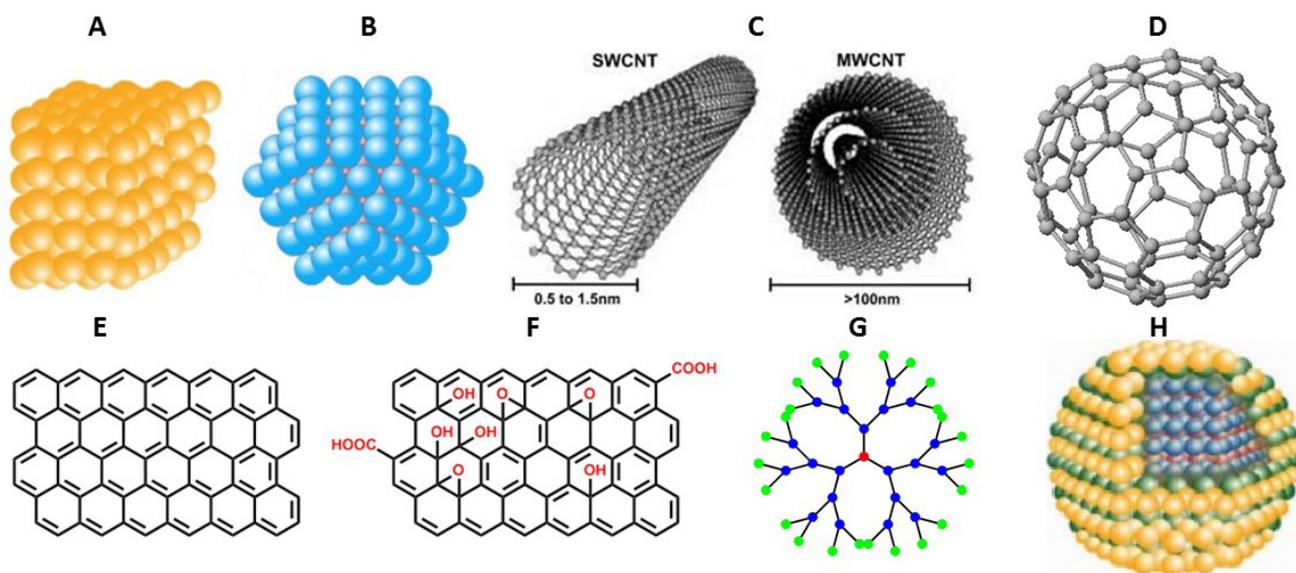
³ Department of Plant Pathology and Ecology, The Connecticut Agricultural Experiment Station, P.O. Box 1106, New Haven, CT 06504 USA. wade.elmer@ct.gov.

that used nanoparticles as delivery vehicles for transporting genetic cargo to plant organs and plant pathogens.

3 What are Nanoparticles?

At present, nanoparticles are defined as any material with a dimension of less 100 nm (SEKHON 2014). Natural nanoparticles also occur in nature as volcanic dust, oceanic salt sprays (KADAR et al. 2014; WAYCHUSNAS 2009). Natural nanoparticles are usually irregular in size and shape whereas engineered nanoparticles are more uniform and can have unique shapes, such as balls, nano sheets, nanorods, or as multi-walled tubes (carbon nanotubes), carbon dots, or bifurcating tree-like structures (dendrimers) (Figure 1).

Figure 1: Types of nanoparticles used in phytopathological research. (a,b) Metalloid, metallic oxide, or nonmetal nanoparticles. (c) Single- and multi-walled carbon nanotubes; (d) Fullerene; (e) Graphene nanoparticle sheet. (f) Graphene-oxidized nanoparticle. (g) Dendrimer. (h) Quantum carbon dots. Used with permission from Elmer and White (2018).



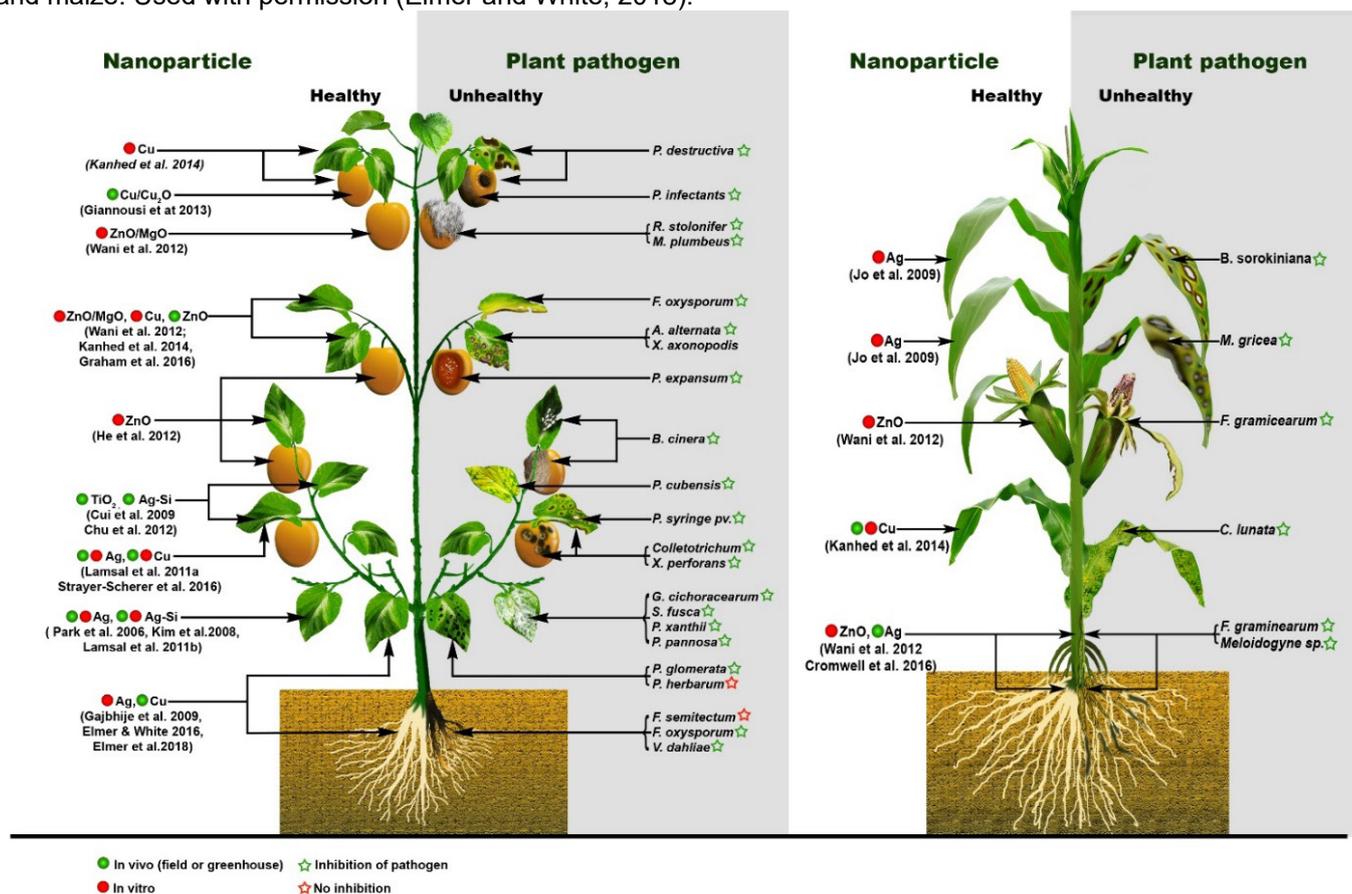
Their unique size, large surface area-to-volume ratio, and binding capacity, they can be reactive, bind, absorb, and carry compounds such as small-molecule drugs, DNA, RNA, proteins, and probes, with high efficiency (ALBANESE et al 2012; KHAN et al. 2015; NI et al. 2017). The manufacture of nanoparticles is accomplished through numerous methods and the reader is referred to excellent reviews (ASTRUC 2008; DREIZIN 2009). However, new processes and platforms are being developed so fast that any description is likely to be outdated soon. A considerable amount of literature has been devoted to the production of nanoparticles *in vivo* by plants and microorganisms. The biosynthetic methods are quite diverse, but briefly, organisms or their extracts are exposed to a metallic salt that biologically reduces the metal to a nanoscale size. The nanoparticles are then harvested, characterized, and available for use (MITTAL et al. 2013; IRAVANI 2011). This single-step “green synthesis” process is rapid, can

be conducted at ambient temperature and pressure, and is readily scalable. Several collages in Brazil have employed green synthesis.

4 Types of Nanoparticles Used in Plant Pathology

Most nanoparticle information relating to plant disease has involved the use of metalloid, metallic oxides, or nonmetals either as bactericide/fungicides or as nanofertilizers to affect disease resistance (Figure 2). Yet many other uses of NP have slowly begun to make inroad into plant disease management (Table 1). Silver was the first NP to be studied in plant disease control. Several early researchers explored the use of NP Ag in the suppression of powdery mildew (PARK, et al. 2006, LAMSAL et al. 2011 and KIM et al. 2008). Each discovered very good disease suppression. Lamsal et al. (2011) found that Ag NP suppression at 100 µg/mL afforded a level of control comparable to conventional fungicide treatment and reported that curative response was observed. Other studies have confirmed the efficacy of Ag NPs against fungal pathogens (AGUILAR-MÉNDEZ et al. 2011, GAJBHIYE et al. 2009, JO et al. 2009, JUNG et al. 2010, MALLAIAH et al. 2015, MISHRA et al. 2014, MOUSSA et al. 2013), bacteria (OCSOY et al. 2013), and nematodes (ABDELLATIF et al. 2016, ARDAKANI et al. 2013, CROMWELL et al. 2014, NASSAR et al. 2016). Other than direct antimicrobial action, it is not clear whether NP Ag also activates defense mechanisms, and additional research is clearly warranted. Another unanswered question in many of the studies was whether or not ionic Ag (salt) would have achieved the same level of disease suppression. Effort should be made in all future studies to compare NPs of Ag to ionic or larger bulk form equivalents so the “nano” effect can be evaluated. If potential threats of applying Ag in the environment can be adequately addressed and minimized, nanoparticles of Ag might serve as a strong candidate for disease management when other conventional strategies are ineffective.

Figure 2: Illustrative examples of nanoparticle studies with micronutrients and non-nutrients on diseases of citrus and maize. Used with permission (Elmer and White, 2018).



Although Cu has long history in plant disease management as a protectant fungicide, NP Cu was not examined until 2013 (GAJBHIYE et al. 2009) when foliar applications of NP CuO, Cu₂O, and Cu/Cu₂O composites were shown to be superior to conventional registered Cu fungicides to control late blight disease caused by *Phytophthora infestans*. New engineered composites of NP Cu have resulted in many new products that will be available in the future for Brazilian agriculture. Strayer-Scherer et al. (2018) showed that Cu NP composites possessing a core-shell Cu, multivalent Cu, and fixed quaternary ammonium copper were effective in the management of Cu-resistant strains of bacterial spot caused by the Cu-resistant *Xanthomonas perforans*. These composites released Cu²⁺ ions in quantities that effectively penetrated the membranes of *X. perforans*.

Enhancing the availability and function of NP Cu to affect plant nutrition and defense from disease was first explored by Elmer and colleagues (BORGATTA et al. 2018, ELMER et al. 2018, ELMER and WHITE 2016). NP Cu were used as a nanofertilizer to boost nutrition and disease resistance against chrysanthemum/*Fusarium* wilt (TRIPLETT et al. 2019), eggplant/*Verticillium* wilt (ELMER and WHITE 2016), soybeans/sudden death syndrome, tea/red root rot (PARK et al. 2016), tomato/*Fusarium* wilt, and watermelon/*Fusarium* wilt (ELMER et al. 2018). An analysis of gene expression (by RT-qPCR) in *Fusarium* infected watermelon revealed upregulation of polyphenol oxidase and pathogen-related genes in plants treated with NP CuO (ELMER et al. 2018). These findings suggest that NP CuO may serve as a hi-

ghly effective delivery agent for Cu that can subsequently enhance disease suppression. In fact, foliar application of NP CuO to eggplant has shown a 30% increase based on five-year field study (ELMER and WHITE 2016; Unpublished Wade Elmer). It was calculated that a single application of NP CuO that costs < \$20.00 per ha could generate up to \$6,300 more profit per ha (\$15,567 per acre) in New England.

In addition to the antibacterial activity of NP CuO towards many plant-pathogenic bacteria and fungi, NP Cu also activates disease defense via nutritional pathways. Copper is an essential plant micronutrient that plays a pivotal role in growth as well as defense against plant diseases as cofactor for important enzymes. One enzyme that may contributed to the disease suppression is polyphenol oxidase, a tetramer that contains four atoms of Cu per molecule and catalyzes the oxidation of *o*-diphenols to produce *o*-quinones (MAYER 2006), which in turn, forms antimicrobial root barriers. Transcriptomic analysis by RT-PCR of root tissues of watermelon and tomato have shown that treatment with NP Cu as (CuO or CuPO₄) was associated with significant uploading of polyphenol oxidase, as well as plant resistance protein (PR1A1) and a transcriptional regulator impacting several defensive pathways (PT15) (BORGATTA et al 2018; ELMER et al. 2016; MA et al. 2019). In tomato, the effect on the enzyme was observed within 7-d of the treatment and prior to any symptoms of disease. These reactions to infection are relative generic so they have the potential to protect against a wide array of pathogens. These findings suggest that NP CuO may serve as a highly effective delivery agent for Cu that can subsequently enhance disease suppression.

The antimicrobial activity of Zn NPs against bacteria (GRAHAM et al. 2016, INDHUMATHY and MALA 2013), and a range of fungal pathogens (HE et al. 2011, WANI and SHAH 2012), and viral infections (HAO et al. 2018) has been demonstrated by many laboratories. However, field experiments showing definitive disease reduction are quite limited. NP Zn has been used to suppress bacterial leaf spot on rose (PARET et al. 2013). *Cercospora* leaf blight of sugar beet (DERBALAH et al. 2013), and *Fusarium graminearum* on sorghum (DERBALAH et al. 2013). One Zn-based nanoparticle (Zinkicide™) is currently in the registration process for use in controlling citrus canker caused by *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. (GRAHAM et al. 2016, YOUNG et al. 2017). A commercial NP produce called Zinkicide™ has been effective in managing citrus scab (*Elsinoe fawcetti*) and melanose (*Diaporthe citri*) on grapefruit. In other study, the use of NP ZnO showed a significant ($p<0.05$) suppression of 73.5% of root rot severity associated with Sudden Death Syndrome (SDS) in soybean caused by *Fusarium virguliforme* when compared to the untreated control. Not only NP ZnO but also NP CuO showed a significantly ($p<0.05$) increased in the root weight by 46% and 29%. Therefore, application of NPs CuO and ZnO as foliar feed nanofertilizers show great promise in suppressing disease severity and increasing root weight of soybean by improving plant protection and nutrition (OLIVEIRA et al. 2019).

Many less studied NPs of metal oxides, metalloids, and nonmetals have also been examined for plant disease control. Reports of NPs of Al, Au, B, Ce, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, S, Si and Ti have found limited ability to suppress plant diseases (ADISA et al. 2018, ELMER et al. 2018, ELMER and WHITE 2016, GOGOI et al. 2013, RAO and PARIJA 2013, SHENASHEN et

al. 2017, WANI and SHAH 2012). Since many these reports arise from single studies, more data on their efficacy in other systems is needed, along with proper comparison to the salt and bulk equivalents. NP Si has received more attention in several systems given the known effect that Si has on plant health (DATNOFF et al. 2007). One unique feature of Si is that it is most effective when there is continuous supply, forcing grower to maintain constant availability of Si in the soil (DATNOFF et al. 2007). Single applications of NP Si would need to provide Si ions over a crucial period to maintain plant defense. Mesoporous NP Si may meet this criterion given the slow dissolution of Si from the product (BARIK et al. 2008, TORNEY et al. 2007, ZHANG et al. 2013).

The use of NP Al_2O_3 (SHENASHEN et al. 2017), MgO (IMADA et al. 2011, WANI and SHAH 2012), NP TiO_2 (DE FILPO et al. 2013, ELMER and WHITE 2016, OWOLADE et al. 2008, PARET et al. 2013), NP S, (GOGOI et al. 2013, RAO and PARIA 2013) and NP CeO_2 (ADISA et al. 2018) have all show efficacy in suppressing diseases in different systems. Most studies have been able to correlate NP amendment with direct alteration of the host defense mechanisms. Furthermore, when the bulk or salt form of these elements/molecules was compared to the nano form, the latter was consistently more effective in promoting health, often with significantly less of the active metal being applied.

Carbon nanomaterials are allotropic and thus allows for a wide array of morphologies and structures. In plant pathology, three types have demonstrated efficacy in plant disease suppression, but reports are limited. Studies exist with carbon nanotubes (single wall or multiwall), graphene oxides engineered in the oxidized and reduced forms, and fullerenes have affected plant health. Most studies were conducted *In vitro* but found that carbon nanotubes can inhibit many bacteria and fungal plant pathogens (LIU et al. 2009, HAO et al. 2017, WANG et al. 2014). The sharp nano-edges may directly damage cell walls of the pathogens (BERRY et al. 2014, CHEN et al. 2013, HAO et al. 2017, LIU et al. 2009, SAWANGPHRUK et al. 2012, WANG et al. 2014). The relative contribution of carbon nanomaterials in the field is currently unexplored, but given the relatively low cost of producing carbon nanomaterials, serious investigation should be targeted at these materials as management tools.

5 Summary

Nanotechnology will usher in multiple new products and methods for suppressing disease in the greenhouse and field. Thus far, nano-Ag, nano-Cu, nano-Zn, and nano-Si comprise most reports that pertain to disease suppression, but it is likely new products and composites will appear. Nanotechnology allows for drastic reductions in metals being applied when compared to the conventional metallic fungicides. One of the most striking discoveries made is that a single application to a young plant was associated with season long health benefits and yield increases. However, there are serious health concerns that need to be addressed. First hazards of applying nanomaterials and their fate in the environment and food chain must fully explored. It is wise to consider warnings that many nanomaterials can behave differently on various hosts which may

dictate that each crop/disease system needs separate evaluations (NAIR et al., 2010). In addition, the vast interactions with other stressors that will arise with weather extremes and other pests may compromise or even negate many benefits achieved with nanotechnology. Nevertheless, the green synthesis manufacture of NP could provide a sustainable new weapon for fighting disease in organic systems. Chemists will need to rise to the challenge in not only developing new nano-composites to deliver multiple nutrients and/or disease reducing agents, but to develop new formulation chemistries to overcome the hetero/homo-aggregation that tends to occur with NP over time which would reduce efficacy.

Literature Cited

- ABDELLATIF K. F.; ABDELFAHAT R. H.; EL-ANSARY M. S. M. Green nanoparticles engineering on root-knot nematode infecting eggplants and their effect on plant DNA modification. *Iran. J. Biotechnol.* 14:250–59, 2016.
- ADISA I.O.; PULLAGURALA V. L.; RAWAT S.; HERNANDEZ-VIEZCAS J. A.; DIMKPA C. O.; ELMER W. H.; WHITE J. C.; PERALTA-VIDEA J. R.; GARDEA-TORRESDEY J. L. Role of cerium compounds in *Fusarium* suppression and growth enhancement in tomato (*Solanum lycopersicum*) Royal Chemical Society, **Environmental Nano Sci.** 2018 (In press).
- AGUILAR-MÉNDEZ M. A.; MARTÍN-MARTÍNEZ E. S.; ORTEGA-ARROYO L.; COBIÁN-PORTILLO G.; SÁNCHEZ-ESPÍNDOLA E. Synthesis and characterization of silver nanoparticles: effect on phytopathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. *J. Nanopart Res.* 13:2525–32, 2011.
- ALBANESE A.; TANG P. S.; CHAN W. C. The effect of nanoparticle size, shape, and surface chemistry on biological systems. **Ann Rev. Biomed. Engin.** 14:1-16. 2012.
- ARDAKANI A. S. Toxicity of silver, titanium and silicon nanoparticles on the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, and growth parameters of tomato. *Nematology* 15(6):671–77, 2013.
- ASTRUC D. **Nanoparticles and catalysis.** John Wiley & Sons. New York, NY. (ed). 2008.
- BARIK T. K.; SAHU B.; SWAIN V. Nanosilica—from medicine to pest control. *Parasitol.* 103:253–58, 2008.
- BERRY T. D.; FILLEY T. R.; BLANCHETTE R. A. Oxidative enzymatic response of white-rot fungi to single-walled carbon nanotubes. *Environ. Pollut.* 193:197–204. DOI: 10.1016/j.envpol.2014.06.013, 2014.
- BORGATTA J.; MA C.; HUDSON-SMITH N.; ELMER W.; PÉREZ C. D. P.; DE LA TORRE-ROCHE R.; ZUVERZA-MENA N.; HAYNES C. L.; WHITE J. C.; HAMERS R. L. Copper nanomaterials suppress root fungal disease in watermelon (*Citrullus lanatus*): Role of particle morphology, composition, and dissolution behavior. **Sustainable Chemistry and Engineering** (Accepted with revisions) 2018.
- CHEN J.; WANG X.; HAN H. A new function of graphene oxide emerges: inactivating phytopathogenic bacterium, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *J. Nanopart.* 15(5):1658. Res. 2013.
- CROMWELL W. A.; YANG J.; STARR J. L.; JO Y. K. Nematicidal effects of silver nanoparticles on root-knot nematode in bermudagrass. *J. Nematol.* 46(3):261, 2014.
- DATNOFF L. E.; RODRIGUES F. A.; SEEBOLD K. W. Silicon and plant disease. See Ref. 25a, pp. 233–46, 2007.

- DE FILPO G.; PALERMO A. M.; RACHIELE F.; NICOLETTA F. P. Preventing fungal growth in wood by titanium dioxide nanoparticles. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 85:217–22, 2013.
- DERBALAH A. S.; EL-MOGHAZY S. M.; GODAH M. I. Alternative control methods of sugar-beet leaf spot disease caused by the fungus *Cercospora beticola* (Sacc). *Egypt. J. Biolog. Pest Control* 23(2):247, 2013.
- DREIZIN E. L. Metal-based reactive nanomaterials. *Prog. Energy Combustion Sci.* 35(2):141-167, 2009.
- ELMER W. H.; DE LA TORRE-ROCHE R.; PAGANO L.; MAJUMDAR S.; ZUVERZA-MENA N.; DIMPKA C.; GARDEA-TORRESDEY J.; WHITE J. Effect of metalloid and metallic oxide nanoparticles on Fusarium wilt of watermelon 2018, *Plant Dis.* DOI.org/10.1094/PDIS-11-17-1707-RE). 2018.
- ELMER W. H.; WHITE J. Nanoparticles of CuO improves growth of eggplant and tomato in disease infested soils. *Environ. Sci. Nano* 3:1072–79, 2016.
- GAJBHIYE M.; KESHARWANI J.; INGLE A.; GADE A.; RAI M. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their activity against pathogenic fungi in combination with fluconazole. *Nanomed. Nanotechnol. Bio. Med.* 5(4):382–86, 2009.
- GIANNOUSI K.; AVRAMIDIS I.; DENDRINOUSAMARA C. Synthesis, characterization and evaluation of copper based nanoparticles as agrochemicals against *Phytophthora infestans*. *RSC Adv.* 3(44):21743–52, 2013.
- GOGOI R.; SINGH PK.; KUMAR R.; NAIR K. K.; ALAM I.; SRIVASTAVA C.; YADAV S.; GOPAL M.; ROY S. C.; GOSWAMIET A. Suitability of nano-sulphur for biorational management of powdery mildew of okra (*Abelmoschus esculentus* Moench) caused by *Erysiphe cichoracearum*. *J. Plant Pathol. Microbiol.* 4(4):71–175, 2013.
- GRAHAM J. H.; JOHNSON E. G.; MYERS M. E.; YOUNG M.; RAJASEKARAN P.; DAS S.; SANTRA S. Potential of Nano-formulated zinc oxide for control of citrus canker on grapefruit trees. *Plant Dis.* 100(12):2442-7, 2016.
- HAO Y.; CAO X.; MA C.; ZHANG Z.; ZHAO N.; ALI A.; HOU T.; XIANG Z.; ZHUANG J.; WU S.; XING B. Potential applications and antifungal activities of engineered nanomaterials against gray mold disease agent *Botrytis cinerea* on rose petals. *Frontiers in Plant Science* 8:1332, 2017.
- HAO Y.; YUAN W.; MA C.; WHITE J.; ZHANG Z.; ADEEL M.; ZHOU T.; YUKUI R.; XING B. Engineered nanomaterials suppress Turnip mosaic virus infection in *Nicotiana benthamiana*. *Environ. Sci.: Nano* 10.1039/C8EN00014J, 2018.
- HE L.; LIU Y.; MUSTAPHA A.; LIN M. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiol. Res.* 166(3):207–15, 2011.
- IMADA K.; SAKAI S.; KAJIHARA H.; TANAKA S.; ITO S. Magnesium oxide nanoparticles induce systemic resistance in tomato against bacterial wilt disease. *Plant Pathol.* 65(4):551–60, 2016.
- INDHUMATHY M.; MALA R. Photocatalytic activity of zinc sulphate nano material on phytopathogens. *Int. J. Agric. Environ. Biotechnol.* 6(4S):737–43, 2013.
- IRAVANI S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10):2638-2650. 2011.
- JO Y. K.; KIM B. H.; JUNG G. Antifungal activity of silver ions and nanoparticles on phytopathogenic fungi. *Plant Dis.* 93(10):1037–43, 2009.

- JUNG J. H.; KIM S. W.; MIN J. S.; KIM Y. J.; LAMSAL K.; KIM K. S.; LEE Y. S. The effect of nano-silver liquid against the white rot of the green onion caused by *Sclerotium cepivorum*. *Mycobiology*. 38:39-45, 2010.
- KADAR E.; CUNLIFFE M.; FISHER A.; STOLPE B.; LEAD J.; SHI Z. Chemical interaction of atmospheric mineral dust-derived nanoparticles with natural seawater—EPS and sunlight-mediated changes. *Sci. Total Environ*. 468:265-271. 2014.
- KIM H. S.; KANG H. S.; CHU G. J.; BYUN H. S. Antifungal effectiveness of nanosilver colloid against rose powdery mildew in greenhouses. *Solid State Phenomena* 135:15-18. 2008.
- KIM S. W.; KIM K. S.; LAMSAL K.; KIM Y. J.; KIM S. B. An *in vitro* study of the antifungal effect of silver nanoparticles on oak wilt pathogen *Raffaelea* sp. *J Microbiol Biotechnol*, 19(8):760-764. 2009.
- LAMSAL K.; KIM S. W.; JUNG J. H.; KIM Y. S.; KIM K. S. Application of silver nanoparticles for the control of *Colletotrichum* species in vitro and pepper anthracnose disease in field. *Mycobiology*. 39(3):194-199. 2011.
- LAMSAL K.; KIM S. W.; JUNG J. H.; KIM Y. S.; KIM K. S.; LEE Y. S. Inhibition effects of silver nanoparticles against powdery mildews on cucumber and pumpkin. *Mycobiology*. 39:26-32, 2011.
- LIU S.; WEI L.; HAO L.; FANG N.; CHANG M. W.; XU R.; YANG Y.; CHEN Y. Sharper and faster “nano darts” kill more bacteria: a study of antibacterial activity of individually dispersed pristine single-walled carbon nanotube. *ACS nano*. 33:891-902, 2009.
- MALLAIAH B. Integrate approaches for the management of Crossandra (*Crossandra infundibuliformis* L. nees) wilt caused by *Fusarium incarnatum* (Desm.) Sacc. PhD Thesis, Tamil Nadu Agric. Univ., Madurai, India. 2015.
- MISHRA S.; SINGH B. R.; SINGH A.; KESWANI C.; NAQVI A. H.; SINGH H. B. Biofabricated silver nanoparticles act as a strong fungicide against *Bipolaris sorokiniana* causing spot blotch disease in wheat. *PLOS ONE*. 9:e97881, 2014.
- MITTAL A. K.; CHISTI Y.; BANERJEE U. C. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotech Adv*. 31(2):346-356. 2013.
- MOUSSA S. H.; TAYEL A. A.; ALSOHIM A. S.; ABDALLAH R. R.; Botryticidal activity of nano-sized silver-chitosan composite and its application for the control of gray mold in strawberry. *J. Food Sci*. 78(10):589–94, 2013.
- NAIR R.; VARGHESE S. H.; NAIR B. G.; MAEKAWA T.; YOSHIDA Y. Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Sci*. 179:154-163, 2010.
- NASSAR A. M. Effectiveness of silver nano-particles of extracts of *Urtica urens* (Urticaceae) against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Asian J. Nematol*. 5:14–19, 2016.
- NI D.; BU W.; EHLERDING E. B.; CAI W.; SHI J. Engineering of inorganic nanoparticles as magnetic resonance imaging contrast agents. *Chem. Soc. Rev*. 46:7438-7468. 2017.
- OCSOY I.; PARET M. L.; OCSOY M. A.; KUNWAR S.; CHEN T.; YOU M.; TAN W. Nanotechnology in plant disease management: DNA-directed silver nanoparticles on graphene oxide as an antibacterial against *Xanthomonas perforans*. *Acs Nano*. 7(10):8972-80, 2013.
- OLIVEIRA J. M.; POZZA E. A.; ELMER W. The use of copper, sulfur and zinc nanoparticles for the management of Sudden Death Syndrome disease in soybeans. In: 51º Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Recife-PE. *Anais do IX Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2019*. P.272, 2019.

OWOLADE O. F.; OGUNLETI D. O.; ADENEKAN M. O. Titanium dioxide affects disease development and yield of edible cowpea. *EJEAF Chem.* 7(50):2942–47, 2008.

PARET M. L.; PALMATEER A. J.; KNOX G. W. Evaluation of a light-activated nanoparticle formulation of titanium dioxide with zinc for management of bacterial leaf spot on rosa 'Noare'. *HortScience.* 48(2):189–92, 2013.

PARET M. L.; VALLAD E. G.; AVERETT R. D.; JONES B. J.; OLSON M. S. Photocatalysis: effect of light-activated nanoscale formulations of TiO₂ on *Xanthomonas perforans*, and control of bacterial spot of tomato. *Phytopathology.* 103:228–36, 2013.

PARK H-J.; KIM S. H.; KIM H. J.; CHOI S-H. A new composition of nanosized silica-silver for control of various plant diseases. *Plant Pathol. J.* 22:295-302. 2006.

RAO K. J.; PARIA S. Use of sulfur nanoparticles as a green pesticide on *Fusarium solani* and *Venturia inaequalis* phytopathogens. *RSC Adv.* 3(26):10471–78, 2013.

SAWANGPHRUK M.; SRIMUK P.; CHIOCHAN P.; SANGSRI T.; SIWAYAPRAHM P. Synthesis and antifungal activity of reduced graphene oxide nanosheets. *Carbon.* 50(14):5156–61, 2012.

SEKHON B. S. Nanotechnology in agri-food production: an overview *Nanotechnol. Sci. Appl.* 7:31-53. doi:10.2147/NSA.S39406. 2014.

SHENASHEN M.; DERBALAH A.; HAMZA A.; MOHAMED A.; EL SAFTY S. Antifungal activity of fabricated mesoporous alumina nanoparticles against root rot disease of tomato caused by *Fusarium oxysporum*. *Pest management science.* 73(6):1121-6, 2017.

STRAYER-SCHERER A.; LIAO Y. Y.; YOUNG M.; RITCHIE L.; VALLAD G. E.; SANTRA S.; FREEMAN J. H.; CLARK D.; JONES J. B.; PARET M. L. Advanced copper composites against copper-tolerant *Xanthomonas perforans* and tomato bacterial spot. *Phytopathology.* 108:196–205, 2018.

TORNEY F.; TREWYN B. G.; LIN V. S. Y.; WANG K. Mesoporous silica nanoparticles deliver DNA and chemicals into plants. *Nat. Nanotechnol.,* 2(5):295–300, 2007.

TRIPLETT L. R.; SILADY R.; ROBERTS E.; THIEL P.; ELMER W. Evaluation of a single seedling treatment with nanoscale nutrients to control *Fusarium* wilt symptoms of chrysanthemum. *Phytopathology* (Abstr. In press) 2019.

WANG X.; LIU X.; CHEN J.; HAN H.; YUAN Z. Evaluation and mechanism of antifungal effects of carbon nanomaterials in controlling plant fungal pathogen. *Carbon.* 68:798–806, 2014.

WANI A. H.; SHAH M. A. A unique and profound effect of MgO and ZnO nanoparticles on some plant pathogenic fungi. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2(3):40–44, 2012.

WAYCHUNAS G. A. Natural nanoparticle structure, properties and reactivity from X-ray studies. *Powder Diffraction.* 24(2):89-93, 2009.

YOUNG M.; OZCAN A.; MYERS M. E.; JOHNSON E. G.; GRAHAM J. H.; SANTRA S. Multimodal generally recognized as safe ZnO/nanocopper composite: a novel antimicrobial material for the management of citrus phytopathogens. *J. Agr. Food Chem.* DOI: 10.1021/acs.jafc.7b02526 In press. 2017.

ZHANG Z.; BALOGH D.; WANG F.; WILLNER I. Smart mesoporous SiO₂ nanoparticles for the DNAzyme-induced multiplexed release of substrates. *J. Am. Chem. Soc.* 135(5):1934–40, 2013.

Anexo

Table 1: Types of nanoparticles, definitions, and potential uses for Phytopathology. Used with permission (Elmer and White 2018).

Type	Definition	Potential use in Plant disease management
Metalloids, metallic oxides non-metals and their composites	Engineered metals at a nano-scale in cubes, spheres, bars, and sheets	Bactericides/Fungicides Nano-fertilizers Delivery vehicle for antimicrobials and genetic material
Carbon Nanomaterials	Allotropes of carbon designed at the nanoscale	
Single or double wall nanotubes		Antimicrobial agents Delivery vehicle for antimicrobials and genetic material
Fullerenes (Buckyballs)	A 60 C arrangement of carbon atoms in specific soccer-ball arrangement	Antimicrobial agents Delivery vehicle for and genetic material.
Graphene oxide sheet (reduce or oxide forms)	Graphene oxide sheet rolled into single multiple walled tubes	Antimicrobials agents Delivery vehicle for antimicrobials and genetic material
Liposomes	A Lipid enclosing a water core	Delivery vehicle for genetic or antimicrobial products
Dendrimers	Nano material having a treelike appendages that radiate from a central core	Delivery vehicle for genetic or antimicrobial products
Nanobiosensor	A nanoparticle that combines a biological component for detection	Diagnostics, research tool
Nanoshell	Nanoparticles composed of a gold shell surrounding a semiconductor	Diagnostics, research tool
Quantum dots	Quantum dots are inorganic fluorescent, crystalline semiconductor nanoparticles used in biosensor	Diagnostics, research tool

CAPÍTULO 5 - NUTRIÇÃO MINERAL NO MANEJO DA FERRUGEM E DA CERCOSPORIOSE DO CAFEIRO

Helon dos Santos Neto¹

Edson Ampélio Pozza²

1 Introdução

O Brasil é o maior exportador e produtor de café do mundo. Dessa forma, a cafeicultura assume destaque entre as principais atividades agrícolas do País. Além de gerar divisas, a cadeia produtiva de café é responsável por gerar milhões de empregos, proporcionando renda, tributos e assim acesso à saúde e à educação para os trabalhadores e suas famílias (MAPA 2017).

Para ser competitiva, a cafeicultura brasileira tem se expandido para novas áreas, de um país de dimensões continentais, com diferentes tipos de solos, na sua maioria pobre em nutrientes, com Ph ácido e alumínio em sua constituição e ainda enfrentado os efeitos das mudanças climáticas. Esse cenário somente pode ser vencido com o emprego da tecnologia e a dedicação exaustiva de produtores e técnicos. Tudo isso, aliado a crescente demanda do mercado mundial por cafés produzidos de forma mais sustentável, fazem do manejo de doenças um desafio constante no campo, principalmente quando se trata da ferrugem alaranjada ou da cercosporiose.

A ferrugem e a cercosporiose são as principais doenças do cafeeiro no Brasil, e embora o controle químico dessas doenças apresente excelentes resultados e sejam utilizados por produtores, eles oneram os custos de produção e vão contra a demanda mundial por cafés ambientalmente sustentáveis. Deste modo, devem ser consideradas medidas capazes de mitigar a utilização de defensivos, mas sem esquecer da sustentabilidade financeira, social e cultural da cadeia produtiva do café.

Entre as alternativas disponíveis, citam-se a utilização de cultivares resistentes, o controle biológico, os indutores de resistência e a manutenção da fertilidade do solo e da nutrição mineral do cafeeiro, sempre em equilíbrio, para manter as barreiras de resistência da planta sempre constituídas, entre outras. Diante do fato de grande parte do parque cafeeiro no Brasil ser formada por cultivares suscetíveis as principais doenças, a nutrição mineral aliada a ferramentas como a geoestatística tornam-se importante alternativa de manejo, pois possibilitam aumentar com eficiência a tolerância do cafeeiro às epidemias de ferrugem e da cercosporiose, reduzindo a utilização de agroquímicos.

Assim, nesse capítulo será abordada a utilização da nutrição mineral aliada a geoestatística como estratégia de controle da ferrugem e da cercosporiose no cafeeiro.

1 Pós-Doutorando do Programa de Pós-Graduação, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 37200-000, Lavras MG. helonsantosneto@gmail.com.

2 Professor, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras MG. edsonpozza@gmail.com.

2 Ferrugem do Cafeeiro

A ferrugem tem como agente etiológico o fungo *Hemileia vastatrix* Berkeley et Broome, e é a doença mais importante da cafeicultura brasileira. Está amplamente distribuída em todas as regiões produtoras do país e causa grandes prejuízos. Para infectar a planta, o fungo necessita de água livre, temperatura na faixa de 21 a 23°C e ausência de luz direta para a germinação dos uredospóros e penetração do tubo germinativo através dos estômatos da folha.

A ferrugem forma manchas de cor amarelo alaranjadas sobre as quais formam-se massas pulverulentas de uredosporos na face inferior das folhas. As folhas lesionadas caem e debilitam a planta, comprometendo a safra seguinte, acentuando o ciclo bienal de produção da cultura. A doença pode assim, reduzir a produção em até 50% (POZZA et al. 2010).

A epidemia da doença, com taxa exponencial, começa geralmente com as chuvas entre outubro e janeiro, dependendo do ano e do cenário de mudanças climáticas, tem o pico de incidência, ou melhor, de visualização dos sinais ou esporulação, em folhas entre maio e junho, podendo ser deslocado para os meses de julho, agosto e setembro dependendo das condições climáticas.

Como alternativas de controle, os produtores de café dispõem de cultivares resistentes. Entretanto, como a maior parte do parque cafeeiro brasileiro é composta por cultivares suscetíveis, o controle químico da ferrugem é o mais utilizado, sendo os cúpricos, as estrobilurinas e os triazóis os grupos químicos mais utilizados. Uma característica importante desse patógeno é a alta variabilidade genética, a qual aumenta a probabilidade da quebra da resistência dos cultivares ou da resistência aos fungicidas ou simplesmente da sucessão de raças ou de populações dentro delas.

3 Cercosporiose do Cafeeiro

A cercosporiose, também conhecida com mancha-de-olho-pardo, olho-de-pomba e olho-pardo, é causada por *Cercospora coffeicola* Berkeley et Cooke e tem causado grandes prejuízos nos últimos anos. A doença tem ganhado importância devido à expansão da cafeicultura para o cerrado, onde os solos são mais arenosos e ocorrem maiores problemas de fertilidade e também de nutrição. Além da nutrição deficiente (MARSCHNER, 1995; POZZA; POZZA 2012), a doença é favorecida por temperaturas entre 10°C e 25°C, elevada umidade relativa e insolação (POZZA et al. 2010).

A cercosporiose ocorre tanto em viveiros quanto no campo, causando desfolha e perda de qualidade nos frutos (LIMA et al. 2012). Os sintomas característicos em folhas são manchas castanho-claras a castanho-escuras, com o centro branco-acinzentado, sendo geralmente envolvidas por um halo amarelo. Também podem ser observadas manchas escuras sem halo amarelado, nesse caso a doença é denominada de cercospora negra.

Em frutos, lesões longitudinais escuras e deprimidas é o sintoma característico, quando ocorre em frutos verdes causa a maturação precoce da casca em torno da mancha. As lesões

em frutos estão aderidas ao grão, dificultando o seu desprendimento durante o beneficiamento. Desse modo, a maturação precoce juntamente com a dificuldade de beneficiamento e a queda prematura dos frutos atacados compromete significativamente a qualidade da produção.

O manejo da cercosporiose deve ser realizado no viveiro e no campo, por meio do uso de fungicidas e do controle da fertilidade do solo e da nutrição da planta. No campo, os programas de fungicidas empregados para controlar a ferrugem também promovem o manejo da cercosporiose. Entretanto, lavouras com elevadas cargas de frutos e situadas em regiões favoráveis à doença, podem necessitar de aplicações de fungicidas além dos já aplicados para a ferrugem, além do manejo da fertilidade do solo.

4 Nutrição Mineral no Manejo da Ferrugem e da Cercosporiose

A nutrição do hospedeiro, aliada ao suprimento de água é o componente primário no controle de doenças de plantas, sendo considerada a base da resistência horizontal, pois, os genes associados a barreiras de resistência física ou química dependem da presença dos nutrientes em equilíbrio para se expressarem, é claro, além da disponibilidade de água (POZZA; POZZA 2012).

Os nutrientes estão diretamente envolvidos, em praticamente, todos os mecanismos de defesa das plantas (HUBER, 2005). Além da interferência nas estruturas anatômicas, tais como a espessura de células epidérmicas e da cutícula, silificação, suberização e lignificação das paredes celulares, a nutrição pode afetar propriedades bioquímicas como produção de compostos fenólicos, ácidos orgânicos, fitoalexinas, entre outros (MARSCHNER, 1995). Assim o equilíbrio entre os nutrientes, no solo e na planta, se faz necessário.

Desse modo, tanto o excesso quanto a escassez de nutrientes podem favorecer as doenças, tornando as plantas predispostas à infecção e colonização dos fitopatógenos. Segundo Huber (1980), o nível de K em plantas depende da disponibilidade de Ca. O Ca altera a proporção de Ca:K e interage com outros elementos. A função do K na organização celular e na permeabilidade é complementada por meio de grandes reservas de Ca no tecido maduro da planta.

O K desempenha diversas funções nas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013), atua como ativador enzimático e participa de processos como abertura e fechamento de estômatos, fotossíntese, transporte de carboidratos e respiração (MARSCHNER, 2012; SHIMAZAKI). Além dessas funções, o K também aumenta a resistência de plantas a patógenos, elevando a disponibilidade de proteínas e aminoácidos, entre elas, as envolvidas em constituir barreiras de resistência. Além disso, aumenta os teores de fitoalexinas e fenóis ao redor dos locais de infecção, de forma a reduzir a colonização dos patógenos (HUBER; ARNY, 1985). Indiretamente, o K reforça a parede celular e a formação de material inter e intracelular, dificultando a penetração e promovendo a cicatrização de ferimentos (LI et al. 2010).

De acordo com Rahman e Punja 2007, o principal papel do cálcio consiste no fortalecimento da parede celular, conferindo a ela maior resistência à penetração e colonização de patógenos. Seus íons são utilizados na síntese de novas paredes celulares, em particular a lamela

média. Ele é necessário para o funcionamento normal das membranas vegetais e tem papel de mensageiro secundário, em várias respostas das plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013). Segundo Marschner (2012), a concentração de Ca nos tecidos das plantas afeta a incidência de doenças, por meio de três mecanismos: desempenha papel chave no reconhecimento de patógenos invasores na membrana plasmática, atuando como mensageiro secundário (YANG; SHAH; KLESSIG, 1997), mantém a estabilidade de biomembranas, evitando o efluxo de compostos de baixo peso molecular do citoplasma para o apoplasto (MARSCHNER, 2012) e fortalece a parede celular, dificultando a infecção de patógenos (BATEMAN; LUMSDEN, 1965). Seu deslocamento e o do K, quando da colonização e expressão de sintomas estão envolvidos na resposta de defesa do cafeeiro aos patógenos (BELAN et al. 2014)

A utilização apenas de K ou a combinação dele com outros nutrientes, pode alterar a intensidade de doenças associadas a diversos patógenos. Em cafeeiro, Garcia Junior et al. (2003) avaliaram o efeito de diferentes doses de potássio e de cálcio na incidência e na severidade da cercosporiose em mudas de café cultivadas em solução nutritiva. Esses autores verificaram redução linear da incidência da doença com o aumento das doses de cálcio até a dose máxima de cálcio fornecida. Em relação a K, a menor incidência foi obtida com a dose 4 mmol/L, comprovando a competição entre esses nutrientes (MARSCHNER, 1995).

O uso de N em doses excessivas resulta na produção de tecidos jovens e suculentos, além de prolongar o estágio vegetativo e/ou retardar a maturidade da planta. Logo, doses excessivas criam condições favoráveis a infecção de patógenos. Entretanto, a cercosporiose, tem a intensidade reduzida em função do aumento da nutrição nitrogenada (POZZA et al. 2001).

O fósforo (P) está entre os macronutrientes mais importantes. Esse nutriente desempenha várias funções nas plantas e faz parte da molécula de energia adenosina trifosfato (ATP) (TAIZ; ZIEGER, 2013). Pode também desempenhar um papel importante na fotossíntese, respiração, metabolismo do açúcar, divisão celular, crescimento celular e transferência de informação genética (LEHNINGER, 2014). Além disso, quando o P não é fornecido em quantidade suficiente às plantas, os sistemas radiculares não crescem, principalmente raízes secundárias, reduzindo a capacidade da planta de absorver água e nutrientes. Assim, P é um fator limitante para o crescimento e desenvolvimento, desde a muda até a fase de produção dos cafeeiros no campo (GUIMARÃES, 1999).

Em relação ao Mg, existem poucos relatos de efeitos diretos da sua deficiência ou excesso sobre doenças de plantas comparando a outros nutrientes, como, por exemplo, o K e o Ca. Segundo Huber e Jones, 2013, tal fato se deve ao amplo espectro de participação do Mg em funções fisiológicas, quando a planta está envolvida em atividades de defesa, virulência ou patogênese, sua atuação não é facilmente caracterizada, ou seja, os benefícios gerais do Mg para atividades normais da planta encobrem efeitos do Mg na resistência a doenças embora seja um importante nutriente para a resistência das plantas. De acordo com Huber e Jones, 2013, o manejo da nutrição considerando o Mg para o controle de doenças, em equilíbrio com outros nutrientes minerais, é uma ferramenta subutilizada para o controle de doenças.

Segundo Santos et al. (2008), altas incidências de doenças devido a má nutrição podem ser observadas durante a estação de frutificação, quando as plantas de café estão propensas a desequilíbrios nutricionais causados pelo dreno dos nutrientes das folhas para o enchimento de grãos, o que torna as plantas mais suscetíveis.

Embora existam vários trabalhos sobre a relação entre nutrição vegetal e intensidade da doença em ambientes controlados, existem poucos estudos no campo, considerando a variabilidade espaço-temporal das variáveis. Assim, com o advento da utilização da agricultura de precisão, a geoestatística pode ser ferramenta para correlacionar espacialmente no campo, as doenças e os fatores do ambiente, por exemplo, a fertilidade do solo e a nutrição mineral das plantas.

5 Geoestatística

A geoestatística surgiu na África do Sul quando Krige (1951), ao trabalhar com dados referentes à concentração de ouro, não conseguia encontrar sentido nas variâncias calculadas, se não levasse em conta também a distância entre as amostras (VIEIRA, 2000). Logo depois, Matheron (1963), baseado nessa teoria, desenvolveu a Teoria das Variáveis Regionalizadas. Ela foi definida como uma função espacial numérica. Variando de um local para outro, com uma continuidade aparente e cuja variação não pode ser representada por uma simples função matemática, sendo essa continuidade estimada por um semivariograma (MELLO, 2004).

Com o suporte dos dados amostrados da variável regionalizada e das propriedades estruturais do semivariograma obtido, havendo dependência espacial entre as amostras pode-se utilizar a Krigagem. O objetivo é estimar dados em pontos não amostrados a partir de pontos amostrados, considerando a estrutura de dependência espacial do fenômeno (MELLO, 2004). Esse método de interpolação usa a dependência espacial entre amostras vizinhas, expressa no semivariograma, para estimar valores em qualquer posição dentro do campo, sem tendência e com variância mínima (BURGESS; WEBSTER, 1980). Permitindo visualizar o comportamento da variável na região, por meio de um mapa de isolinhas ou de superfície.

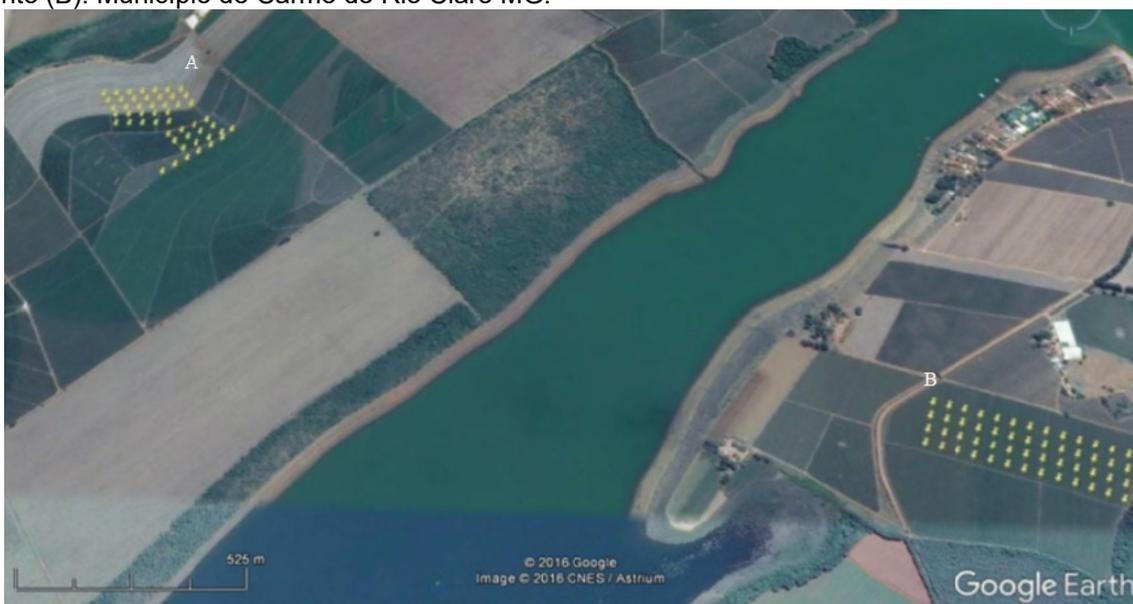
De acordo com Alves et al. 2012, a geoestatística tem sido a solução de apoio a análise e monitoramento de componentes de sistemas ambientais e agrícolas, a fim de se caracterizar causas e efeitos de variações do ambiente, do hospedeiro, do patógeno e do manejo, assim como o resultado dessa interação, a doença. De maneira a obter resultados capazes de apoiar a decisão no controle de pragas e doenças.

5.1 A Geoestatística no Estudo da Interação Espaço-Temporal da Ferrugem e da Cercosporiose com a Nutrição Mineral do Cafeeiro

Silva et al. 2019, estudaram a distribuição espacial da ferrugem do cafeeiro em duas lavouras. Uma com sistema de irrigação por gotejamento e outra por pivô central (Figura 1). Esses autores, ao longo de 3 anos, por meio de mapas de krigagem, observaram a distribuição espaço-temporal da doença nessas áreas (Figura 2 A e B). Para o sistema de irrigação por gotejamento,

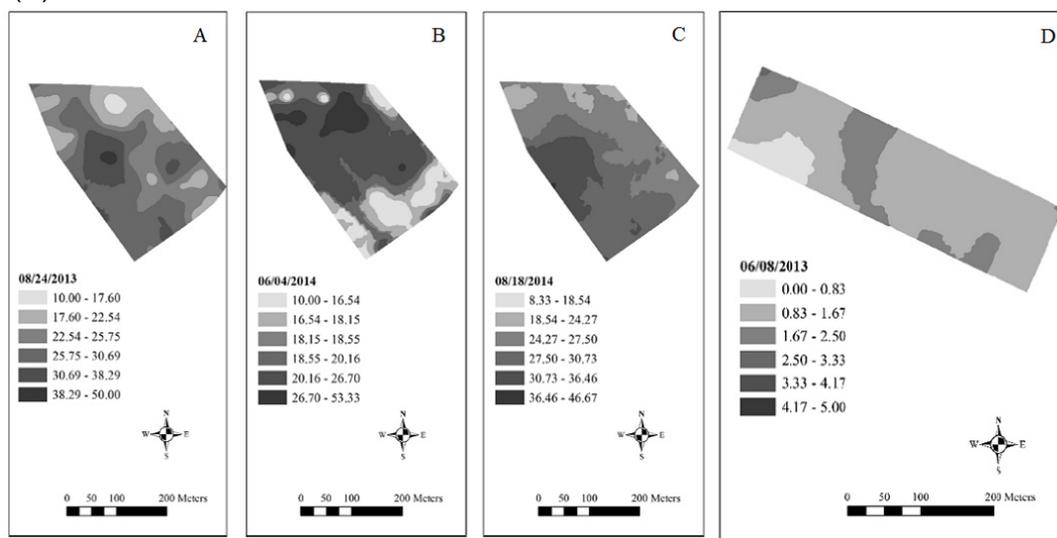
observaram a maior incidência de doença na parte superior da área, coincidindo com área de menor teor foliar de K e maior teor foliar de Ca (Figura 2 D e 3 C e D), coincidindo com as maiores produtividades. No pivô central, os autores observaram em 2013, menor intensidade da doença na parte superior da área (Figura 2 A), onde os teores foliares de P e K estavam próximos do limite crítico (Figura 3 F e G). Para 2014, a intensidade da doença foi menor nas regiões da direita e inferior, com teor de K dentro do limite de 19 a 26 g.Kg⁻¹ (MARTINEZ et al. 2003). Ou seja, nas áreas com menores intensidades de doença coincidiram com regiões com teores foliares de N, P e K em equilíbrio e dentro do limite ideal para os nutrientes (Figura 3 E, F e G).

Figura 1: Áreas experimentais, e pontos amostrais, área com irrigação por pivô central (A), área com irrigação por gotejamento (B). Município de Carmo do Rio Claro MG.



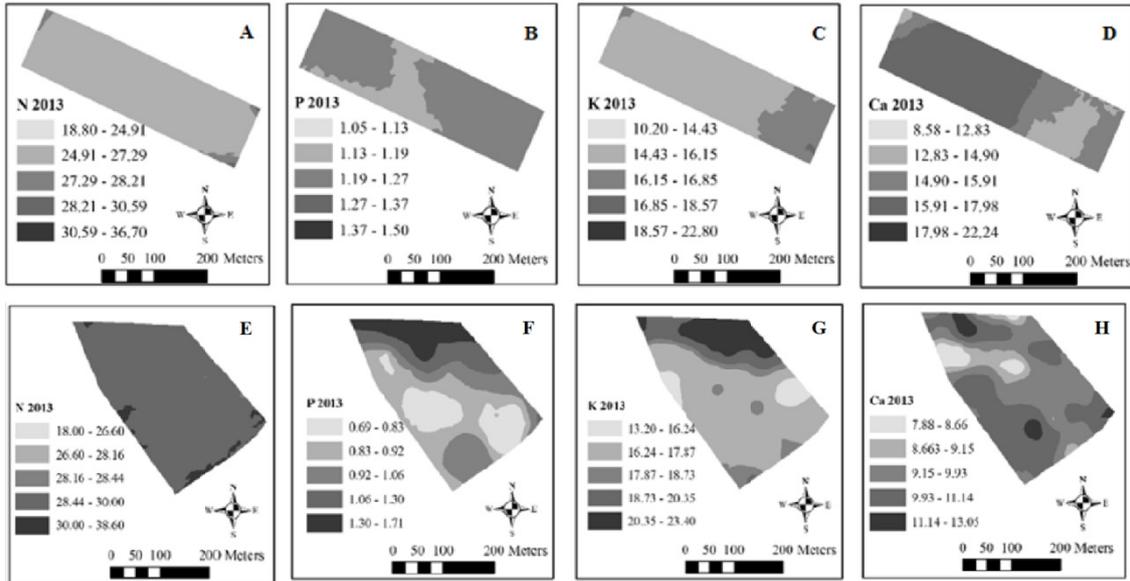
Fonte: Adaptado de Silva et al. 2018.

Figura 2: Mapa de krigagem para incidência de ferrugem na área com irrigação por pivô central (A, B e C) e por gotejamento (D).



Fonte: Adaptado de Silva et al. 2019.

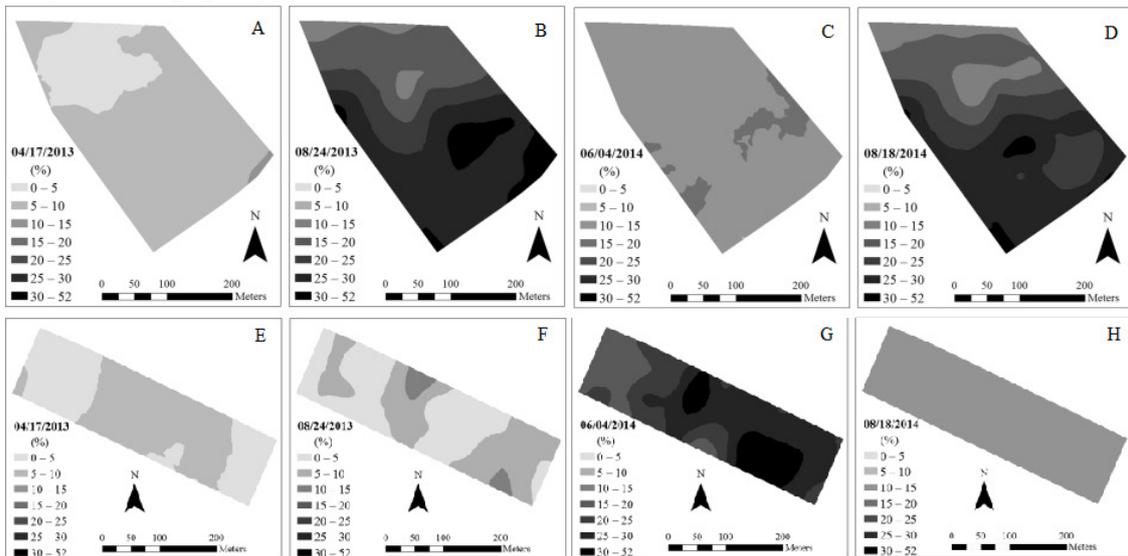
Figura 3: Mapa de Krigagem para os teores foliares de nutrientes na área com irrigação por gotejamento (A, B, C e D) e por pivô central (E, F, G e H).



Fonte: Adaptado de Silva et al. 2019

Silva et al. 2018, estudaram a distribuição espacial da cercosporiose e sua relação com nutrientes (Figuras 4 A, B, C, D, E, F, G e H), os estudos foram realizados nas mesmas áreas e períodos estudados por Silva et al. 2019 (Figuras 1 A e B). Pode ser observada na parte norte da área irrigada por pivô central no ano de 2013, a relação da região com maiores teores foliares de P e K, porém dentro da nutrição equilibrada, com a região de menor incidência de doença (Figuras 4 B, 4 C e 3 F e G).

Figura 4: Mapas de Krigagem para incidência de cercosporiose no cafeeiro.



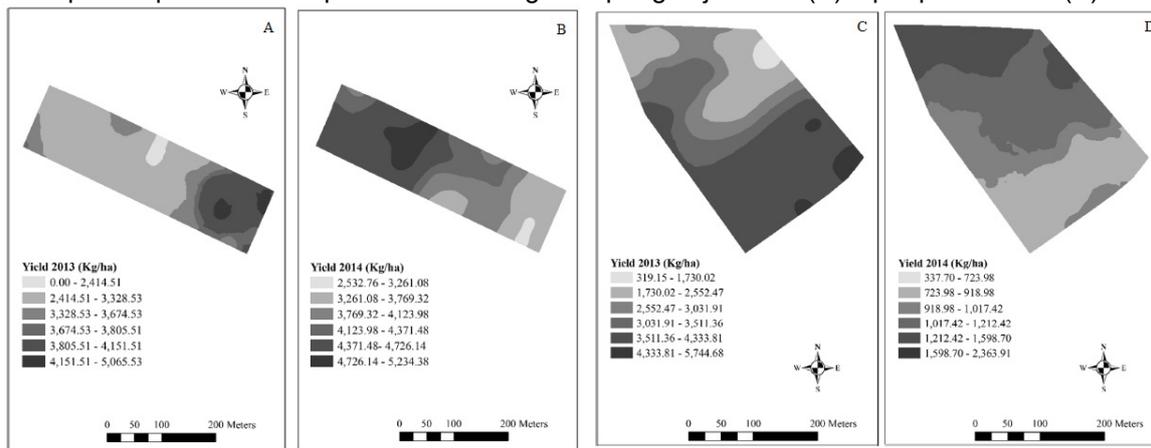
Fonte: Adaptado de Silva et al. 2018.

Para a ferrugem, as regiões de maiores incidências de doença foram aquelas com maiores produtividades, as quais alternaram de uma safra para a outra devido à bialidade do cafeeiro (Figura 4 A, B, C e D). Alguns autores afirmam existir relação direta entre a incidência da doença e a carga pendente da cultura, a qual promove desequilíbrio e/ou estresse nas plantas,

comprometendo as barreiras de resistência físicas e químicas e tornando-as mais suscetíveis a *H. vastatrix* (Moraes 1983; Carvalho et al.: Pozza et al. 2010).

Nesse caso, o sistema de irrigação também deve ser considerado no manejo da ferrugem, pois, de acordo com os resultados, houve diferença nos níveis de doença para os diferentes sistemas de irrigação. Foram observadas maiores incidências de ferrugem na área irrigada por pivô central (Figura 2 A) em comparação ao gotejamento (Figura 2 B)(Silva et al. 2019). Além disso, os nutrientes estavam distribuídos de forma mais homogênea no sistema de gotejamento (Figuras 3 A, B, C e D), provavelmente devido a adubação ter sido realizada via fertirrigação.

Figura 5: Mapas de produtividade para as áreas irrigadas por gotejamento (A) e por pivô central (B).



Fonte: Adaptado de Silva et al. 2019

Tabela 1: Parâmetros e coeficientes dos semivariogramas.

Área	Variável	Modelo	Ao	Co	Co+C	Co/Co+C
Pivô	Ferrugem 08/24/13	Exponencial	120	23.3	62.4	0.4
Pivô	Ferrugem 06/04/14	Exponencial	54.5	0	73.4	0
Pivô	Ferrugem 8/18/14	Exponencial	99.5	62.4	21.6	1
Gotej.	Ferrugem 06/08/13	Exponencial	108.8	1.3	0.7	1
Pivô	Cercosporiose 04/17/13	Exponencial	391.18	9.11	9.68	0.94
Pivô	Cercosporiose 24/08/13	Exponencial	391.18	26.51	81.24	0.33
Pivô	Cercosporiose 06/04/14	Exponencial	60.12	21.2	0.47	1
Pivô	Cercosporiose 08/18/14	Exponencial	391.18	18.77	72.86	0.26
Gotej.	Cercosporiose 04/17/13	Exponencial	270.88	5.7	3.63	1
Gotej.	Cercosporiose 24/08/13	Exponencial	135.09	0.12	14.2	0.01
Gotej.	Cercosporiose06/04/14	Exponencial	146	40.26	50.75	0.79
Gotej.	Cercosporiose08/18/14	Exponencial	438.43	11.4	0	1
Pivô	N 2013	Exponencial	374.6	6.6	0	1
Pivô	N 2014	Exponencial	391.2	2.2	0.3	1
Pivô	P 2013	Exponencial	391.2	0	0.1	0
Pivô	P 2014	Exponencial	188.3	0	0	0
Pivô	K 2013	Exponencial	284.5	0.3	6.7	0
Pivô	K 2014	Exponencial	391.2	1.1	1.1	1
Pivô	Ca 2013	Exponencial	107.4	0	1.8	0
Pivô	Ca 2014	Exponencial	391.2	2.8	0.8	1
Gotej.	N 2013	Exponencial	457.8	4	5.1	0.8
Gotej.	N 2014	Exponencial	438.4	5	0	1
Gotej.	P 2013	Exponencial	457.8	0.01	0	1
Gotej.	P 2014	Exponencial	457.8	0.01	0	0.5
Gotej.	K 2013	Exponencial	350.3	5.2	1.2	1
Gotej.	K 2014	Exponencial	351	1.4	2.9	5
Gotej.	Ca 2013	Exponencial	457.8	7.4	3.4	1
Gotej.	Ca 2014	Exponencial	457.8	4.5	2.9	1
Gotej.	Produtividade 2013	Exponencial	160.8	736.88	537.2	1
Gotej.	Produtividade 2014	Exponencial	457.8	119.67	420.7	0.3
Pivô	Produtividade 2013	Exponencial	391.2	323.27	1469.7	0.2
Pivô	Produtividade 2014	Exponencial	391.2	87.85	98.94	0.9

*Ao = Alcance, Co = Efeito pepita, C+Co = Patamar e Co/Co+C = Dependência espacial.
 Fonte: Adaptado de Silva et al. 2018 e Silva et al. 2019.

6 Considerações Finais

Nesse capítulo foram destacados os macronutrientes relacionados à calagem e a adubação de NPK (Ca, Mg, N, P e K). A calagem e a adubação de forma adequada e equilibrada são extremamente importantes para reduzir a incidência da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro e assim aumentar o intervalo entre pulverizações, retardar o início da primeira aplicação de fungicidas e ainda reduzir seu número. Nesse contexto, a geoestatística é uma ferramenta importante. Por meio da construção de mapas de krigagem e de semivariogramas, são obtidas informações sobre a distribuição de doenças e sua relação com nutrientes, permitindo assim,

utilizar sistemas de fertilização em taxa variada, pulverização de fungicidas de forma localizada e melhor planejamento das atividades de manejo. Desse modo, com o auxílio das ferramentas e dos equipamentos da agricultura de precisão, o potencial da nutrição mineral no controle de doenças do cafeeiro pode ser mais explorado para mitigar a utilização de agroquímicos e assim, possibilitar a maior sustentabilidade ambiental, financeira, social e cultural da cafeicultura.

Referências

- Alves, M. C. ; Pozza, E. A. ; SILVA, F. M. ; Oliveira, M. S. ; Carvalho, L. G. ; Alves, L. S. Geostatística na proteção de plantas: Geoinformação do pesquisador ao produtor. In: Machado, A.K.F.M.; Ogoshi, C.; Perina, F.J.; Silva, G.M.; Neto, H.S.; Costa, L.S.A.S.; Alencar, N.E.; Martins, S.J. Terra, W.C.; Zancan, W.L.A. (Org.). **Avanços na otimização do uso de defensivos agrícolas no manejo fitossanitário**. 1ed. Suprema gráfica e editora: São Carlos, 2012.p. 283-302.
- BATEMAN, D. F. ; VAN ET TEN, H. D. ; ENGLISH, P. D. ; NEVINS, D. J.; and ALBERSHEIM, P. 1969. Susceptibility to enzymatic degradation of cell walls from bean plants resistant and susceptible to *Rhizoctonia solani* Kihn. **Plant Physiol**. v.44 p.641-648.
- BELAN, L. L.; POZZA, E. A.; FREITAS, M. L. O.; POZZA, A. A. A.; ABREU, M. S.; ALVES, E. Nutrients distribution in diseased coffee leaf tissue. **Australasian Plant Pathology**, 44, 105–111, 2014.
- BURGESS, T.M.; WEBSTER, R.; McBRATNEY, A.B. Optimal interpolation and isarithmic mapping of soil properties IV. Sampling Strategy. **Journal of Soil Science**, v.32, n.4, p.643-659, 1981.
- CARVALHO, V. L., CHALFOUN, S. M., CASTRO, H. A., & CARVALHO, V. D. Influência da produção na incidência da ferrugem do cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 31, 401–405, 1996.
- GARCIA JÚNIOR, D.; POZZA, E.A.; POZZA, A.A.A, SOUZA, P.E.; CARVALHO, J.G.; BALIEIRO, A.C. Incidência e severidade da cercosporiose do cafeeiro em função do suprimento de potássio e cálcio em solução nutritiva. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p. 286-291. 2003.
- GUIMARÃES. Et al. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais. **5. Aproximação**. Viçosa:CFSEMG, Page 359, 1999.
- HUBER, D. M. The role of nitrogen and sulfur on plant disease incidence and resistance. In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO MINERAL E DOENÇAS DE PLANTAS, 2005. Piracicaba: **Anais... POTAFOS**. CD-ROM.
- HUBER, D.M. ; D.C. ARNY. 1985. Interactions of potassium with plant disease. In: MUNSON, R.D (isso, o excesso de adubação potássica, do uso de calcário calcítico, superfosfato e gesso também são apontados como causas ed). **Potassium in Agriculture**. ASA, CSSA, SSA (Madison), p. 467-488.
- HUBER, D.M. ; JONES, J. B. The role of magnesium in plant disease. **Plant Soil**, p.73–85, 2013.
- HUBER, D.M.. The role of mineral nutrition in defense. In J.G. HORSFALL AND E.B. COWLING (eds.). **Plant Disease, An Advanced Treatise**, Vol. 5, How Plants Defend Themselves. Academic Press: New York, 1980.
- KRIGE, D.G. A statistical approach to some Witwatersrand. **Journal of the Chemical**, South Africa, v.52, p.119-139, 1951.

- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 6. ed. São Paulo: Sarvier, 2014. 1328p.
- LIMA, L. M.; POZZA, E. A.; SANTOS, F. S. Relationship between incidence of Brown eye spot of coffee cherries and the chemical composition of coffee beans. **Journal of Phytopathology**, 160, 209–211, 2012.
- MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed. London. **Academic Press**, 1995.
- MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 3.ed London: **Elsevier**, 2012. 643p.
- MARTINEZ, H. E. P., MENEZES, J. F. S., SOUZA, R. B., VENEGAS, V. H. A., & GUIMARÃES, P. T. G. Faixas críticas de concentrações de nutrientes e avaliação do estado nutricional de cafeeiros em quatro regiões de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 38, 703–713, 2003.
- MATHERON, G. Principles of geostatistics. **Economic Geology**, v.58, 1963. p.1246-1266.
- MELLO, J. M. **Geoestatística aplicada ao inventário florestal**. 2004. 110 p. Tese (Doutorado em Recursos Florestais, Silvicultura e Manejo Florestal) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2017. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cafe/saiba-mais> acesso em: 30 de out. 2019.
- MORAES, S. A. (1983). A ferrugem do cafeeiro: importância, condições pré-disponentes, evolução e situação no Brasil. Campinas: IAC, 50 p. (Circular instituto campinas, 119).
- POZZA, A. A. A., MARTINEZ, H. E. P., CAIXETA, S. L., CARDOSO, A. A., ZAMBOLIM, L., POZZA, E. A. Influência da nutrição mineral na intensidade da mancha de olho pardo em mudas de cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n. 1, p.53-60, 2001.
- POZZA, E. A., CARVALHO, V. L., & CHALFOUN, S. M.. Sintomas de injúrias causadas por doenças em cafeeiro. In: R. J. GUIMARÃES, A. N. G. MENDES, & D. P. BALIZA (Eds.). **Semiologia do cafeeiro: sintomas de desordens nutricionais, fitossanitárias e fisiológicas**. UFLA: Lavras, 2010. p. 69–101.
- POZZA, E. A.; POZZA, A. A. A. Relação entre nutrição e as doenças de plantas: implicações práticas. In: Machado, A.K.F.M.; Ogoshi, C.; Perina, F.J.; Silva, G.M.; Neento, H.S.; Costa, L.S.A.S.; Alencar, N.E.; Martins, S.J.Terra, W.C.; Zancan, W.L.A.. (Org.). **Avanços na otimização do uso de defensivos agrícolas no manejo fitossanitário**. 1ed. Suprema Gráfica e Editora: São Carlos, 2012. p. 259-282.
- RAHMAN, M.; PUNJA, Z. K. Calcium and plant disease. In L. E. DATNOFF, W. H. ELMER,; D. M. HUBER (Eds.). **Mineral nutrition and plant disease**. American Phytopathological Society Press: St. Paul, 2007. 79–93.
- SANTOS, F. D. S.; SOUZA, P. E. D.; POZZA, E. A.; MIRANDA, J. C.; CARVALHO, E. A.; FERNANDES, L. H. M.; & POZZA, A. A. A. Adubação orgânica, nutrição e progresso de cercosporiose e ferrugem-do-cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 43(7), 783–791, 2008.
- SHIMAZAKI K, et al. Light regulation of stomatal movement. **Annu Rev Plant Biol**. 2007 v.58, 219–47, 2007.
- SILVA, M. G.; POZZA, E. A.; CHAVES, E.; NETO, H. S.; VASCO, G. B.; DE PAULA, P. V. A. A.; DORNELAS, G. A.; ALVES, M. C.; SILVA, M.L. O.; POZZA, A. A. A. Spatio-temporal aspects of brown eye spot and nutrients in irrigated coffee. **EUROPEAN JOURNAL OF PLANT PATHOLOGY**, v. 153, p. 931-946, 2018.

SILVA, M. G.; POZZA, E. A.; Vasco, G. B.; FREITAS, A. S.; CHAVES, E.; PAULA, P. V. A. A.; DORNELAS, G. A.; ALVES, M. C.; SILVA, M. L. O.; POZZA, A. A. A. Geostatistical analysis of coffee leaf rust in irrigated crops and its relation to plant nutrition and soil fertility. **Phytoparasitica**, v. 46, p. 1-18, 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954p.

VIEIRA, S.R. Geoestatística em estudos de variabilidade espacial do solo. In: NOVAES, R.S.; ALVAREZ V, V.H.; SCHAESER, C.E.G.R. (Ed.). **Tópicos em Ciências do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. cap.1, p.1- 54.

YANG, Y., SHAH, J.; KLESSIG, D.F. Signal perception and transduction in plant defense responses. **Genes Dev**. 11, 1621–1639, 1997.

CAPÍTULO 6 - MINICURSO: O USO DO R E SUAS APLICAÇÕES NA FITOPATOLOGIA

Fernanda Aparecida Castro Pereira¹

Kelly Pereira Lima²

1 O que é R e RStudio?

O R é um software livre que foi criado e desenvolvido por Ross Ihaka e por Robert Gentleman na universidade de Auckland, Nova Zelândia. Seu nome provém em parte das iniciais dos criadores. Esse software vem do esforço colaborativo de pessoas em vários locais do mundo.

O R tem sido amplamente utilizado na pesquisa estatística e, claro, na área de pesquisa da fitopatologia. Uma de suas principais vantagens é o fato de não necessitar pagar a licença porque o programa é um software livre. O R é voltado para estatística e a construção de gráficos que pode ser baixado e distribuído gratuitamente de acordo com a licença GNU. Além disso, está disponível para as plataformas UNIX, Windows e MacOS.

Geralmente, o R é usado para a manipulação de dados, cálculo e análise dados e gráfica. R é uma ferramenta bastante poderosa com boas capacidades ao nível da programação que inclui condições, loops, funções recursivas definidas pelo usuário. Além disso, é também altamente expansível com o uso dos pacotes, que são bibliotecas para funções específicas ou áreas de estudo específicas.

Já o RStudio é um interface “amigável” para o R também é um software livre, o qual é um ambiente de desenvolvimento integrado para o R e está disponível em duas edições: RStudio Desktop e RStudio Server. No caso, para o uso do RStudio em computador usa-se o RStudio Desktop que estão disponíveis para Windows, MAC OS X e UNIX. O RStudio diferentemente do R possui um apelo visual, ou seja, possui uma interface mais amigável para o usuário.

2 Como instalar o R?

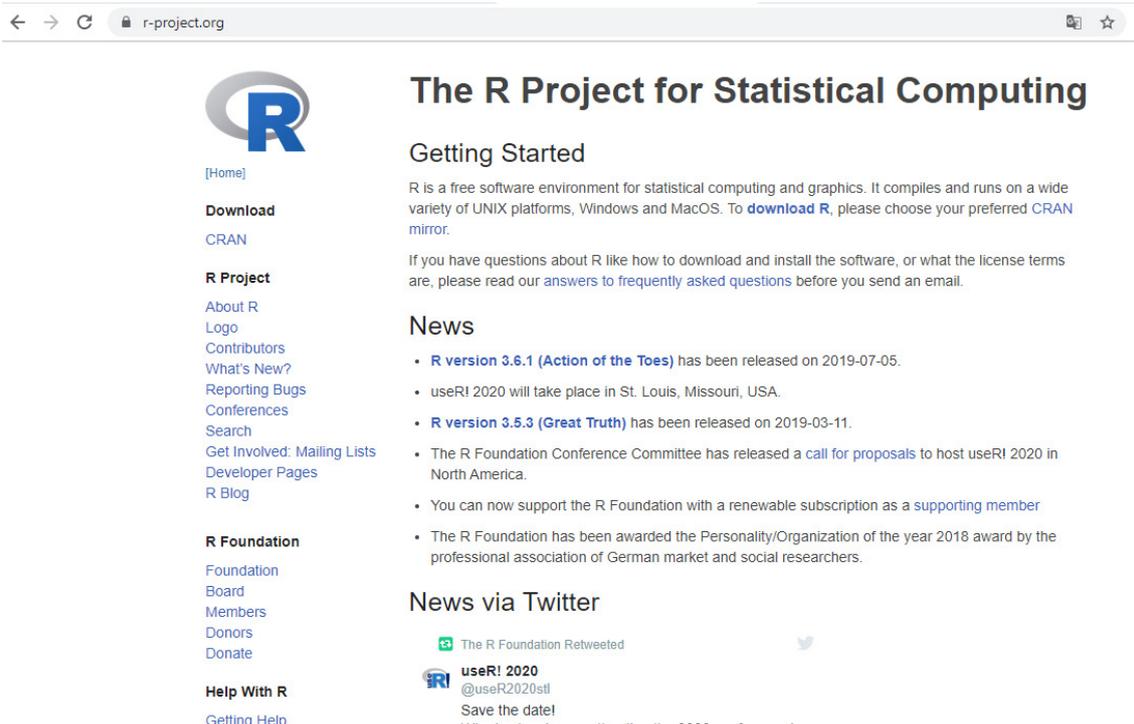
O R pode ser baixado diretamente de seu site www.r-project.org. Para instalar na plataforma Windows siga os passos a seguir:

1. Acesse o site do R (<https://www.r-project.org>) e clicar em download R como pode ser visto na Figura 1.

¹ Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, Pós-Doutoranda, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras MG. fernandacpereira01@gmail.com.

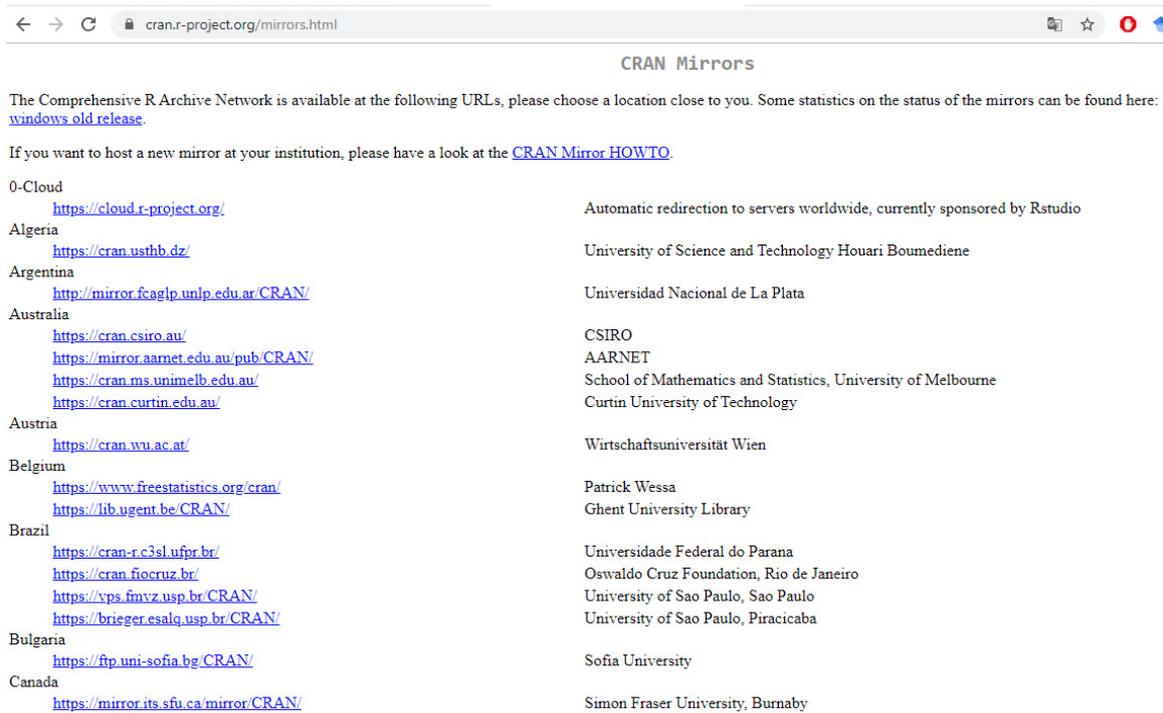
² Doutoranda em Estatística e Experimentação Agropecuária, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras MG. kelly.lima.88@gmail.com.

Figura 1: Interface do site.



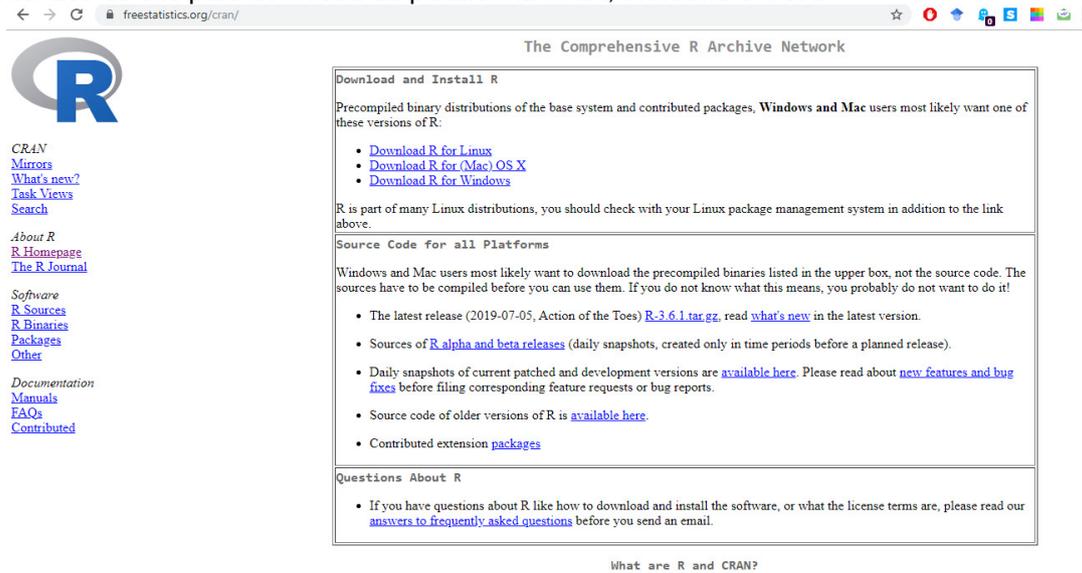
2. Escolher o CRAN (repositório) e Clique em CRAN.

Figura 2: Interface do site com o CRAN.



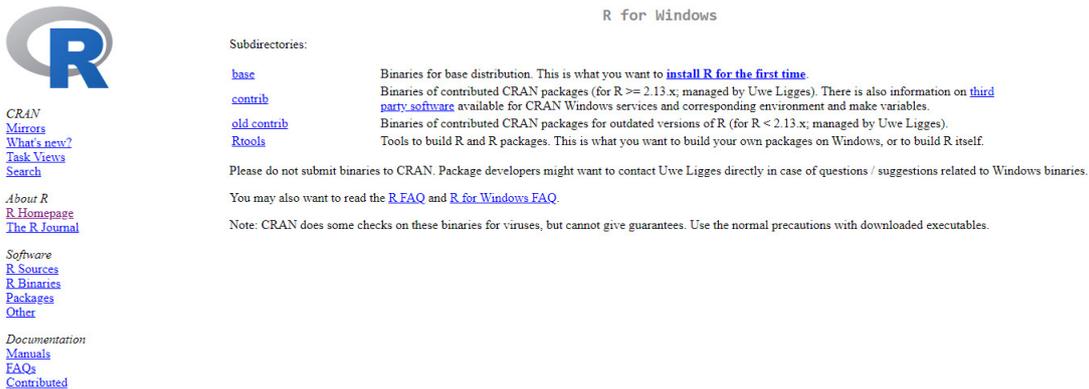
3. Escolha o Mirror (local do CRAN) de sua preferência e clique em download conforme a plataforma computacional. No caso, se o seu computador for Windows escolha a opção "Download R for Windows".

Figura 3: Interface do site para download da plataforma UNIX, Windows e OSX.



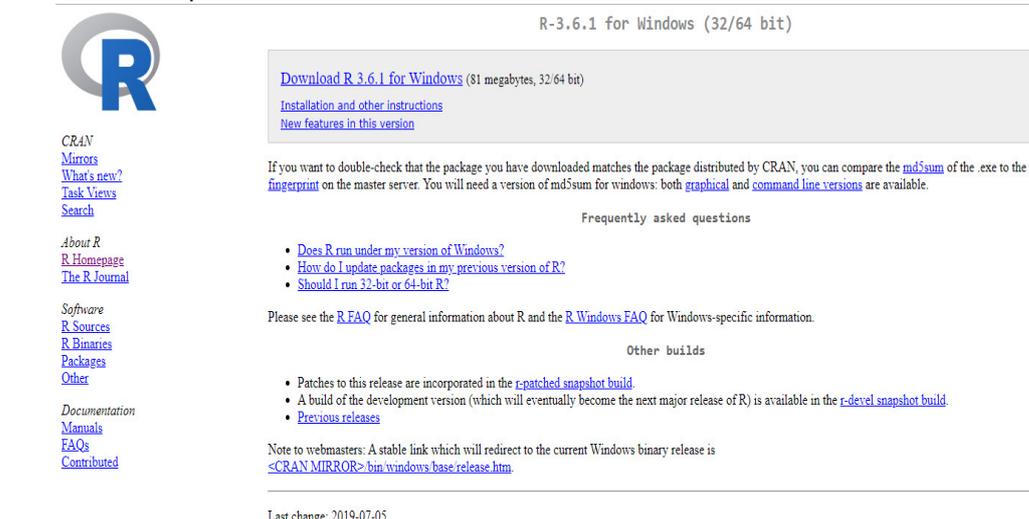
4. No caso clique na opção “install R for first time”.

Figura 4: Interface do site para download do R.



5. Clique em download R 3.6.1 for Windows e Execute o instalado. No caso, posterior a execução do instalador a opção será Next até a finalização;

Figura 5: Interface do site para download do R 3.6.1 for Windows.

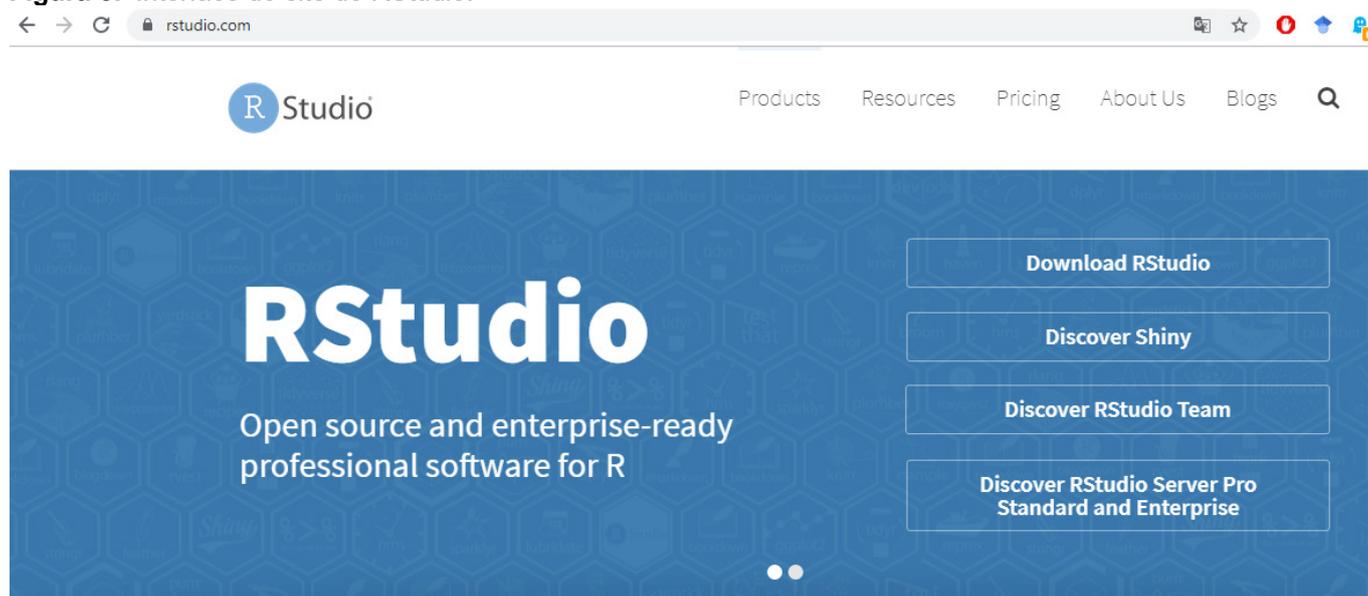


3 Como instalar o RStudio?

O RStudio possui algumas vantagens com relação ao R usual, pois a sua interface é mais organizada e “amigável”. Ao escrever palavras análogas na linha de código o software auto completa as funções, faz sugestão de funções ou objetos. Além disso possui abas específicas para determinação, guarda o histórico de comandos ou códigos usados, executa linhas de código sequenciais e identifica erros antes de executá-los. Para instalar o RStudio para desktop temos os seguintes passos:

1. Acesse o site do RStudio: <https://www.rstudio.com> e clique na opção Download RStudio.

Figura 6: Interface do site do RStudio.



2. Escolha a opção “RStudio Desktop” e clique no download da aba “FREE”.

Figura 7: Interface do site do RStudio para download.

RStudio is a set of integrated tools designed to help you be more productive with R. It includes a console, syntax-highlighting editor that supports direct code execution, and a variety of robust tools for plotting, viewing history, debugging and managing your workspace. [Learn More](#) about RStudio features.

RStudio's new solution for every professional data science team. RStudio Team includes RStudio Server Pro, RStudio Connect and RStudio Package Manager. [LEARN MORE](#)

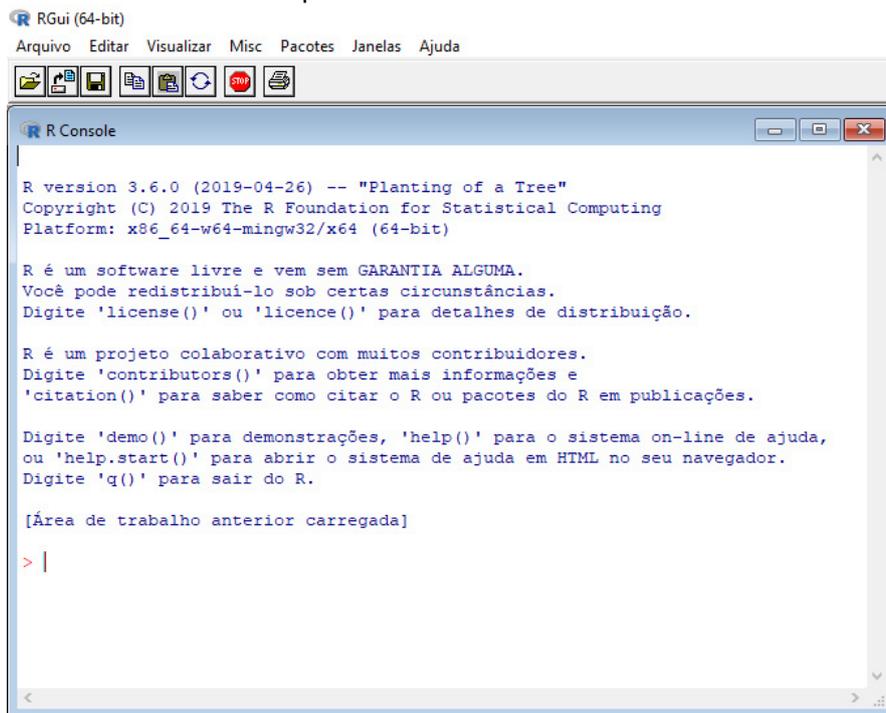
RStudio Desktop Open Source License	RStudio Desktop Commercial License	RStudio Server Open Source License	RStudio Server Pro Commercial License
FREE	\$995 per year	FREE	\$4,975 per year (5 Named Users)
DOWNLOAD	BUY	DOWNLOAD	BUY
Learn More	Learn More	Learn More	Evaluation Learn More

3. Execute o instalador e clique em Next até finalizar.

4 Console do R

O Console é a janela onde os comandos são digitados. Internamente ao Console, se encontra o prompt (`>`), conforme figura 7, que é um sinal indicador de que o programa está pronto para receber comando.

Figura 8: Interface do R do Console e Prompt.



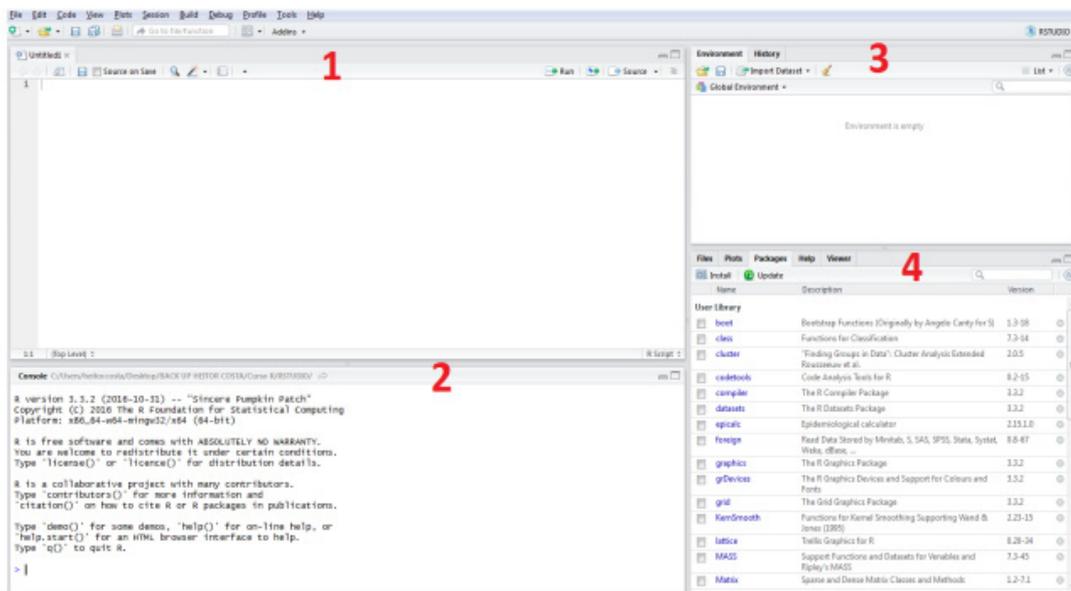
5 Console do RStudio

Note que o RStudio é muito mais organizado e possui muito mais funcionalidades, tornando a experiência do usuário mais prática e menos cansativa. O RStudio possui quatro janelas:

1. Script: é o local para escrevermos os códigos, para executar ou rodar os comandos basta selecioná-los e clicar no botão Run ou usar os botões do teclado como Ctrl + Enter que executarão os comandos de forma sequencial. Já para salvar o script usa-se o botão com a imagem do disquete e posteriormente seleciona o local para salvar o script e o nome que será adotado.
2. Console: onde são executados os comandos. No caso, todos os comandos executados no script aparecerão no console como os seus respectivos resultados.
3. Memória RAM: é o local em que ficam todos os objetos armazenado pelo o usuário, como por exemplo o banco de dados e histórico de execuções.

4. Arquivos gerados e arquivos externos: Localizam os outputs de gráficos, help do R, pacotes e as pastas ou diretórios.

Figura 9: RStudio com suas janelas.



Fonte: COSTA(2017)

6 Pacotes

O R possui várias funções e demandaria muito tempo inicialização se todas as vezes que fosse necessário usá-las ocorresse a necessidade de carregá-las. Por conta disso, foram criados os packages (pacotes) que são um compilado de funções.

O R é composto por três partes básicas: o R-base, os pacotes recomendados (recommended packages) e os pacotes contribuídos (contributed packages).

O R-base é o que contém as principais funções disponíveis quando iniciamos o programa.

Os pacotes recomendados são pacotes que são instalados junto com o R-base e não são carregados quando iniciamos o programa. Com por exemplo, os pacotes MASS, lattice e nlme são pacotes recomendados e existem vários outros. Para usar as funções destes pacotes deve-se carregá-los antes com o comando `library()`. Por exemplo, para carregar o pacote MASS utilize o comando: `library(MASS)`.

Os pacotes contribuídos não são instalados junto com o R-base e estão disponíveis na página do R, são pacotes adicionais que fornecem funcionalidade específicas. Para serem usados, deve-se baixar, instalar e carregar o pacote de interesse. Basta usar o comando `install.packages()` com o nome do pacote desejado entre aspas. Por exemplo para instalar o pacote lme4 basta digitar `install.packages("lme4")`.

7 Tipos de dados de entrada

Basicamente temos quatro tipos de dados no R: numéricos, caracteres, lógicos e números complexos. Sabe-se que cada objeto possui dois tipos de atributos: tipo (usando o comando `mode`) e o tamanho (`length`). Tais informações são bastante importantes durante a manipulação de dados. Alguns exemplos são:

```

#Numérico
numero <- 100
numero

## [1] 100

#Caracteres
caractere <- "Minicurso"
caractere

## [1] "Minicurso"

#Lógicos
12 < 26

## [1] TRUE

#Números complexos
nc <- 2 + 6i
nc

## [1] 2+6i

# Verificando se o objeto é numérico, lógico, caracteres ou função.
mode(numero)

## [1] "numeric"

mode(2<4)

## [1] "logical"

mode(caractere)

## [1] "character"

mode(nc)

## [1] "complex"

mode(mean)

```

```
## [1] "function"  
  
# Verificando o tamanho do objeto  
length(numero)  
  
## [1] 1  
  
length(caractere)  
  
## [1] 1  
  
length(nc)  
  
## [1] 1  
  
length(2<4)  
  
## [1] 1
```

8 Comandos Básicos

No R existe um símbolo de atribuição que é usado quando temos um objeto ou variável que queremos que receba algum valor ou alguma especificação. Como pode ser visto no exemplo abaixo:

```
# Os símbolos para atribuição são <- ou =  
x <- 30 # x é a variável que recebe o valor 30;  
y = 18 #y é a variável que recebe o valor 18;
```

Abaixo veremos os principais comandos que ajudam com a manipulação dos objetos.

- ls() ou objects() usado para lista curta de variáveis definidas;
- ls.str() para a lista detalhada de variáveis definidas;
- str(objeto) ver informações detalhadas do objeto;
- rm(objeto) deletar o objeto;
- rm(list = ls()) deletar todas as variáveis (limpar a workspace);
- class() ver que tipo de objeto;
- q() sair do R com a opção;
- ctrl + L no teclado, pressione "ctrl+L" para limpar a tela da console;
- # é usado para realização de comentários;
- ; é usado para separa dois comandos numa mesma linha.

8.1 Operações Matemáticas

R utiliza os seguintes símbolos para realizar operações aritméticas:

- + adição;
 - - subtração;
 - * multiplicação;
 - / divisão;
 - ^ potência;
 - sqrt(): raiz quadrada
- Já para as operações lógicas temos as seguintes funções:
- == igualdade
 - != diferente
 - maior
 - < menor
 - = maior ou igual
 - <= menor ou igual
 - & e (and)
 - ou (or)

8.2 Funções Matemáticas Simples

O R possui diversas funções matemáticas já implementadas. Como podemos ver abaixo:

- abs(x) valor absoluto de x
- log(x, b) logaritmo de x com base b
- log(x) logaritmo natural de x
- log10(x) logaritmo de x com base 10
- exp(x) exponencial elevado a x
- sin(x) seno de x
- cos(x) cosseno de x
- tan(x) tangente de x
- round(x, digits = n) arredonda x com n decimais
- ceiling(x) arredondamento de x para o maior valor
- floor(x) arredondamento de x para o menor valor
- sum(x) soma dos elementos do vetor x
- prod(x) produto dos elementos do vetor x
- max(x) seleciona o maior elemento do vetor x
- min(x) seleciona o menor elemento do vetor x
- range(x) retorna o menor e o maior elemento do vetor x

9 Tipos de objetos

O R possui seis tipos de objetos: vetores, matrizes, data-frame, listas, funções e arrays. Iremos focar nos quatros primeiros.

9.1 Vetores

São o tipo mais básico e simples de objeto para armazenar dados no R e para cria-lo basta usar a função `c()` que significa concatenação. Essa função simplesmente junta todos os argumentos dados a ela e assim forma um vetor. Exemplo:

```
v1 <- c(10.5, 11.3, 12.4, 5.7)
v1
## [1] 10.5 11.3 12.4 5.7

v2 <- c(FALSE, TRUE, TRUE, TRUE, FALSE)
v2
## [1] FALSE TRUE TRUE TRUE FALSE

v3 <- c("Ana", "Paulo", "Zé", "Maria", "João")
v3
## [1] "Ana" "Paulo" "Zé" "Maria" "João"
```

9.2 Matrizes

Uma matriz é um conjunto retangular de números, organizados em linhas e coluna em que cada um dos itens de uma matriz é chamado de elemento. No R, uma matriz é uma coleção de dados referenciados por dois índices referente a linha e a coluna. A função `matrix` cria uma matriz com os valores do argumento dado. Os números de linhas e colunas são definidos pelos argumentos `nrow` e `ncol`.

```
m1 <- matrix(data=1:12, nrow=3, ncol=4)
m1
##      [,1] [,2] [,3] [,4]
## [1,]  1   4   7  10
## [2,]  2   5   8  11
## [3,]  3   6   9  12
```

O argumento preenche a matriz por linhas:

```
m2 <- matrix(data=1:12, nrow=3, ncol=4, byrow = TRUE)
m2
##      [,1] [,2] [,3] [,4]
## [1,]   1   2   3   4
## [2,]   5   6   7   8
## [3,]   9  10  11  12
```

Algumas operações básicas com matrizes:

- `A**B` Produto matricial de A por B
- `t(A)` Transposta da matriz A
- `solve(A)` Inversa da matriz A
- `det(B)` Determinante de B
- `eigen(A)` Retorna os autovalores e auto vetores de A

9.3 Lista

A Lista serve para armazenar diferentes objetos dentro de um mesmo objeto. O comando para a criação de uma lista é `list(objetos)`.

```
l1 <- list(m1, m2)
l1
## [[1]]
##      [,1] [,2] [,3] [,4]
## [1,]   1   4   7  10
## [2,]   2   5   8  11
## [3,]   3   6   9  12
##
## [[2]]
##      [,1] [,2] [,3] [,4]
## [1,]   1   2   3   4
## [2,]   5   6   7   8
## [3,]   9  10  11  12
```

9.4 Data Frame

O Data frame é um matriz de dados em que as colunas podem ser de diferentes tipos. Exemplo:

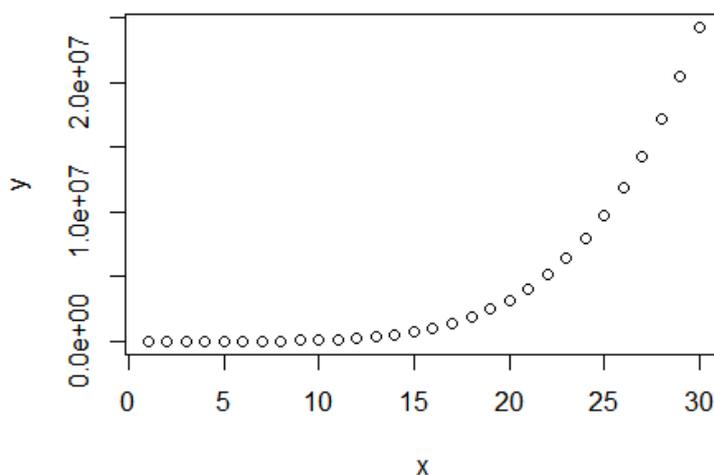
```
df <- data.frame(m1, m2)
df
##   X1 X2 X3 X4 X1.1 X2.1 X3.1 X4.1
## 1  1  4  7 10    1    2    3    4
## 2  2  5  8 11    5    6    7    8
## 3  3  6  9 12    9   10   11   12
```

10 Gráficos

Por meio de comandos simples o R consegue plotar desde gráficos bidimensionais simples até gráficos tridimensionais mais complexos. Os gráficos estatísticos podem ser construídos a partir de determinados comandos. Falaremos dos histogramas e boxplot.

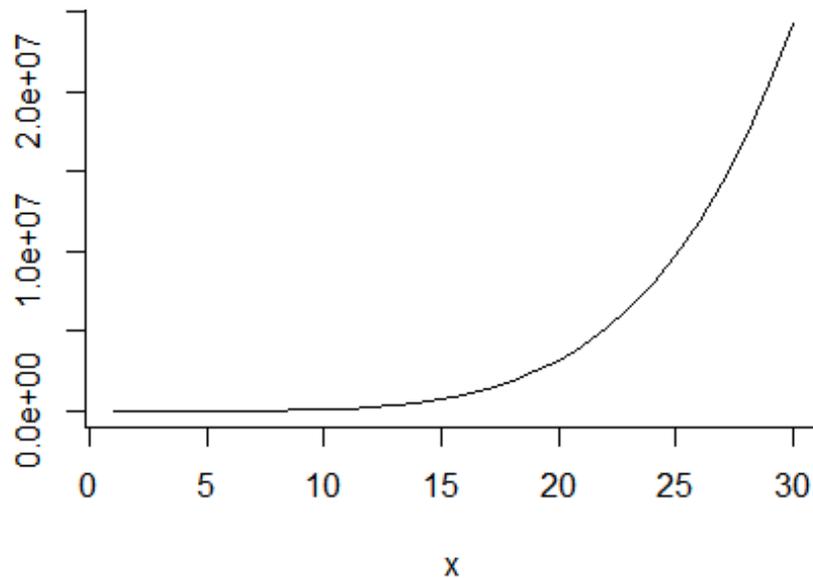
O comando básico para a criação gráfica é o `plot()`. A função “`plot(dados)`” gera um gráfico simples, atribuindo pontos em coordenadas cartesianas. Confira o exemplo abaixo:

```
x <- 1:30
y <- x^5
plot(x,y)
```



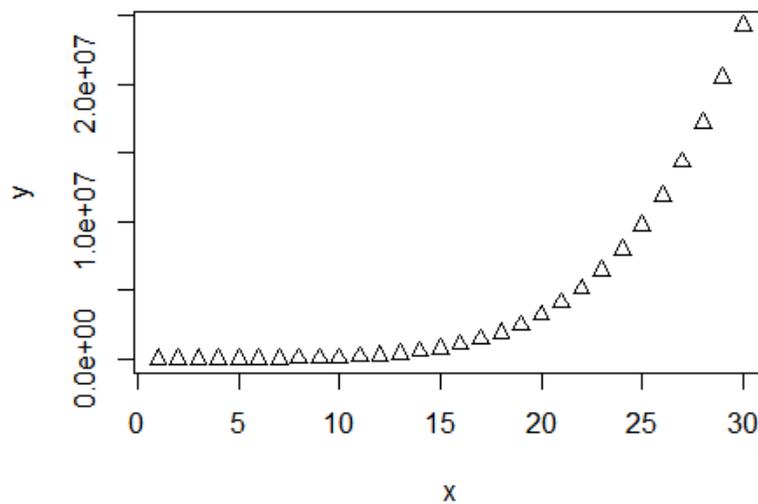
Para tornar o gráfico acima contínuo, ou seja, transformá-lo em uma linha, deve-se acrescentar o argumento `type='l'`

```
plot(x,y, type="l")
```



R permite alterações na representação dos indicadores gráficos (pontos) através do parâmetro “pch=”.

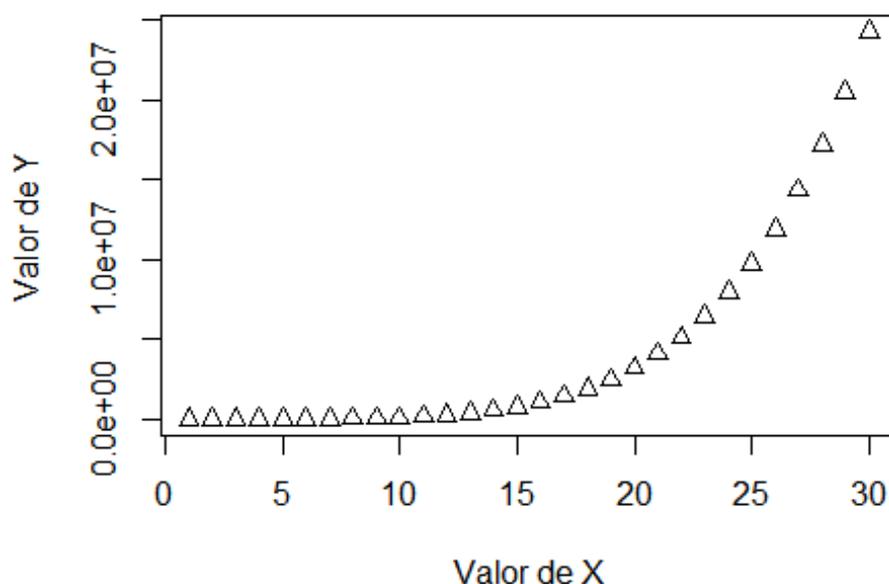
```
plot(x,y, pch=2)
```



Pode-se ainda acrescentar o nome dos eixos através dos parâmetros “xlab=” e “ylab=” no comando plot(). Além disso, podemos colocar título nos gráficos usando “main=” no comando plot().

```
plot(x,y, pch=2, ylab="Valor de Y", xlab="Valor de X", main="Gráfico de X e Y")
```

Gráfico de X e Y



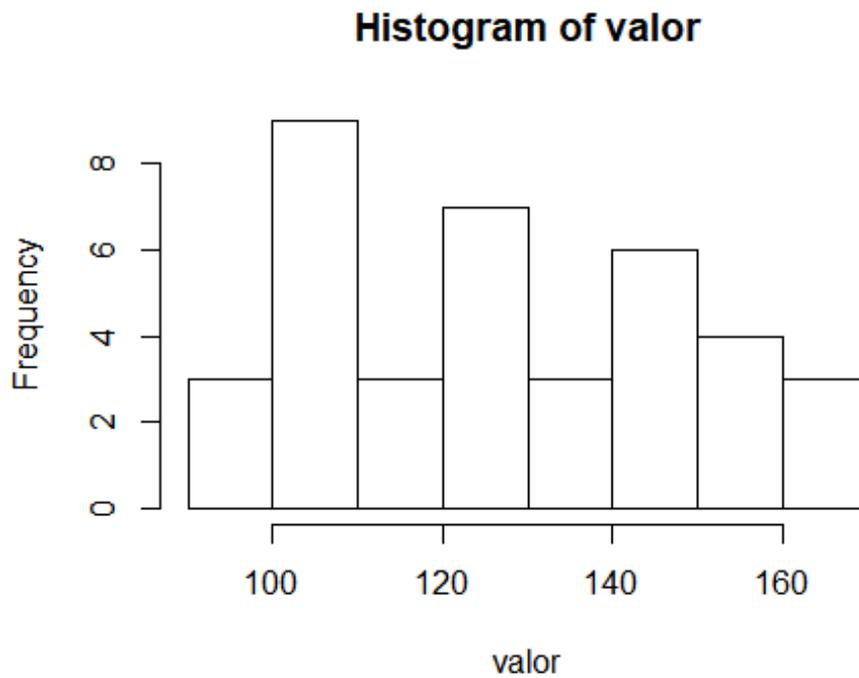
10.1 Gráficos Para Análise Descritiva

Apresentaremos agora dois gráficos fundamentais na análise descritiva dos dados: histograma e boxplot. Esses gráficos são reconhecidos no R pelos nomes `hist` e `boxplot`.

10.1.1 Histograma

Um histograma divide uma série de dados em diferentes classes equidistantes e mostra a frequência de valores em cada classe. Esse gráfico apresenta diferentes barras, com bases iguais e amplitudes relativas às frequências dos dados em cada classe.

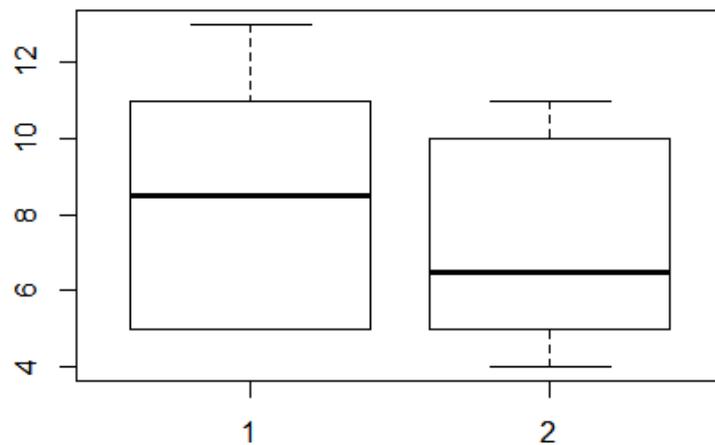
```
valor <- c(96,96,102,102,102,104,104,108,  
126,126,128,128,140,156,160,160,164,170,  
115,121,118,142,145,145,149,112,152,144,  
122,121,133,134,109,108,107,148,162,96)  
hist(valor)
```



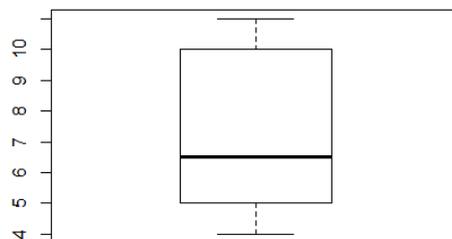
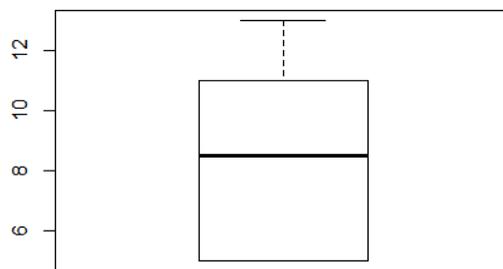
10.1.2 Boxplot

O boxplot é também conhecido como gráfico de caixa ou de bigodes, possibilita a representação da distribuição de um conjunto de dados com base na mediana e nos quartis. Com isso, podemos fazer uma avaliação visual da simetria dos dados e sua dispersão. É geralmente recomendado para a comparação de dois ou mais conjuntos de dados.

```
x <- c(5,5,5,13,7,11,11,9,8,9)
y <- c(11,8,4,5,9,5,10,5,4,10)
boxplot(x,y) #para plotar no mesmo gráfico (comparação)
```



`boxplot(x); boxplot(y)` *#para plotar em gráficos diferentes*



11 Estatística Descritiva

A estatística descritiva é usada para a organização, apresentação e sintetização dos dados. Desenvolveremos abaixo alguns componentes da estatística descritiva, bem como seus comandos.

11.1 Medidas De Posição

As medidas de posição mais importantes são as medidas de tendência central, no qual se verifica uma tendência dos dados observados a se agruparem em torno dos valores centrais. Exemplos dessas medidas são a média e mediana. No caso, a média é dada por:

```
#Exemplo:
x <- c(10, 14, 13, 15, 16, 18, 12)
mean(x)
## [1] 14
```

A mediana é um conjunto de valores, arranjados conforme uma ordem crescente é o valor situado de tal forma no conjunto que o separa em dois subconjuntos de mesmo número de elementos.

```
k <- c(1,3,0,0,2,4,1,2,5)
median(k)
## [1] 2

g <- c(1,3,0,0,2,4,1,3,5,6)
median(g)
## [1] 2.5
```

A função `summary` é capaz de resumir vários tipos de objetos em uma única função. Dentre esses objetos encontram-se o primeiro e o terceiro quartil, mediana, máximo, mínimo. Calculando um exemplo através do R:

```
summary(k)
##      Min. 1st Qu.  Median    Mean 3rd Qu.   Max.
##      0       1       2       2       3       5
```

11.2 Medidas De Dispersão

As medidas de dispersão são a amplitude total, a variância, o desvio-padrão e o coeficiente de variação. A amplitude é a diferença entre o maior e menor dos valores da série. Ou seja:

$$A=X_{max}-X_{min}$$

O uso da amplitude total como medida de dispersão é muito limitado, pois é uma medida que depende apenas dos valores extremos, não sendo afetada pela variabilidade interna dos valores da série. Em uma série de dados podemos encontrar os valores máximos e mínimos através dos seguintes comandos:

```
dados <- data.frame(m1,m2)
max(dados)
## [1] 12
min(dados)
## [1] 1
range(dados)
## [1] 1 12
max(dados) - min(dados)
## [1] 11

#Exemplo: Dada a série de dados {20,23,23,28,33,37,37,37,40,44}:
a <- c(20,23,23,28,33,37,37,37,40,44)
max(a)
## [1] 44
min(a)
## [1] 20
range(a)
## [1] 20 44
Amplitude <- max(a)-min(a)
Amplitude
## [1] 24
```

Já a variância é a medida de dispersão geralmente mais empregada, pois leva em consideração a totalidade dos valores da variável em estudo. Baseia-se nos desvios em torno da média aritmética, sendo um bom indicador de variabilidade dos dados.

```
var(a)
```

```
## [1] 67.28889
```

O desvio padrão é a raiz quadrada da variância. Desta forma, seguindo a mesma linha de raciocínio utilizando para a variância, necessitamos, agora, aproximar a medida de dispersão da variável original.

```
sd(a)
```

```
## [1] 8.20298
```

O coeficiente de variância é uma medida relativa de dispersão, favorável para a comparação em termos relativos do grau de concentração em torno da média, ou seja, comparação de um grau de variabilidade. A sua fórmula é dada por:

$$CV = \frac{\sigma}{\bar{x}} * 100$$

A sua importância se dá, pois o desvio-padrão é relativo à média. E como duas distribuições podem ter médias diferentes, o desvio destas distribuições não é comparável. Logo, o coeficiente de variação é muito utilizado para comparação entre amostras.

```
CV = 100*sd(a)/mean(a)
```

```
CV
```

```
## [1] 25.47509
```

Considerações

O R é uma importante ferramenta para análise de dados nas mais diversas áreas. Além disso, tem como principal ponto positivo o fato de ser um ambiente de código aberto e flexível, desta maneira facilitando a utilização no ambiente acadêmico.

Embora o R proporcione diversas outras possibilidades, nós buscamos demonstrar de maneira mais prática, apenas os comandos básico e estatística descritiva. Vale ressaltar que,

em muitos casos, será necessária a aplicação de métodos mais complexos que exigirão o suporte de um profissional com expertise em estatística.

Referências

COSTA, H. V. V. **Introdução ao R. Apostila do curso de estatística da Universidade Federal de Pernambuco**, UFPE, 2017.

CRAWLEY, M. J. **The R book**. John Wiley & Sons, 2012.

GRIES, S. T. **Statistics for linguistics with R: A practical introduction**. Walter de Gruyter, 2013.

HOTHORN, T. ; EVERITT, B. S. **A handbook of statistical analyses using R**. Chapman and Hall/CRC, 2014.

MORETTIN, P. A.; BUSSAB, W. O. **Estatística básica**. Editora Saraiva, 2017.

VERZANI, John. **Using R for introductory statistics**. Chapman and Hall/CRC, 2018.

CAPÍTULO 7 - EXPLORING THE LOGIC OF THE PUBLICATION GAME

Teodorico de Castro Ramalho¹

Thaís Aparecida Sales²

1 Design of a Scientific Study

1.1 Some Questions and Principles

The need to publish becomes increasingly important, and the main factor that limits the publication is the writing. A well-written article has increased chances of diffusion and impact. However, before starting the discussion about the logic of the publication game, a few questions need to be asked (VOLPATO, 2011).

The first is “Why do you want to write an article?” From the answer to the first question, other questions arise, such as “how many articles do you need to publish each year?” or “What scientific journals will be available to help you reach your goal in publishing?”, or even “To achieve those goals, what did you do in those six months?”.

Additionally, to look forward a reading self-knowledge profile, it is also important to clarify if you have writing problems, and what are they. Check the options that may apply to you from those listed below:

- I don't have enough time to write
- I have a lot of good ideas
- I find it hard to structure the article
- I suffer from writer's block
- Not sure when to write the title and abstract.
- I don't know which journal to send my article to
- Overcoming reviewers is a big problem
- Spending a lot of time rewriting
- I don't know if I wrote a good article.

With the answers to these questions in mind, let's start now to introduce some principles that may be important in the process of scientific writing and research in general.

The first one is:

“Scientific writing is not a natural extension of research or thinking, but must therefore have a definite starting point.”

In this first principle, it is worth reflecting on the type of writing that we believe is being done. An idea that you can let your fingers psychograph on your computer keyboard is very dangerous and should be avoided. Scientific writing is not always a natural process. The whole

¹ Doutor em Química, Professor Associado e Pró-Reitor de Pesquisa da Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras MG. teo@ufla.com

² Doutoranda em Agroquímica, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras MG.

writing process needs to be formalized through a hypothesis, and it should not be conducted just by writing the way we think.

The second important principle is:

“Hard writing makes reading easier”

What does that mean? This principle tells us that working hard and devoting time to writing the text makes the reader’s life easier. In this way, the message will be released more clearly, the texts will be released with more care, and consequently, the recognition and number of citations will increase. Although it sounds simple, this is not an easy task, to write well, one needs to read a lot too.

The third principle concerns the clarification of the author when writing their texts:

“Clear thinking becomes clear writing, one cannot exist without the other.”

If what you want to write is not clearly and concisely organized in your mind, your writing is probably not clear either. Before you begin the writing process, you need to have the ideas organized clearly in your mind, and only then put them on paper. Otherwise, your text will appear as cluttered and disorganized as your ideas.

Finally, the fourth principle says that:

“The Success of research is measured from the output”

We can interpret this phrase as follows: one must keep in mind that search success is measured by its output, i.e. its output products.

But what are outputs?

The outputs are the results that your research can bring. These products are not just outputs from applied science, such as results from patents, services, training programs, new products or services. They can also be from basic science, and appear in the form of a thesis, articles, scientific projects or related things. It is the quality and scope of these outputs that will measure the success of your research.

With all these points in mind, we can now proceed.

1.2 Why Publish?

To share scientific knowledge is essential to develop humanity. Scientific publications can lead to Recognition (recognition to those authors), Reusability (allowing data to be utilized in future experiments and research) and Technology (scientific knowledge promotes economic advancement) (KUHN, 1962).

1.3 Why Writing Fails?

Getting into the design of a scientific paper itself, it is important to first highlight the reasons why the writing process fails. A very common mistake is the lack of writing planning, take time. Thinking about what will be written is a critical step in the success of the writing process. Secondly, we can cite the lack of clarity in the ideas of the author of the text. One of the main reasons why writing fails

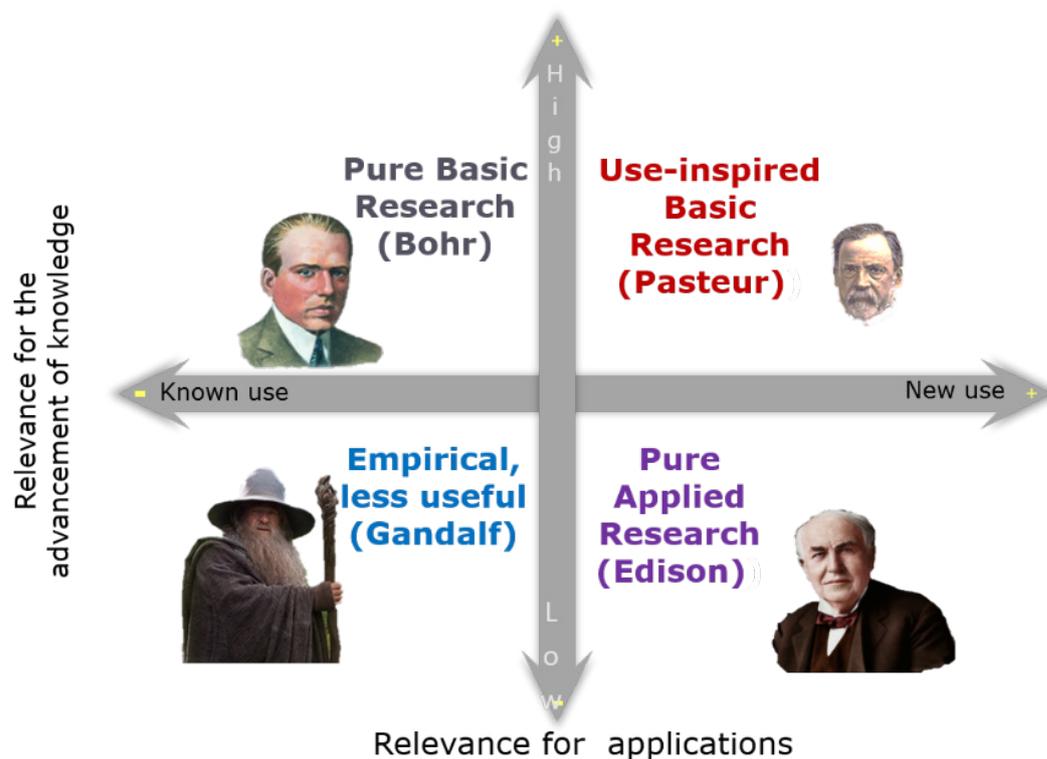
is that the reader cannot find a clear message when reading the text. When this occurs, the reader often gives up reading and is unable to receive the information that should be passed on to him. This error is directly linked to the previous one, since if you spend time planning the writing, it is much more likely that your message will be clearly conveyed to the reader. An important observation that deserves to be stressed again is that this message must firstly be clear to the writer.

Another important point is the appropriate marketing choice for your text. Publishing in an inappropriate media could also be a contributing factor to the text's lack of success. Therefore, choosing where to publish is of paramount importance.

Now, we can go deeper into the marketing and message aspects that your work must convey.

1.4 Going Deep Into The Message/Market Aspects

Again, before you start any scientific writing process, you need to clearly know what message your scientific work wants to transmit. The message must contain NO MORE THAN 12 WORDS, only 1 VERB, and MUST NOT contain words such as "AND". Also, remember that your work should contain only one message.



A famous technique that can help in defining the message of your work is brainstorm. This is a technique used to stimulate creative thinking. As its name implies, the diversity of thoughts and experiences together can generate innovative messages. To do this, you must initially define the problem to be solved. Then you should be able to read and read and gather all the information you need to be able to come up with ideas that might solve the problem at hand. It is important to

consider all your ideas, none of them should be discarded. Finally, from this whole set of ideas, by combination or choice, very elaborate message can come forth.

Once you get the message for your paper, it is time to decide if the message you choose is relevant to the selected marketing. This decision is crucial as a high impact project leads to a high impact paper! When it comes to high impact, it is not just a technological output, for example. To design a good project, you need to keep in mind what the line of thought you want to follow is. To do so, we can rely on the Stokes diagram shown below. Which quadrant does your work fit into?

In this diagram, a new classification of research and innovation activities is proposed, inserting research activities between two coordinates: the first one that scales the advancement of knowledge and the second, its application. Projected on a graph, basic research with no immediate application - which has its best example in the physicist Niels Bohr's investigations of the structure of the atom - occupies the upper left quadrant; Applied research aimed at technological development - such as that of Thomas Edison's electric lighting system - fits into the lower left quadrant. In the upper right quadrant there is research that can contribute to the advancement of knowledge - the inherent quality of basic research - while having great prospects for practical applications. Pasteur's research in microbiology - which has advanced knowledge and benefited beet alcohol producers - is his most notorious example. It is in this region of confluence of the precepts of basic and applied research - the Pasteur Quadrant - that Stokes inscribes basic research inspired by use that, by setting knowledge in motion and meeting social demands, may be the basis of the new pact between scientific and political communities. Stokes points out that support for socially inspired research does not divert attention - nor public resources - from pure research. On the contrary, it strengthens the "cause" of public investment, as it increases the capacity of this research area as a whole.

Keeping in mind the kind of scope that is desired for the project, the impact of the work tends to increase as the exact marketing area will have been clearly defined. But what is meant by 'the impact will increase'? The impact in question here is not the impact factor, but the impact or change that the ideas, or results, bring to society, to the producer(s) of the work, and to knowledge in general. However, to do research and write high impact articles, one has to get out of the common strategy of scientific production. The usual methodology of scientific production is based on the adequacy of ideas and experiments to available resources, and the last thing to do is to answer the scientific question that the work comes to solve. However, for a scientific paper to achieve the desired impact, it is necessary to rethink this way of production and researching. A better methodology is to develop research around an idea rather than develop idea around research. Once you find the problem to be solved, you begin to find the resources needed to solve that problem, thus generating a high impact article that can fulfill its purpose. Therefore, the second step needed is planning and executing work around the message created. If all the work is developed around a main message, it is much more fluid to connect that message to the other sentences of the work.

One way to connect this message to other topic sentences is by creating a mind map. The mind map is an essential tool in article planning and scientific writing, and is simply a type of

diagram used to visually represent information. Creating the mind map allows to better organize and understand information faster, so one can get the message across and the results are gotten more clearly, in a more fluid text. But how is a mind map created?

The first step in creating the mind map is to write the main message in the center of the page, and around that message, write a small number of questions, such as “why did we start?” (Introduction), “what did we do?” (Methodology), “what did we find?” (Results), and “so what does it mean?” (Discussion). Each of these questions will be a topic sentence, and will give rise to a part of the work alone. Information may then appear on a second level of topics, through which each paragraph of each topic will originate. It is important to mention that you should use keywords, not full sentences.

All of the observations contained above can greatly assist in creating high impact effects. But, as stated earlier, there is no use doing a very good job, and posting it in a place that it will not have the desired range. Thus, a third important observation is the choice of where to publish. There are several ways to disseminate the work, it can be in the form of abstracts, books or book chapters, unscholarly journals or even scientific papers.

The last is the most usual format. In this case, there are also many considerations to make when it comes to the paper submission process. Some scientific journals have a broader scope, while others have more specific content. In this sense, it is necessary for the researcher to identify the target audience and the type of journal to publish, and then decide whether the advancement is best suited to a specific or broader journal.

This kind of decision makes all the difference in the writing process, since for a more specific journal one can write more directly and accurately, and the details of the methodology may not be needed, among other things. On the contrary, if the paper is directed to a broader journal, the text must contain more details about the importance of the area, the gaps, the importance, the motivation of the research, etc. As such, the researcher will be able to reach good audiences with the scientific productions (STRUNK, 1979).

2 Scientific Writing

2.1 Literary Genre, Style and Language

Unlike an essay, a scientific report has a formalized structure. There are some scientific reports that may be less formally structured, as in the case of qualitative research (interviews, textual analysis, among others). But, in general, in the genre of scientific reporting, there is no place for suspense. In a scientific paper, the author must, at the first opportunity, provide the main advancement of the work. This first chance is usually in title, or even a summary.

Furthermore, there are some important observations in the style and language of the writing process of high impact papers. The first is that scientific writing is a formal genre, so there is also no place for informality in the production of high impact articles. When speaking in formal

language, thoughts of complex words and expressions soon arise. However, in a scientific paper, the use of simpler expressions can make the text clearer, but without losing the required formality.

Another very important point is that the writing has clarity and conciseness. Each sentence required in the text should be designed to send a message to the reader, and the best way to get that message clearly must be found. The lack of specificity can cause misinterpretation, and an alternative in this case is the use of command words, which makes the text more concise, especially in the case of exact sciences.

In addition to all of this information, there are some common problems that are important to mention. Firstly, we have the use of very long sentences. A text is divided into graphics and sentences. The sentence forms the messages in the reader's brain, and very long sentences do not allow this message to form, as the reader will not remember the information contained at the beginning of the sentence. For the message contained in a sentence to be better exposed, it is interesting that the action contained in that message appears in the verb form, not the noun form.

An example:

Verb - increased

Noun - An increase

Text fluency is also an important point in the writing process. For this fluency to occur, it is interesting that ~~there is a transition of~~ useful ideas are transitioned (verb) using connectors. This makes the text read well. When all sentences start with the same structure, this rhythm is impaired as reading ends up monotonous. A solution to this type of problem may be to alternate the sentence length, or even appropriate the beginning of each sentence, to make the text less repetitive.

With all this in mind, it is time to start the writing process. For this, it is important to keep in mind the order in which to start writing the work. The section that should be written first, and the hardest, is the results and discussion section. It is from there that links to the other sections will be pulled, as in the case of the introduction. The last part should be the abstract, because as it summarizes the work. What does not yet exist cannot be summarize. After the work is done, it is important to review if the title is appropriate (ALBERT, 2015).

2.2 Title

A regular scientific paper is divided into sections, which are the title, authors section, abstract, introduction, methodology, results and discussion, conclusion and references. The first section is the title. The main function of the title is to attract the reader's attention. A good title may not be too general, but it should not be too long and must contain strongly related keywords. The scope of the keywords depends on the area. In some areas broader titles are good, in others they are not indicated. For example, in the exact sciences area, more precise and specific titles are preferable, so it is up to the author to recognize the demands of his area. A very important tip is to be concise. Whenever possible, the main result obtained in the research can already be brought into the title, or even the key problem that research seeks to solve. An example of this latter alter-

native is question-shaped titles. In this case, this is the key question of the paper. The question will have the role of enticing the reader to seek the answer throughout the text. As an example, we can cite the title of this paper:

Can Inhibitors of Snake Venom Phospholipases A₂ Lead to New Insights into Anti-Inflammatory Therapy in Humans? A Theoretical Study

2.3 Authors

Right after the title comes the authors section. Authors are those who contributed substantially to the manipulation of data, critical review of intellectual content, gave the final approval of the work, performed analysis or interpretation of data, or even acted in the design of the paper. The individual responsible for the article must have ethics when listing authors. There is one sentence that should be the rule when listing authors: all authors must be able to present and defend the work. Those who do not fit this criterion may be included as a contributor in the acknowledgments section.

2.4 Abstract

The third section of the article, and one of the most important is the abstract. The abstract has its particularities in terms of its structure and the information that should be contained in it. The function of the abstract is to provide the reader with the main points to be presented throughout the document. In this sense, it can be said that the abstract is a “mini article”, since all relevant information that appears in the paper should appear in a good abstract. A good abstract should contain a structure that presents a little contextualization, the area gap, the proposals, methodologies, results and conclusions. A common mistake that should be avoided, and that does not make text flow smoothly, is the back and forth between these classes of information. Using the same paper as example, it is possible to observe the abstract sections in the figure below.

In contextualization, the author shows the reader what his great research area is and how important it is. In the the gap part, the author should write about the aspects that still need to be studied, the limitations that motivated him to do the study or the things that are not well defined. After the gap, the purpose of the work can be presented clearly and concisely. The methodology is then presented without much detail, and finally some sentences that expose the results in a summarized way, showing how the results contribute to a larger area of knowledge. The initial sections are unnecessary in some cases, or depending on the journal type (broader or more specific scope). However, it is strongly recommended that the results and conclusions section be contained nonetheless.

2.5 Introduction

Next, is the introduction section providing the ideas need for everything to be well connected. One way to be able in clarify what information needs to be covered in the introduction section is to answer the following questions:

- Why is this area important? Communicate your area and the relevance of that area.
- What has been done so far?
- What hasn't been done so far in this area?
- Why your study is important
- What is being presented in this scientific article?

Can inhibitors of snake venom phospholipases A₂ lead to new insights into anti-inflammatory therapy in humans? A theoretical and experimental study

Abstract: Human phospholipase A₂ (PLA₂) of the IIA group (HGIIA) catalyze the hydrolysis of membrane phospholipids, producing arachidonic acid, originating potent inflammatory mediators. Therefore, molecules that can inhibit this enzyme are a source of potential anti-inflammatory drugs, with different action mechanisms of known anti-inflammatory agents. For the study and development of new anti-inflammatory drugs with this action mechanism, snake venom PLA₂ (svPLA₂) can be employed, since the svPLA₂ has high similarity with the human PLA₂ HGIIA. Despite the high similarity among these secretory PLA₂, it is still not clear if these toxins can really be employed as an experimental model to predict the interactions that occur with the human PLA₂ HGIIA and its inhibitors. Thus, the present study aims to compare and evaluate, by means of theoretical calculations, docking and molecular dynamics simulations as well as experimental studies, the interactions of human PLA₂ HGIIA and two svPLA₂ *Bothrops* toxin II and Crotoxin B (BthTX-II and CB). Our theoretical findings corroborate experimental data and point out that the human PLA₂ HGIIA and svPLA₂ BthTX-II lead to similar interactions with the studied compounds. From our results, the svPLA₂ BthTX-II can be used as an experimental model for the development of anti-inflammatory drugs for therapy in humans.

Keywords: Experimental model; svPLA₂; vanillic acid. |

1. Introduction

The inflammatory process involves a complex cascade of biochemical and cellular events, and is

CONTEXTUALIZATION

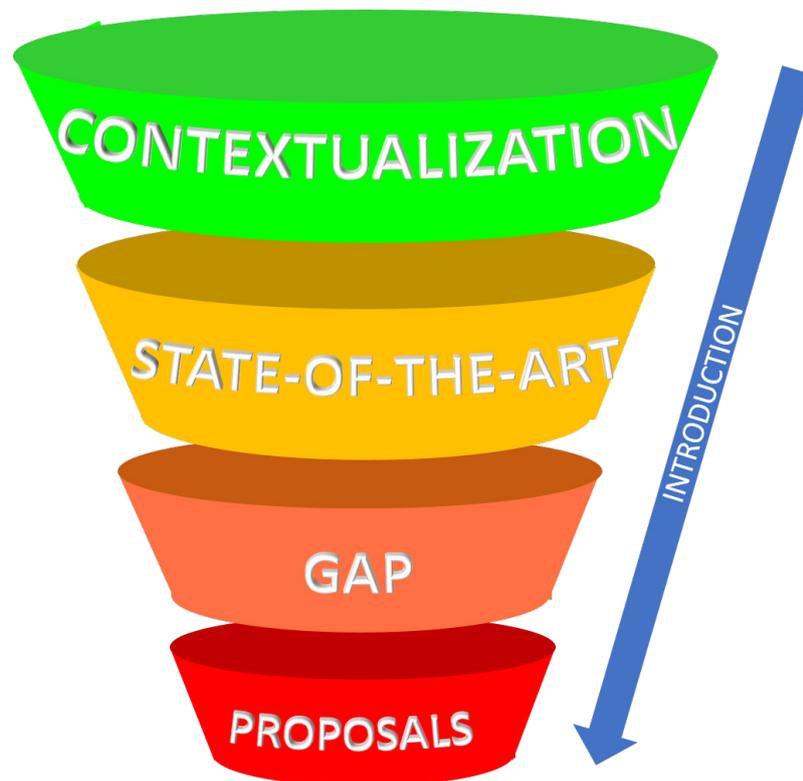
GAP

PROPOSALS

BRIEF RESULTS

CONCLUSIONS

More specifically, the introduction section should contain some classes of information, of course, this is a model for most areas, but may contain variations. Generally, the flow of ideas should move from the most general to the most specific, that is, it begins by talking about the large area of research and ends with the purpose of the work. If this proposed model is followed, the bottleneck occurs naturally.



The first class of information which a good introduction may contain is called contextualization, which contains the answer to the first question above. At this stage, it is where the author makes clear the importance of the area, in more detail than in the abstract, also containing citation and referencing process.

The second is the ‘state of the art’ placement, which corresponds to the second question. It is at this moment that the author contextualizes and shows the frontier of knowledge in a given area, the most advances that has been made until the present moment of writing. Understanding the state of the art and keeping updated in ones research area is of crucial importance, not only for the writing process. To know the state of the art in ones area increases the chances of innovation in creating ideas, developing the work exponentially. If one does not know where the frontier of knowledge is in your area, you cannot innovate in your research.

The information that will answer the third question is called “gap”, that is, the gap your work might fill. In this part, the author communicates what needs to be improved in the area and what things can be optimized. The final purpose must be related to this gap, which becomes a justification for the execution of the research in question. The gap and state-of-the-art parts may be in shifted orders. After that part, the rest is called the purpose. It is advisable that the purpose of the paper be as clear and concise as possible and should be presented as the last block of information so as not to confuse the reader with other information.

Another important aspect in the introduction is the citation and reference process. It is necessary to communicate the maximum amount of knowledge established until the moment of writing about a certain subject. This is why the citation and referencing process is so important. In addition, it is necessary to take responsibility in this process, because by citing other authors, the writer is contributing to the success of articles by other authors. A final observation of this aspect

is the choice of good papers for citation, the most recent in the state of the art, the pioneers or most cited in the area in the contextualization part, and so on.

2.6 Results and Discussion

The hardest part to write is the results and discussion section. Unlike the previous sections, in this part there is no way to propose a model for presenting information. In addition, there are many divergences in the standards required by journals. However, several tips can be considered in this section.

The first one is that this is the most important section of the scientific article, where the author proves his initial idea or the question that gave rise to his work. In addition, it is important to find a balance between the amount of information presented in the text and the includes graphics. There should also be a very clear link between this and all other sections, especially the introduction section. Because of this, it is indicated that results and discussion section be written first.

All of this information is important since a good article can lose its efficiency and prominence because the author did not have the ability to write good text to incorporate promising results. Another important tip is that it is interesting to always make a comparison with the results obtained and previous results, obtained in the same line of research. Also, at the beginning of this section there may be a short sentence related briefly to methodology and contextualization.

2.7 Conclusion Section

The main role of the conclusion is to demonstrate how advances in work contribute to the broad area of knowledge. Contrary to the introduction, the flow of ideas moves from the most specific to the broadest. In this sense, an advisable order of presentation of the information is to describe the main results obtained in the work in a summarized way, then the brief interpretations of these results, and finally what the contribution of these results to the large area is. A brief recap of what was done can also be welcome at the beginning.

3 Conclusion

It is complicated to generalize as to how to produce a good scientific paper. However, it is clear that a well-written article has increased chances of diffusion and impact. It should also be kept in mind that “Scientific writing is not a natural extension of research or thinking, but must therefore have a definite starting point.” The publishing process is highly competitive and when considering a high impact journal several skills are needed that can, or not, be developed along an academic career. Thus, to understand and study the logic of the publishing game is crucial in order to succeed in this task.

Literature Cited

ALBERT, T. **Winning the Publication Game**. 4th ed. CRC Press, 2015.

KUHN, T. S. **The Structure of Scientific Revolutions**, Chicago: University of Chicago Press, 1962.

STRUNK, W.; WHITE, E. B. **The Elements of Style**. 3rd ed. New York: Macmillan, 1979.

VOLPATO, G. L. **Método Lógico para Redação Científica**, Botucatu, SP: Best Writing, 2011.

CAPÍTULO 8 - MODELOS ESTATÍSTICOS APLICADOS À FITOPATOLOGIA

Edilson Marcelino Silva¹

Mário Roberto Nogueira Colares²

1 Introdução

A utilização de modelos estatísticos no campo da ciência tem as mais diferentes finalidades. Por definição, um modelo estatístico é uma simplificação de um problema real que representa premissas, oriundo de processos experimentais ou lógicos, a fim de representá-lo e explicá-lo de forma satisfatória, utilizando conceito estatístico e de outros campos da ciência (BENDER, 1978).

Na fitopatologia, diversos são os modelos estatísticos que buscam explicar como a população de determinados fitopatógenos, dentre os quais, fungos, bactérias, vírus e nematoides se desenvolvem e evoluem ao longo do tempo a partir de variáveis biológicas, geralmente relacionadas ao patógeno e hospedeiro, associando, em muitos casos, variáveis climáticas, principalmente.

Os Modelos estatísticos podem ser classificados seguindo diversos critérios, entre os mais importantes estão à natureza das variáveis e a dependência com a variável tempo. Em relação à natureza das variáveis, um modelo pode ser definido como determinístico ou estocástico. Quando há uma associação de um valor fixo de entrada para a variável, e dessa forma, não leva em consideração a variabilidade, o modelo é determinístico. Caso as variáveis apresentem valores aleatórios e que possam ser representados por funções de distribuição de probabilidade associada às mesmas, o modelo é classificado como estocástico (BENDER, 1978).

2 Modelos estatísticos

Modelos estatísticos são caracterizados por apresentarem uma plotagem da proporção de uma determinada doença em relação ao tempo. Nesse contexto é possível realizar diversos estudos com análise de crescimento de uma determinada população de fungos fitopatogênicos, previsão de níveis futuros de determinada epidemia e estudos de processo epidêmico (AMORIM et al. 2018).

Nas diversas áreas de pesquisa, quando se trabalha com duas ou mais variáveis surge a necessidade de ajustar uma função matemática que explique o comportamento de uma variável em relação a(s) outra (s). Os modelos de regressão são funções que permitem o ajuste de equações a conjunto de dados que expressem matematicamente a relação entre variáveis. Em matemática esta relação é definida como função e expressa de acordo com a Equação 1, como:

1 Bolsista CNPq, Matemático, MSc. e Doutorando em Estatística e Experimentação Agropecuária, Departamento de Estatística, Universidade Federal de Lavras - UFLA, 37200-900, Lavras – MG. e-mail: edilsonmg3@hotmail.com.
2 Bolsista CAPES, Engenheiro Agrônomo, MSc. e Doutorando em Agronomia/Fitopatologia, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras - UFLA, 37200-900, Lavras – MG. e-mail: mnogueiracolares@gmail.com.

$$y_1 = f(x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{ip}) \quad (1)$$

Em estatística, esta relação é conhecida como regressão pelo fato do modelo incorporar uma parte aleatória denominada erro, e representa os inúmeros fatores que, conjuntamente, fazem as observações de y_i oscilarem e expressa na Equação 2, como:

$$y_i = f(x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{ip}) + \varepsilon_i \quad (2)$$

Em que $i = 1, 2, \dots, n$ e assume-se que ε_i tem distribuição normal com média 0 e variância constante σ^2 (HOFFMANN; VIEIRA, 1998), ou seja, $\varepsilon_i \sim N(0, \sigma^2)$.

Segundo Draper e Smith (2014) os modelos de regressão podem ser classificados em relação aos parâmetros como lineares e não lineares. Considera-se o modelo de regressão como linear quando as derivadas parciais em relação a cada parâmetro não dependem dos parâmetros do modelo. Para os modelos lineares existe forma analítica de estimação dos parâmetros.

2.1 Modelos lineares

Um modelo de regressão linear é uma ferramenta estatística caracterizada para descrever a variação onde ocorre em uma variável aleatória Y , denominada variável dependente ou resposta, em função de um conjunto de outras variáveis denominadas variáveis independentes ou covariáveis X , mais uma componente aleatória, ε (DRAPER; SMITH, 1998).

Quando o modelo apresenta apenas uma covariável ele é denominado modelo de regressão simples, e quando apresenta duas ou mais variáveis independentes, o modelo é chamado de modelo de regressão múltipla (DRAPER; SMITH, 1998).

Como exemplos de funções lineares nos parâmetros na área de fitopatologia, para analisar as relações entre intensidade da doença e quantificação de perdas, em que os parâmetros são expressos por b_j , com $j = 1, 2, \dots, p$, tem-se: modelos de ponto crítico, múltiplos pontos e integrais sendo os mais usuais e importantes para os fitopatologistas (JAMES; TENG, 1979).

A seguir, estão descritos os três principais modelos estatísticos utilizados para descrever perdas de produtividade ocasionadas por doenças que acometem plantas, e dos três modelos, o modelo integral também é utilizado para descrever a área abaixo da curva do progresso da doença ao longo do tempo (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

2.1.1 Modelos de ponto crítico

O modelo de ponto crítico (PC) é o mais simples dos modelos e talvez por isso mesmo o mais utilizado na fitopatologia. Este modelo relaciona a perda de rendimento à intensidade da do-

ença em um momento específico durante o período de crescimento ou em um estágio específico de crescimento do hospedeiro. Ele pode ser definido como se segue na Equação 3.

$$y_i = b_0 + b_1 x_{i1} + \varepsilon_i \quad (3)$$

Como nenhuma derivada parcial depende de parâmetro, pois, este modelo é classificado como linear.

Em que:

y_i representa os valores da produtividade ou produção de uma única ou várias plantas; variável dependente ou resposta;

x_{i1} valores de intensidade (severidade ou incidência) da doença; variável independente;

b_0 e b_1 parâmetros do modelo;

b_0 intercepto;

b_1 inclinação da reta, ou seja, para cada unidade que se aumentar em x_{i1} espera-se aumento (redução) médio de b_1 em y_i .

O pressuposto do modelo de ponto crítico é que existe um ponto “crítico” da relação patógeno-hospedeiro-tempo, quando a cultura é mais sensível à ocorrência de fatores limitantes a produção (JESUS JUNIOR et al. 2004).

No modelo de ponto crítico, é possível identificar um determinado estágio de desenvolvimento, no qual a intensidade de doença presente está correlacionada com o dano futuro (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996; JESUS JUNIOR et al. 2004). Além do mais este modelo tem sido indicado para epidemias de curta duração, que ocorrem no final do ciclo da cultura (JAMES, 1974).

2.1.2 Modelos de múltiplos pontos

O modelo de múltiplos pontos relaciona a perda de rendimento decorrente a doenças em várias ocasiões durante o ciclo da cultura. Este modelo é mais aplicável do que o modelo de ponto crítico em situações em que o acúmulo de rendimento ocorre durante um período relativamente longo ou a taxa de progresso da doença é altamente variável. A perda de rendimento é então relacionada à intensidade da doença observada em vários momentos de avaliação da incidência ou severidade da doença (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

O modelo de múltiplos pontos pode ser definido como demonstrado na Equação 4.

$$y_i = b_0 + b_1 x_{i1} + b_2 x_{i2} + \dots + b_p x_{ip} + \varepsilon_i \quad (4)$$

Como nenhuma derivada parcial depende de parâmetros, pois $\frac{\partial y_i}{\partial b_0} = 1$, $\frac{\partial y_i}{\partial b_1} = x_{i1}$, ..., $\frac{\partial y_i}{\partial b_p} = x_{ip}$; este modelo é classificado como linear.

Em que:

y_i representa os valores da produtividade; variável dependente ou resposta;
 $x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{ip}$ variável relacionada a doença (incidência, severidade ou taxa de crescimento), em diferentes fases de desenvolvimento da planta;
 b_0, b_1, \dots, b_p parâmetro do modelo.

Esse modelo apresenta melhores resultados que o de ponto crítico quando o patossistema estudado tem alta variabilidade da taxa de infecção, ou na forma da curva de progresso da doença, quando a epidemia ocorre no início do desenvolvimento da cultura e quando esta precisa de longo período para acumular a produção (JAMES, 1974). De maneira geral, este modelo é indicado para epidemias de longa duração. O uso de vários pontos não implica ausência de maior correlação em um ponto específico da interação patógeno-hospedeiro-dano (JESUS JUNIOR et al. 2004).

2.1.3 Modelo integral ou área abaixo da curva do progresso da doença

A estimativa da perda de rendimento foi proposta pela primeira vez por Vanderplank em 1963 (CAMPBELL; MADDEN, 1990). O modelo integral ou área abaixo da curva de progresso da doença foi demonstrado sua viabilidade por Vanderplank para quantificar as perdas de produtividade devido a ferrugem-do-colmo do trigo. O modelo integral relaciona a perda a alguma medida da doença derivada pela soma das intensidades da doença durante um período específico do crescimento ou desenvolvimento da cultura (CAMPBELL; MADDEN, 1990). Na prática, esse modelo se equivale à função de perda, em que a produtividade ou perda é relacionado com a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).

O modelo pode ser descrito na Equação 5, como:

$$y_i = b_0 + b_1(AACPD_i) + \varepsilon_i \quad (5)$$

Pois, $\frac{\partial y_i}{\partial b_0} = 1$ e $\frac{\partial y_i}{\partial b_1} = AACPD_i$;

Em que:

y_i representa os valores de produtividade;

$AACPD_i$ área abaixo da curva de progresso da doença;

b_0 e b_1 parâmetros do modelo.

Esse modelo apresenta características comuns aos modelos de ponto crítico e de múltiplos pontos. Assemelha-se ao ponto crítico por apresentar regressão em função de um único ponto; e ao múltiplo ponto porque AACPD é o somatório dos dados coletados em mais de um ponto da relação patógeno-hospedeiro, conferindo assim ao modelo, maior consistência epidemiológica.

Observa-se que nos três modelos apresentados anteriormente nenhuma derivada parcial contém parâmetros do modelo, assim, são classificados como lineares.

Em contrapartida, considera-se o modelo de regressão como não lineares se pelo menos uma derivada parcial em relação aos parâmetros depende de algum parâmetro do modelo.

Para os modelos não lineares não existe forma analítica de estimação dos parâmetros, sendo necessário, a utilização de algum método numérico para obter as estimativas aproximadas dos parâmetros, sendo o método Gauss-Newton o mais utilizado (SILVA et al., 2019).

2.2 Modelos não lineares

Os modelos não lineares podem ser usados para descrever variáveis físicas e sistemas biológicos. Esses modelos utilizam parâmetros de interpretações práticas, o qual contribui para o uso frequente nas diversas áreas do conhecimento (DRAPER; SMITH, 1998).

Como exemplos de funções não lineares nos parâmetros na área da fitopatologia, os modelos empregados para descrever as curvas de progresso da doença ao longo do tempo, têm-se usado principalmente os modelos empíricos, dentre os quais: Exponencial, Logístico, Gompertz e Monomolecular.

2.2.1 Modelo exponencial

O modelo exponencial é um dos mais simples e comumente usado para modelagem de dados onde apresentam um comportamento exponencial de crescimento ou de decaimento. Uma vantagem desse modelo é a variabilidade na forma da curva que relaciona o rendimento da cultura ao descrever a doença (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

O modelo é expresso, de acordo com a Equação 6, por:

$$y_i = y_0 \exp(r_e t_i) + \varepsilon_i \quad (6)$$

Como $\frac{\partial y_i}{\partial y_0} = \exp(r_e t_i)$ (depende do parâmetro r_e) e $\frac{\partial y_i}{\partial r_e} = y_0 t_i \exp(r_e t_i)$ (depende dos parâmetros y_0 e r_e) e como pelo menos uma derivada parcial depende de parâmetro este modelo é classificado como não linear.

Em que:

y_i intensidade da doença no tempo t_i ;

y_0 quantidade de inóculo inicial da doença;

r_e taxa de progresso da doença.

A função exponencial serve para modelar fenômenos onde as taxas de crescimento ou decréscimo das variáveis de estado positivas são funções das próprias variáveis. As funções de crescimento ou decréscimo são modelos advindos da proposição formulada onde consiste a variação de y é proporcional a y , isto é, a variação de uma grandeza é proporcional a si mesma no decorrer do tempo (BASSANEZI, 2015).

2.2.2 Modelo logístico

O modelo logístico é um dos mais importantes e mais comumente empregados para a análise do progresso de doenças. Na Equação 7, o modelo é expresso por:

$$y_i = \frac{1}{1 + \exp(k(B - t_i))} + \varepsilon_i \quad (7)$$

Em que:

y_i intensidade da doença no tempo t_i ;

B abscissa do ponto de inflexão;

k progresso relativo no ponto de inflexão.

Os modelos não lineares são muito utilizados por em geral fornecer bons ajustes, além dos parâmetros fornecerem interpretação biológica. Segundo Fernandes et al. (2015) existem parametrizações dos modelos que não fornecem interpretação biológica e o modelo acaba perdendo essa vantagem, como por exemplo a parametrização do modelo Logístico apresentada abaixo por meio da Equação 8:

$$y_i = \frac{1}{1 + \exp(k(B - t_i))} = \frac{1}{1 + \exp(kB)\exp(-kt_i)} \quad (8)$$

Denominando $\exp(kB)$ por b tem-se a parametrização, sendo observado na Equação 9:

$$y_i = \frac{1}{1 + b\exp(-kt_i)} + \varepsilon_i \quad (9)$$

Em que, b não tem interpretação prática direta, mesmo os valores estimados pelos modelos sendo os mesmos.

De acordo com Sari et al. (2018) e Jane et al. (2020) as inferências feitas pelos modelos não lineares podem ser aumentadas por meio do estudo das derivadas do modelo. Considerando-se o modelo logístico $y_i = \frac{1}{1 + \exp(k(B - t_i))}$, por meio da primeira derivada $\frac{dy}{dt}$ é obtido a taxa de intensidade da doença, como pode ser observado nas figuras 1 e 2.

Por meio da segunda derivada é obtida a aceleração da intensidade e igualando-se a zero é obtido o ponto de inflexão (PI) do modelo (Figuras 1 e 2): $\frac{d^2y}{dt^2} = 0 \rightarrow x = B$.

Obtendo-se a terceira derivada e igualando-a a zero é obtido os pontos de máxima aceleração (PMA) e de mínima desaceleração (PMD) do modelo (Figuras 1 e 2): $\frac{d^3y}{dt^3} = 0 \rightarrow PMA: x = \frac{Bk - \ln(\sqrt{3}+2)}{k}$ e $PMD: x = \frac{Bk - \ln(-\sqrt{3}+2)}{k}$.

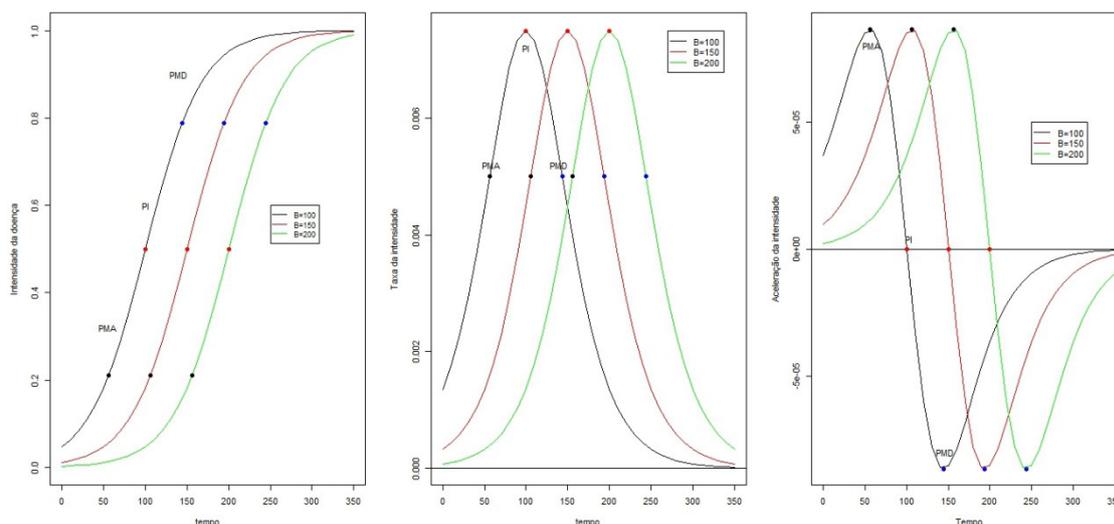
Segundo Sari et al. (2018), no modelo Logístico $y(\text{PMA}) = 0,211$ ou 21,1% de intensidade da doença, $y(\text{PI}) = 0,500$ ou 50,0% de intensidade da doença e $y(\text{PMD}) = 0,788$ ou 78,8% de intensidade da doença, assim entre PMD e o PMA tem-se $0,788 - 0,211 = 0,577$ ou 57,7% de intensidade da doença.

Para ilustrar as inferências feitas por meio das derivadas, na Tabela 1 estão apresentados os valores dos pontos críticos do modelo Logístico considerando-se $k = 0,03$ e variando os valores do parâmetro B. Observa-se na Tabela 1 e na Figura 1 que como o parâmetro B representa a abscissa do ponto de inflexão do modelo este parâmetro está relacionado com a precocidade da intensidade da doença e não alterou a amplitude dos pontos (PMD-PMA) que foi de 87 dias para se ter 57,7% de intensidade da doença.

Tabela 1: Estimativas dos valores dos pontos de máxima aceleração (PMA), ponto de inflexão (PI) e ponto de mínima desaceleração (PMD) do modelo logístico, considerando-se $k = 0,03$ e diferentes valores de B.

	$PMA = \frac{Bk - \ln(\sqrt{3} + 2)}{k}$	PI=B	$PMD = \frac{Bk - \ln(-\sqrt{3} + 2)}{k}$	(PMD-PMA)
$B = 100$	56	100	143	87
$B = 150$	106	150	193	87
$B = 200$	156	200	243	87

Figura 1: Intensidade, taxa e aceleração da doença em função da idade, usando o modelo Logístico, com diferentes valores do parâmetro B.



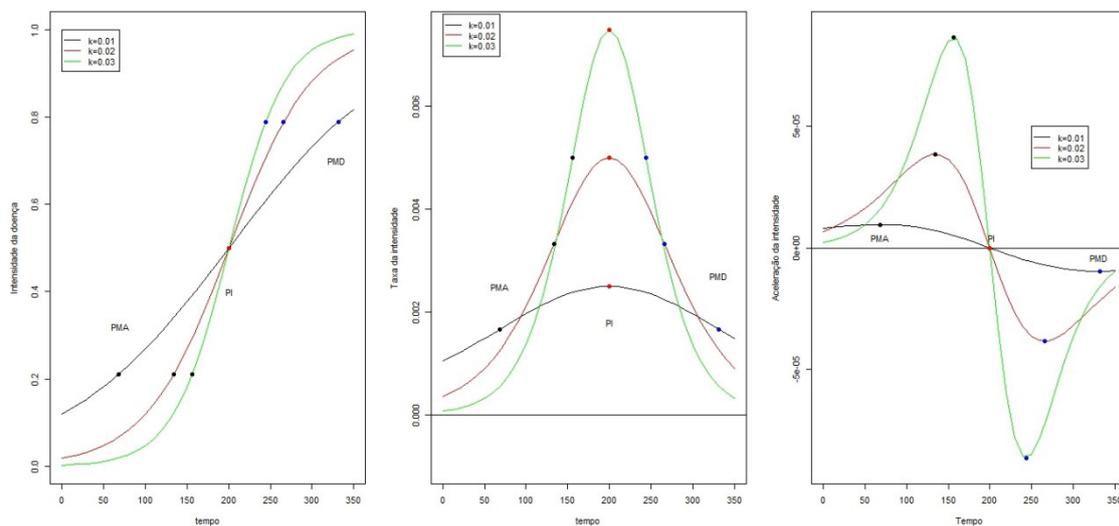
Na Tabela 2 estão apresentados os valores dos pontos críticos do modelo Logístico considerando-se $B = 200$ e variando os valores do parâmetro k . Observa-se pela Figura 2 que mudanças no parâmetro k alteram a forma da curva. Valores maiores de k concentram o progresso da doença em torno do ponto de inflexão, aumentando a taxa máxima de progresso, com progresso inicial e final mais lento. Apesar do ponto de inflexão das curvas serem aos 200 dias (Tabela 2), com $k = 0,01$ a amplitude dos pontos PMD e PMA, que corresponde a 57,7% do progresso da

doença foi de 263 dias, com $k = 0,02$ foi de 131 dias e com $k = 0,03$ de apenas 87 dias. Valores menores de k fazem com que o progresso da doença seja mais distribuído ao longo do tempo.

Tabela 2: Estimativas dos valores dos pontos de máxima aceleração (PMA), ponto de inflexão (PI) e ponto de mínima desaceleração (PMD) do modelo logístico, considerando-se $B = 200$ e diferentes valores de k .

	$PMA = \frac{Bk - \ln(\sqrt{3} + 2)}{k}$	PI=B	$PMD = \frac{Bk - \ln(-\sqrt{3} + 2)}{k}$	(PMD-PMA)
$k = 0,01$	68	200	331	263
$k = 0,02$	134	200	265	131
$k = 0,03$	156	200	243	87

Figura 2: Intensidade, taxa e aceleração da doença em função da idade, usando o modelo Logístico, com diferentes valores do parâmetro k .



2.2.3 Modelo gompertz

Descrito para estimar o crescimento de animais por Gompertz, em 1825 (JESUS JUNIOR et al. 2004). No entanto, somente em 1973, Analytis foi o primeiro a observar a importância do modelo e posteriormente, Berger (1981) ao descrever 113 epidemias de doenças de plantas em 9 patossistemas foliares observou um melhor ajuste do modelo. O modelo é expresso de acordo com a Equação 10, como:

$$y_i = \exp(\ln(y_0)\exp(-kt_i)) + \varepsilon_i \tag{10}$$

Em que:

y_i intensidade da doença no tempo t_i ;

y_0 inóculo inicial da doença;

k progresso relativo no ponto de inflexão.

Outra parametrização do modelo Gompertz muito utilizada é apresentada abaixo na Equação 11, como:

$$y_i = \exp\left(-\exp(k(B - t_i))\right) + \varepsilon_i \quad (11)$$

Em que:

B é a abscissa do ponto de inflexão.

No modelo Gompertz $y(B) = 0,368$ ou 36,8% do progresso da doença (FIALHO, 1999).

2.2.4 Modelo monomolecular

Este modelo é baseado nas reações químicas de primeira ordem (CAMPBELL; MADDEN, 1990). A velocidade de progresso, ou aumento da epidemia, expressa pela diferencial, é proporcional ao inóculo inicial (y_0) e a taxa de progresso (k), constante. O modelo é expresso na Equação 12, como:

$$y_i = 1 - (1 - y_0)\exp(-kt_i) + \varepsilon_i \quad (12)$$

Em que:

y_i intensidade da doença no tempo t_i ;

y_0 inóculo inicial da doença;

k progresso relativo no ponto de inflexão.

O estudo das derivadas pode ser feito para os modelos Gompertz e Monomolecular.

Referências

AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Fenologia, patometria e quantificação de danos. In.: **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 5ª edição. v.1. Ed.: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. 5ª Edição -- Ouro Fino – MG: Agronômica Ceres, 2018. 573p.

ANALYTIS, S. Zur Methodik der Analyse von epidemien dargestellt am apfelschorf (*Venturia inaequalis* (Cooke) Aderh.). **Acta Phytomedica**, v. 1, p. 1-76, 1973.

BASSANEZI, R. C. **Modelagem matemática**: teoria e prática. São Paulo: contexto, 2015.

BENDER, E. A. **An introduction to mathematical modeling**. Wiley, New York. Sity Press, Cambridge, UK. 1978.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais**: epidemiologia e controle econômico. São Paulo: Agronômica Ceres, 299p. 1996.

- BERGER, R. D. Comparison of the Gompertz and Logistic equations to describe plant disease progress. **Phytopathology**, v. 71, p. 716-719, 1981.
- CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. Crop loss assessment and modeling. In.: CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley & Sons, p. 393-422, 1990.
- DRAPER, N. R.; SMITH, H. **Applied regression analysis**. 3 ed., reprint. New York: J. Wiley, 2014. 706 p.
- FERNANDES, T. J.; MUNIZ, J. A.; PEREIRA, A. A.; MUNIZ, F. R.; MUIANGA, C. A. Parameterization effects in nonlinear models to describe growth curves. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 37, n. 4, p. 397-402, 2015.
- FIALHO, F. B. **Interpretação da curva de crescimento de Gompertz [Comunicado Técnico 237]**. Concórdia: Embrapa-CNPISA, 1999.
- HOFFMANN, R.; VIEIRA, S. **Análise de regressão: uma introdução à econometria**. 3ª edição. São Paulo: Hicitec, 1998, 379p.
- JAMES, W. C. Assessment of plant disease and losses. **Annual Review of Phytopathology**, v.12, p. 27-48, 1974.
- JAMES, W. C.; TENG, P. S. The quantification of production constraints associated with plant diseases. In: COAKEY, T.H. (ed.). **Applied biology**, New York: Academic Press, v.4. 1979.
- JANE, S. A.; FERNANDES, F. A.; SILVA, E. M.; MUNIZ, J. A.; FERNANDES, T. J.; PIMENTEL, G. V. Adjustment of growth curve of different sugarcane varieties using nonlinear models. **Ciência Rural**, p. (no prelo), 2020.
- JESUS JÚNIOR, W. C.; VALE, F. X. R.; BERGAMIN FILHO, A. Quantificação de danos e perdas. In: VALE, F. X. R.; JESUS JÚNIOR, W. C.; ZAMBOLIM, L. **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte, MG: Perfil, p. 271-297, 2004.
- SARI, B. G.; OLIVOTO, T.; DIEL, M. I.; KRYSCZUN, D. K.; LÚCIO, A. D. C.; SAVIAN, T. V. Nonlinear modeling for analyzing data from multiple harvest crops. **Agronomy Journal**, v. 110, p. 2331-2342, 2018.
- SILVA, E. M.; FRUHAUF, A. C.; FERNANDES, F. A.; PAULA, G. S.; MUNIZ, J. A.; FERNANDES, T. J. Método de Newton e Gauss-Newton na estimação dos parâmetros de modelo de regressão não linear. **Sigmae**, v. 8, n. 2, p. 728-734, 2019.

CAPÍTULO 9 - CONTRIBUTION OF PROTEOMICS TO PHYTOPATHOLOGY

Sarah da Silva Costa Guimarães¹

Gláucia Mara Moreira²

1 What is Proteomics?

The word “proteome” is a combination of PROtein and genOME and was coined by Marc Wilkins in 1996 (Wilkins et al. 1996). Proteomics is the identification and characterization of global proteins in a biological system including the protein spatial distribution and temporal dynamics since the set of proteins change in response to environmental stimuli (Hixson et al. 2017). The proteomic provides a comprehensive insight into the protein profile of a cell, a tissue or an organism. Proteins are macromolecules composed of linear chains of 20 different types of amino acids, which are assembled according to templates of DNA and RNAs, and their sequences determine their structure and therefore their cellular functions (Kung-Hao 2013). When the cell requires a specific protein, the DNA is copied to RNA in a process called transcription. This RNA serves as a template in the translation process, where three consecutive ribonucleotide bases (codon) in the RNA correspond to amino acid residues that will produce a polypeptide. Thus, the gene expression may be regulated at the translation level and many post-translational modifications, proteolysis and compartmentalization can occur. Therefore, proteomic bridges the gap between genome sequencing and cellular behavior (Fernández-Acero et al. 2007).

2 Proteomics Studies

2.1 Structural proteomics

It compares protein structures in order to characterize their three-dimensional structure and protein complexes. From three-dimensional structures determined, the bioinformatics and proteomics-driven strategies can be employed to derive their biological activities and physiological roles. Methods used in structural proteomics: X-ray crystallography and NMR spectroscopy (Manjasetty et al. 2012).

2.2 Functional proteomics

It characterizes functional protein networks and their dynamic alteration during physiological and pathological processes. It also explains the way proteins assemble in bigger complexes. The proteins are identified, sequenced, categorized and classified (Manjasetty et al. 2012).

¹ Doutora em Agronomia/Fitopatologia, Bolsista CAPES e Pós-Doutoranda no Laboratório de Bacteriologia de Plantas, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras MG. sarahscosta80@gmail.com.

² Doutorado em Microbiologia Agrícola, Laboratório de Micologia, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras MG. moreira.glaucia@gmail.com.

Technologies particularly useful in interaction proteomics are affinity purification, mass spectrometry and yeast two-hybrid system.

2.3 Expression proteomics

It includes the analysis of protein expression at larger scale. It consists of the qualitative and quantitative comparison of differentially expressed proteins (over expressed and under expressed) in related samples under different conditions, such as diseased vs. healthy plant, which aims to further characterize biological processes and functional protein networks (Chandrasekhar et al. 2014). Techniques used to study of expression proteomics are 1D- and 2D-SDS PAGE, MALDI-TOF, liquid chromatography, MS-MS and protein microarray.

3 Experimental Designs

In general, two approaches are used in proteomics: bottom-up and top-down (Ball et al. 2019). The most used, bottom-up, is composed of a process in which proteins are hydrolyzed by peptidases and then analyzed by chromatography coupled to the mass spectrometer. The top-down approach does not use the previous digestion of proteins to be analyzed by mass spectrometry (MS).

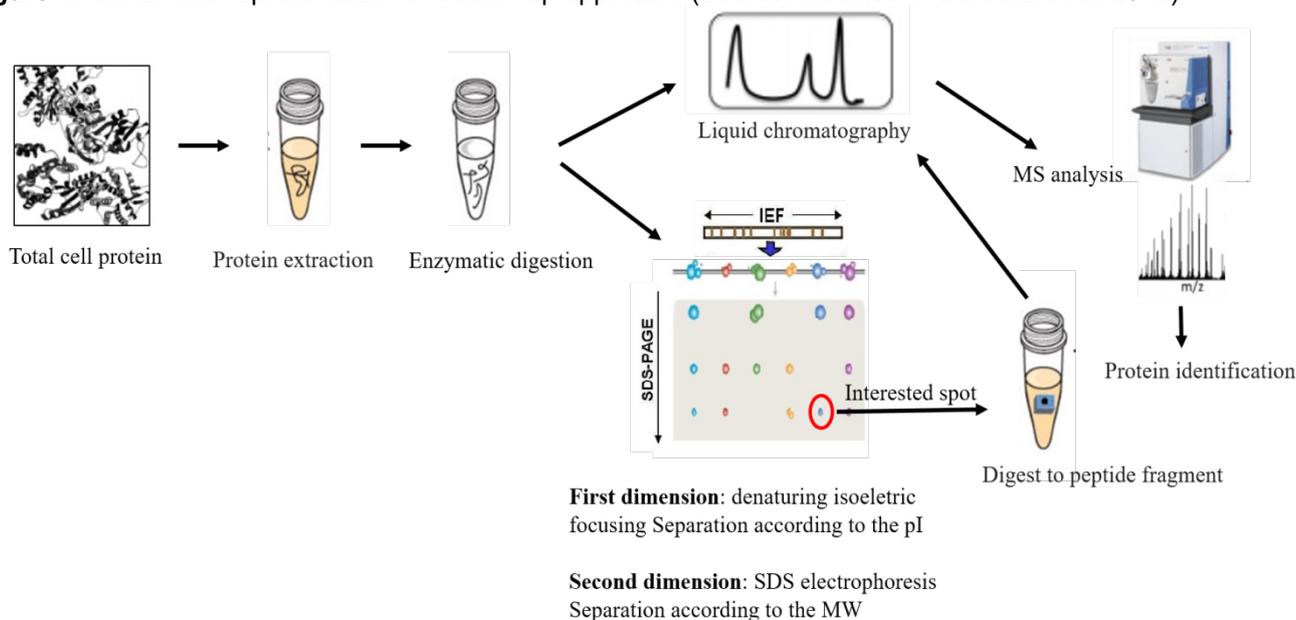
Steps of the typical bottom-up approach (Figure 1):

- (i) Protein extraction - The extraction procedure requires individual optimization based on the variety of types and sources of biological samples.
- (ii) Elimination of tertiary structure - Reduction of disulfide bridges between cysteine residues using dithiothreitol, then alkylate the sulfur, usually using iodoacetamide.
- (iii) Enzymatic digestion - From samples usually in the liquid phase with a complex protein mixture, the proteins are fragmented by using the trypsin.
- (iv) Protein fragment separation - The fragmented proteins are separated using two-dimensional gel electrophoresis (2-DE) and/or liquid chromatography (LC).

In 2-DE the first dimension of separation is based on isoelectric point (pI) of proteins, where the sample is placed on a narrow gel strip composed of acrylamide with covalently linked ampholytes, which aid in maintaining a pH gradient under an electric field. The protein migrates along the gel until its pI displays a net zero charge. In the second dimension, the strip is exposed to sodium dodecyl sulfate (SDS) and other denaturants to open up and coat the proteins with a net negative charge that is proportional to the protein's size. The pI strip is then placed on a SDS-polyacrylamide gel where another electric field is applied, forcing the negatively charged proteins to migrate through the gel, separating them based on molecular mass. Then, the proteins are visualized on the gel surface using staining methods, and indexed by their coordinates. The protein of interest are then digested and excised from the gel for further MS analysis (Kung-Hao 2013; Chandrasekhar et al. 2014; Hixson et al. 2017).

In LC, the separation of proteins and peptides by liquid chromatography is based on departmental and/or stationary phase adsorption phenomena, which is dependent on the size of the analyte polypeptide chain. The columns most commonly used for peptide separation have nonpolar stationary phase (octadecylsilane-C18), thus allowing more nonpolar compounds to be retained in the column for a longer time (Lodha et al. 2013). After the proteins are separated, they can be analyzed by MS.

Figure 1: Schematic representation of bottom-up approach. (Source: Modified of Barbosa et al. 2012).



(v) Mass spectrometry (MS) analysis

Mass spectrometry is an analytical technique that produces spectra of the masses of the atoms to determine the elemental or isotopic signature of a sample (Quirino et al. 2010). Molecules, such as peptides and other chemical compounds, are converted into charged particles (ions) in gas phase, separated in mass spectrometer according to their mass-to-charge ratio (m/z) and recorded by a detector producing a mass spectra to elucidate their chemical structures. Ionization of molecules is obtained through techniques such as electrospray (ESI) or matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) (Quirino et al. 2010). There are a variety of analyzers to evaluate the molecular mass of the ions, such as time-of-flight (TOF), quadrupole, sectors, ion trap and hybrids systems, where two independent mass spectrometers are used consecutively (Hixson et al. 2017). There are many MS techniques; herein MALDI-TOF and Tandem mass (MS-MS) spectrometry techniques will be emphasized.

Matrix-assisted laser desorption ionization time-of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)

Analytical method based on the fast and precise assessment of the mass of molecules in a variable range of 100 Da to 100 KDa. In this method, biomolecules are ionized and vaporized without degradation (MALDI) by crystallizing the sample with a matrix, which is submitted to laser pulses leading to absorption of the laser energy by the matrix and subsequent desorption and ionization of analytes in the sample. The components of the sample are accelerated through a

vacuum flight tube (TOF) reaching in the detector in different times according to their m/z ratio. The result is a spectral signature (peak representation) which is then compared with database for the protein identification (El-Aneed et al. 2009; Chandrasekhar et al. 2014).

Tandem mass spectrometry (MS-MS)

Technique in instrumental analysis where two or more mass spectrometers are coupled together using an additional reaction step to increase their abilities to analyze chemical samples. MS1: the molecules of a sample are ionized and the first spectrometer separates these ions by their mass-to-charge ratio. Ions of a particular m/z -ratio coming from MS1 are selected and then made to split into smaller ions fragment. MS2: selected ions are further fragmented and introduced into the second mass spectrometer which separates the fragments by their m/z -ratio and detects them. The fragmentation step makes possible to identify and separate ions that have very similar m/z -ratios in regular mass spectrometers. MS-MS can be used in *de novo* peptide sequencing (Quirino et al. 2010).

Example of programs used to identify proteins

- Programs that operate with MALDI-TOF:
PeptIdent (<https://omictools.com/peptident-tool>)
Multident (<https://web.expasy.org/multiident/>)
- Programs that operate with MALDI-TOF or MS-MS spectra or combination of both:
MASCOT (www.matrixscience.com)
MS-Fit (<http://prospector.ucsf.edu/prospector/cgi-bin/msform.cgi?form=msfitstandard>)
- Program that operate with MS-MS spectra only:
SEQUEST (<http://proteomicswiki.com/wiki/index.php/SEQUEST>)
Comet (<http://comet-ms.sourceforge.net/>)

Database searching for proteins identification

Name	Web links
GenBank	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein
UniProt	https://www.uniprot.org/
PIR	http://pir.georgetown.edu/

Quantitative proteomics

The use of proteomics is not only aimed to identify the protein (descriptive proteomics) but also quantify them under different spatio-temporal parameters and environmental conditions (Ankney et al. 2018). The quantitative proteomics is a powerful tool for getting insights into the function, dynamics and accurate measurement of biological systems, for example of molecular changes in disease-associated processes and pathways, which is critical to better understand the pathogenesis and to discover new biomarkers for diagnosis and treatment (Ankney et al. 2018). The MS is not inherently quantitative, however, strategies have been developed to assist it for protein quantitation. More information about different methods for both relative and absolute quantitation in MS, such as ICAT (isotope-coded affinity tag), iTRAQ (isobaric tag for relative and absolute quantitation), TMT (tandem mass tag), AACT (amino acid-coded mass tagging), LFQ

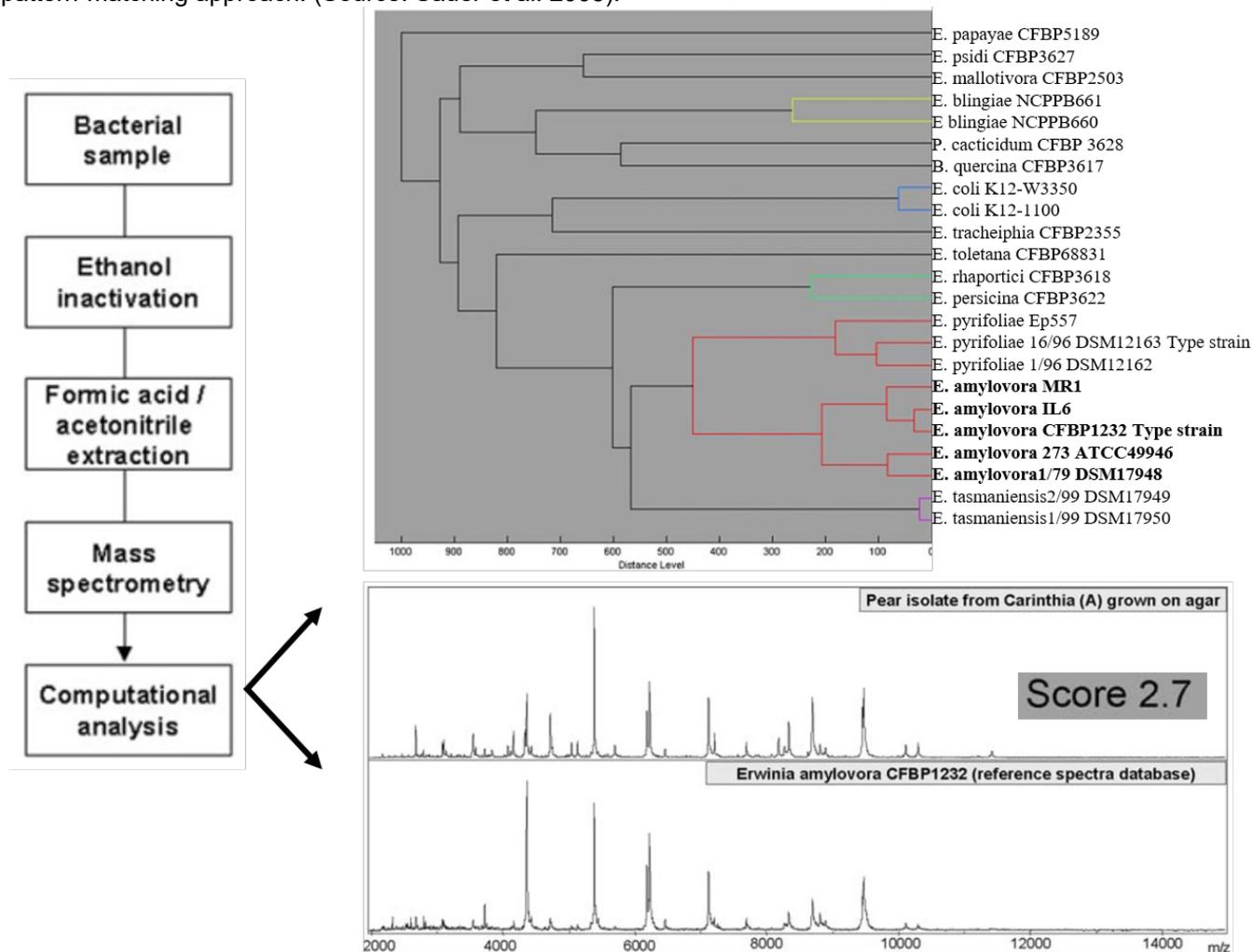
(label-free), can be found on Lodha et al. (2013), Chandrasekhar et al. (2014) and Ankney et al. (2018).

4 Proteomics: Applications in Phytopathology

4.1 Identification and detection of pathogens

Precise identification of pathogens is essential for understanding plant diseases and effectively controlling them (Santos et al. 2012). Employing MALDI-TOF MS it is possible to analyze expressed proteins which are highly abundant inside the cells of microorganisms under standard conditions providing rapid and discriminatory molecular fingerprints for identification. The procedure is rapid where whole cells from microorganisms cultured on plates are picked for the analysis (Mulet et al. 2012). In addition, this technique is useful to detect the presence of phytopathogens in plants (Santos et al. 2012). Specific proteins are not identified, but the protein profile (spectrum), in other words, profiles of the peaks obtained for each species within a mass range from 3,000 to 20,000 Da represents a unique fingerprint for each one. The isolate can be identified by percentage similarities of identical mass peaks calculated to generate a dendrogram, using an average-linkage method (UPGMA hierarchical clustering) and Pearson's distance correlation. The protein profile of an unknown isolate may be analyzed and compared to the most similar profiles in a dedicated database (library) of known organism profiles (García-Valdés & Lalucat 2016). An example is the identification of *Erwinia amylovora*, which causes the devastating fire blight disease of rosaceous plants, such as apple and pear trees, demonstrated by Sauer et al. (2008) (Figure 2).

Figure 2: Identification of *Erwinia amylovora* from diseased pears. (Left) General scheme of the procedure: bacterial colonies are subjected to chemical treatment, MALDI TOF MS analysis and mass spectra are analyzed in software. (Right) Identification software: (Top) based on the protein mass patterns, bacterial strains can be clustered hierarchically; (Bottom) typical mass spectrum of a bacterial sample taken from necrotic wood compared with a matching spectrum from the reference library. Log scores over 2 were considered reliable for type strain identification using the pattern-matching approach. (Source: Sauer et al. 2008).



4.2 Plant-pathogen interaction

Studies have shown that proteomic approaches have become important for identifying pathogenicity and virulence factors. Also, they can determine the proteins involved in the formation of infective structures and in the significant interactions taking place between plant and pathogen during the infection process. In this process, there is a considerable number of genes, which encode proteins, metabolites and toxins (Fernández-Acero et al. 2007). The pioneering work using a proteomic approach was carried out in order to understand tomato-*Cladosporium fulvum* interactions (Schottens-Toma & de Wit 1988). It was found the first avirulence gene product (Avr9), which was obtained after the purification of apoplastic fluids from susceptible plants by preparative polyacrylamide gel electrophoresis, followed by reverse-phase high-performance liquid chromatography, and sequencing by Edman N-terminal degradation (Schottens-Toma & de Wit 1988). Following this work, many other proteomic researches have conducted done to understand plant-pathogen interactions.

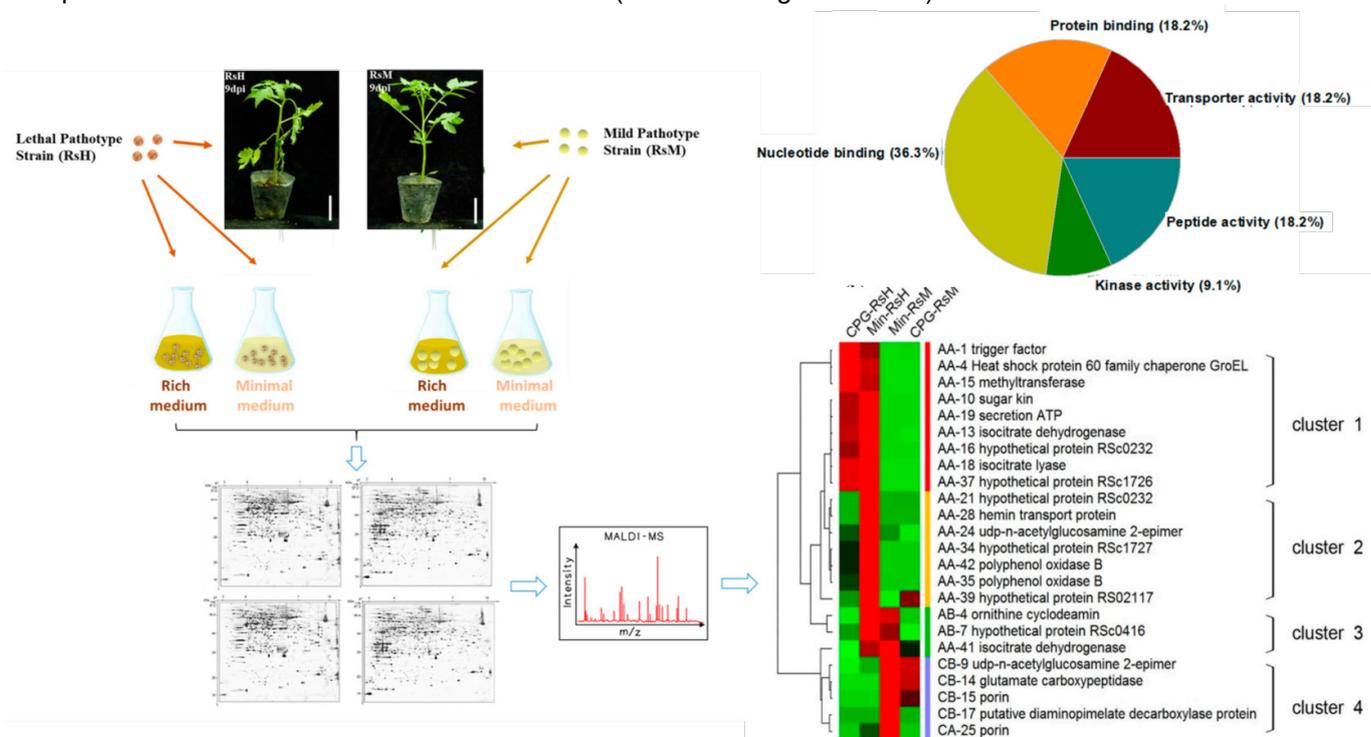
Fusarium wilt is one of the most prevalent and damaging diseases of tomato, which is caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Among various toxins secreted by this pathogen, fusaric acid (FA) was suspected to be a potent pathogenicity factor in tomato wilt disease development (Singh et al. 2014). Singh et al. (2017) assessed the changes in the proteome profile of tomato leaf tissue using 2-DE and MALDI-TOF MS analysis, after FA treatment to the plant directly through infiltration. Differential expression revealed that several unique proteins were detected upon fusaric acid treatment. Thus, it was concluded that fusaric acid plays an important role in inducing the downstream signaling mechanisms which ultimately triggers fungal pathogenicity.

Another research was carried out with *Ralstonia solanacearum*, a soil-borne bacteria which infects the plant xylem and causes the devastating bacterial wilt disease in a gamma of plant species. Wang et al. (2018) identified differentially abundant proteins under different growth conditions of two *R. solanacearum* strains, RsH (pathogenic, highly aggressive strain) and RsM (mildly aggressive strain), obtained from *Solanum lycopersicum* Hawaii 7996 cultivar, both belonged to phylotype I. The strains were inoculated in the CPZ medium, selected as a neutral baseline, for comparison to the minimal medium, with limited nutritional value, to mimic the plant environment. Comparative proteomics was performed using 2-DE and MALDI-TOF MS-MS. In total, 24 differential proteins were identified, with four clusters in terms of protein abundance (Figure 3, right, bottom) and five functional groups (Figure 3, right, top). RsH showed increased abundance of UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase (epsC) and isocitrate lyase (ICL), whereas RsM harbored enhanced levels of membrane proteins. Thus, the differences in pathogenicity between RsM and RsH can possibly be partially explained by differences in extracellular polysaccharide (EPS) and glyoxylate metabolism-related proteins, that help to elucidate the pathogenicity or virulence factors of *R. solanacearum*.

4.3 Biocontrol agents-pathogen interaction

The use of biocontrol agents (BCAs) have been considered to be one of the most promising methods for more rational and safe crop management practices (Baysal et al. 2013). These BCAs are capable to produce antagonistic peptide antibiotics, besides other compounds that play a role as 'immuno-stimulators' by reinforcing the plant resistance (Baysal et al. 2013). Study of proteome can improve the selection, characterization and management of BCAs help in the investigations of the molecular mechanisms by which they colonize and protect plants against phytopathogens (Chinnasamy 2005). Tseng et al. (2008) performed an *in vivo* interaction between the antagonist *Trichoderma harzianum* ETS 323 and *Rhizoctonia solani* to elucidate the entire range of proteins that are secreted by the biocontrol agent during this contact. A total of 35 differential proteins among the 43 excised spots on the 2-DE gel were analyzed by LC-MS/MS. Eight proteins were identified as two glycoside hydrolases, two proteases, two glucosidases, one endochitinase and one amino acid oxidase. These proteins participate in the biocontrol of *T. harzianum* ETS 323 in response to *R. solani*, promoting enveloped and disintegrated of the cell walls of pathogens.

Figure 3: Proteomic analysis to identify proteins differentially expressed by two strains (RsM and RsH) of *Ralstonia solanacearum*. Experimental design (Left); Functional classification of the differentially abundant proteins in terms of protein molecular functions (Right and top); Abundance patterns of the differential proteins in RsM and RsH in CPZ and minimal medium (Min) (Right and bottom). Cluster 1: represents strain RsH being more abundant compared to RsM in both CPZ and Min media; Cluster 2: represents differential abundance of proteins only in RsH-Min, compared with those in RsM-Min, RsM-CPZ and RsH-CPZ; Cluster 3: represents the abundant proteins in RsM-Min and RsH-Min, compared with those in RsM-CPZ and RsH-CPZ; Cluster 4: represents strain RsM exhibiting more abundance compared with RsH in both CPZ and Min medium. (Source: Wang et al. 2018).



5 Concluding Remarks

Proteomic studies have various applications in phytopathology as discovering proteins expressed during the invasion and colonization of plants by phytopathogens, including pathogenicity and virulence factors, and modes of action of those proteins (Fernández Acero et al. 2011; Ball et al. 2019). One of the most interesting applications of the proteomics is its use in discovering candidate target proteins for drug design and for enhancing host defense mechanisms (Fernández Acero et al. 2011; Ball et al. 2019). Therefore, the uses of proteomics may help in the search of key proteins, which may open new ways for crop disease diagnosis and protection and in the development of agrochemicals (Gonzalez-Fernandez & Jorrin-Novo 2011).

Literature Cited

ANKNEY, J. A., MUNEER, A., CHEN, X. Relative and absolute quantitation in mass spectrometry-based proteomics. **Annual Review of Analytical Chemistry**, 11, 49–77. 2018. doi: 10.1146/annurev-anchem-061516-045357.

BALL, B., BERMAS, A., CARRUTHERS-LAY, D., GEDDES-MCALISTER, J. Mass spectrometry-based proteomics of fungal pathogenesis, host-fungal interactions, and antifungal development. **Journal of Fungi**, 5, 52. 2019. doi: 10.3390/jof5020052.

BARBOSA, E. B., VIDOTTO, A., POLACHINI, G. M., HENRIQUE, T., TROVÓ DE MARQUI, A. B., TAJARA, E. H. (2012). Proteômica: metodologias e aplicações no estudo de doenças humanas. **Revista da Associação Médica Brasileira**, 58, 366–375. 2012. doi: 10.1590/s0104-42302012000300019.

BAYSAL, Ö., LAI, D., XU, H.-H., SIRAGUSA, M., ÇALIŞKAN, M., CARIMI, F., TÖR, M. A proteomic approach provides new insights into the control of soil-borne plant pathogens by *Bacillus* species. **PLoS ONE**, 8, 2013. e53182. doi: 10.1371/journal.pone.0053182.

CHANDRASEKHAR, K., DILEEP, A., ESTER LEBONAH, D., PRAMODA KUMARI, J. A short review on proteomics and its applications. **International Letters of Natural Sciences**, 17, 77–84. 2014. doi:10.18052/www.scipress.com/ILNS.17.77.

CHINNASAMY, G. A proteomics perspective on biocontrol and plant defense mechanism. *In*: Siddiqui, Z. A. (ed.). **PGPR: biocontrol and biofertilization**, pp. 233–255. 2005. Springer. doi: 10.1007/1-4020-4152-7_9.

EL-ANEED, A., COHEN, A., BANOUB, J. Mass spectrometry, review of the basics: electrospray, MALDI, and commonly used mass analyzers. **Applied Spectroscopy Reviews**, 44, 210–230. 2009. doi: 10.1080/05704920902717872.

FERNANDEZ-ACERO, F., CARBU, M., GARRIDO, C., VALLEJO, I., CANTORAL, J. Proteomic advances in phytopathogenic fungi. **Current Proteomics**, 4, 79–88. 2007. doi: 10.2174/157016407782194620.

FERNÁNDEZ ACERO, F. J., CARBÚ, M., EL-AKHAL, M. R., GARRIDO, C., GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, V. E., CANTORAL, J. M. Development of proteomics-based fungicides: new strategies for environmentally friendly control of fungal plant diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, 12, 795–816. 2011. doi: 10.3390/ijms12010795.

GARCÍA-VALDÉS, E., LALUCAT, J. *Pseudomonas*: molecular phylogeny and current taxonomy. *In*: Kahlon R. (ed.). **Pseudomonas: Molecular and Applied Biology**, Springer, Cham, pp. 1–23. 2016. doi: 10.1007/978-3-319-31198-2_1.

GONZALEZ-FERNANDEZ, R., JORRIN-NOVO, J. V. Contribution of proteomics to the study of plant pathogenic fungi. **Journal of Proteome Research**, 11, 3–16. 2011. doi: 10.1021/pr200873p.

HIXSON, K. K., LOPEZ-FERRER, D., ROBINSON, E. W., PAŠA-TOLIĆ, L. Proteomics. *In*: Lindon, J. C., Tranter, G. E., Koppenaal, D. W. (eds.). **The encyclopedia of spectroscopy and spectrometry**, 3rd edition, pp. 766–773. 2017. doi: 10.1016/b978-0-12-803224-4.00061-3.

KUNG-HAO L. Proteomics. *In*: Kung-Hao L. (ed.). **Bioinformatics for Biomedical Science and Clinical Applications**, Woodhead Publishing Series in Biomedicine, pp. 83–106. 2013. doi: 10.1533/9781908818232.83.

LODHA, T., HEMBRAM, P., BASAK, N. Proteomics: a successful approach to understand the molecular mechanism of plant-pathogen interaction. **American Journal of Plant Sciences**, 4, 1212–1226. 2013. doi: 10.4236/ajps.2013.46149.

MANJASETTY, B. A., BÜSSOW, K., PANJIKAR, S., TURNBULL, A. P. Current methods in structural proteomics and its applications in biological sciences. **3 Biotech**, 2, 89–113. 2012. doi:10.1007/s13205-011-0037-1.

MULET, M., GOMILA, M., SCOTTA, C., SANCHEZ, D., LALUCAT, J., GARCÍA-VALDE´S, E. Concordance between whole-cell matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and multilocus sequence analysis approaches in species discrimination within the genus *Pseudomonas*. **Systematic and Applied Microbiology**, 35, 455–464. 2012. doi: 10.1016/j.syapm.2012.08.007.

QUIRINO, B. F., CANDIDO, E. S., CAMPOS, P. F., FRANCO, O. L., KRÜGER, R. H. Proteomic approaches to study plant-pathogen interactions. **Phytochemistry**, 71, 351–362. 2010. doi: 10.1016/j.phytochem.2009.11.005.

SANTOS, C., VENTURA, J. A., PEREIRA, L., LIMA, N. A utilização da técnica de MALDI-TOF MS na identificação de fitopatógenos e no diagnóstico de doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, 20, 387–400. 2012.

SAUER S., FREIWALD A., MAIER T., KUBE M., REINHARDT R., KOSTRZEWA, M., GEIDER, K. Classification and identification of bacteria by mass spectrometry and computational analysis. **PLoS ONE** 3, e2843. 2008. doi: 10.1371/journal.pone.0002843.

SINGH, V. K., UPADHYAY, R. S. Fusaric acid induced cell death and changes in oxidative metabolism of *Solanum lycopersicum* L. **Botanical Studies**, 55, 66. 2014. doi: 10.1186/s40529-014-0066-2.

SINGH, V. K., SINGH, H. B., UPADHYAY, R. S. Role of fusaric acid in the development of “Fusarium wilt” symptoms in tomato: physiological, biochemical and proteomic perspectives. **Plant Physiology and Biochemistry**, 118, 320–332. 2017. doi: 10.1016/j.plaphy.2017.06.028.

SCHOTTENS-TOMA, I. M. J., DE WIT, P. J. G. M. Purification and primary structure of a necrosis-inducing peptide from the apoplastic fluids of tomato infected with *Cladosporium fulvum* (syn. *Fulvia fulva*). **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 33, 59–67. 1988. doi: 10.1016/0885-5765(88)90043-4.

TSENG, S.-C., LIU, S.-Y., YANG, H.-H., LO, C.-T., PENG, K.-C. Proteomic study of biocontrol mechanisms of *Trichoderma harzianum* ETS 323 in response to *Rhizoctonia solani*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56, 6914–6922. 2008. doi: 10.1021/jf703626j.

WANG, G., KONG, J., CUI, D., ZHAO, H., ZHAO, P., FENG, S., WANG, W. Comparative proteomic analysis of two *Ralstonia solanacearum* isolates differing in aggressiveness. **International Journal of Molecular Sciences**, 19, 2444. 2018. doi: 10.3390/ijms19082444.

WILKINS, M. R., SANCHEZ, J.-C., GOOLEY, A. A., APPEL, R. D., HUMPHERY-SMITH, I., HOCHSTRASSER, D. F., WILLIAMS, K. L. Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, 13 19–50. 1996. doi: 10.1080/02648725.1996.10647923.

CAPÍTULO 10 - WHERE WILL THE NEXT VIRUS COME FROM? LESSONS FROM COFFEE RINGSPOT VIRUS

Michael Goodin¹

Antonia Dos Reis Figueira²

1 Abstract

Sustainable production of agricultural commodities requires that they are protected from a myriad of endemic and new pathogens that emerge in response to changing genotypes, environmental conditions, and production systems, for example. Disease control measures that can be preemptively deployed prior to pathogen emergence requires an intimate understanding of the ecology of pathogen populations and assessment of their ability to spill over into economically-relevant crops. This process, called zoonosis in animal-human health is much understudied in the corresponding wild plant-reservoir/agriculture interaction. Viruses such as coffee ringspot virus and soybean yellow shoot virus provide models for studying virus spillover/spillback (transfer from crops to wild species) in agricultural systems within the Brazilian Cerrado region. This research was conducted by collaborations between the University of Kentucky (United States) and Universidade Federal de Lavras (Brazil). The broader opportunities for expansion of this collaboration will be discussed.

2 Plant Viruses: Are They Only Pathogens?

Virology, as a science, began with plants and the characterization tobacco mosaic virus; the first pathogen to be shown experimentally to retain infectivity following filtrations of cell lysates through filters known to restrict the passage of bacteria, the smallest known pathogen at that time. For most of the next century, the discovery of new plant viruses was done primarily in the context of their emergence in agricultural crops. Likewise, the vectors of plant-infecting crops, such as aphids, whiteflies, planthoppers and leafhoppers, are studied mostly in association with economically important crops. Given this history, and the importance of controlling plant viruses in order to assure a sustainable food and fiber supply, plant virology research was traditionally housed within the umbrella of plant pathology departments at universities, and related institutions, worldwide. However, to view plant viruses entirely from the perspective of human-relevant agriculture severely limits consideration of what viruses may be doing on an ecological scale, in wild plants that are the natural reservoirs for these viruses. In most cases, the wild-plant host(s) for plant viruses is often not known. Additionally, it is often not known how and if plant viruses move from agricultural crops into wild hosts.

¹ Department of Plant Pathology, University of Kentucky, Lexington, KY USA. mgoodin@uky.edu.

² Universidade Federal de Lavras, Departamento de Fitopatologia, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 Lavras, MG. antonia@dfp.ufla.br.

The outbreak of a virus in a new host, particularly one of economic or public health importance, is known as emergence. If the reservoir species in the wild is known then viral spillover has occurred. Alternatively, when a virus that was first described in a crop species transfers to wild plants, the phenomenon of spillback has occurred. Thus, virus emergence is a dynamic process involving both spillover and spillback. With the advent of unbiased virus detection that can be obtained by next-generation sequencing, there is great opportunity to study the processes of virus emergence on an ecological scale (Lefevre et al., 2019).

3 The Importance of Studying Virus Emergence

The discovery and characterization of viruses and their populations is essential for protecting public health globally against the spillover of novel viruses from reservoir species. Furthermore, elucidation of the ecological role(s) of plant viruses has been suggested to be essential for an “accurate and robust understanding of global ecosystems” (Lefevre et al., 2019). Moreover, studies at agro-ecosystem interfaces are deemed to be “crucial for understanding the impacts of ecological disturbances on the population and evolutionary dynamics of plant viruses” (Lefevre et al., 2019). For human pathogenic viruses, multi-country and agency collaborations such as the Emerging Pandemic Threat PREDICT Project and the Global Virome Project have demonstrated the wisdom and need for initiatives particularly in an era of a rapidly expanding human global footprint and travel networks (Bird and Mazet, 2018, Carroll et al., 2018). These initiatives have discovered more than 181 new viruses from families whose members are known to contain human pathogens, including novel Ebola-like filoviruses (Goldstein et al., 2018). Similarly, diseases caused by plant-infecting viruses have major global impact on food security and agriculture as a significant cause of yield losses in crops (Mahuku et al., 2015, Malmstrom and Alexander, 2016, Sa Antunes et al., 2016, Vincent et al., 2014). Emergence of viral diseases is a dramatic example of viral adaptation to human-mediated disturbances. Human-mediated changes to the global environment have altered, and will continue to alter, the dynamics of virus-plant pathosystems. While it is well established that direct human interference in natural ecosystems has prompted the emergence of socio-economically important diseases caused by animal and plant viruses, it is presently unknown how indirect interference, for example via climate change, might affect the emergence of novel viral pathogens. While it is now well documented that emerging infectious diseases have an unquestionably negative impact on human well-being, it is becoming increasingly appreciated that they can also profoundly impact natural ecosystems. Despite this, the process of adaptation of viruses at the interface between indigenous ecosystems and human settlements remains broadly unknown. From the perspective of plant viruses, the number of new encounter situations, where introduced cultivated plants come into contact for the first time with viruses that are adapted to indigenous “wild” plants, has dramatically increased during the last few decades. Between 1996 and 2016, plant viruses and phytoplasmas were identified as causing approximately half of the emergent plant infectious diseases recorded in the ProMED database (www.promedmail.org) (Madoff, 2004, Woodall, 2001). The probable causes of these viruses/

phytoplasmas emerging as agricultural pathogens are human-mediated exotic plant introductions (~70% of the cases) and changes in the distributions and/or characteristics of vector species that transmit these viruses/phytoplasmas (~15% of the cases). Traditionally, the initial identification and characterization of plant viruses has been conducted within the context of their emergence in agriculturally relevant crops (e.g. tobacco mosaic virus, tomato spotted wilt virus, potato yellow dwarf virus). Only in rare cases are the reservoir hosts known in wild plant species. However, as for zoonotic viruses, wild areas can themselves contain a broad diversity of viruses that contribute to ecological dynamics with wild species, and which may pose a threat to agriculture should they spill over into crop plants. The impacts of climate change and the rapid conversion to agricultural production threaten fragile ecosystems such as the Cerrado, which is a treasure trove of wild-edible plants, insects, archeal species and other components of its rich biodiversity.

Many different classes of virus are responsible for diseases in crop plants. This includes any of the numerous positive sense RNA viruses, negative-sense RNA viruses, double stranded RNA viruses, single stranded DNA viruses, and double stranded DNA (pararetro) viruses. Viral diseases may be the result of infection by a single virus, or by combinations of viruses that act synergistically to incite severe symptoms (Redinbaugh and Stewart, 2018). Virus populations often consist, not of a single, relatively “pure” strain or genotype of a given virus, but rather of collections of quasispecies that evolve due to the random accumulation of mutation and persist due to substantial epistatic interactions between distinct sub-populations of virus (Roossinck, 2003, Roossinck, 2012). This feature of virus infections has important ramifications as far as virus detection, characterization, and disease prevention are concerned.

4 The Importance of Virus Emergence in Globalized Agriculture

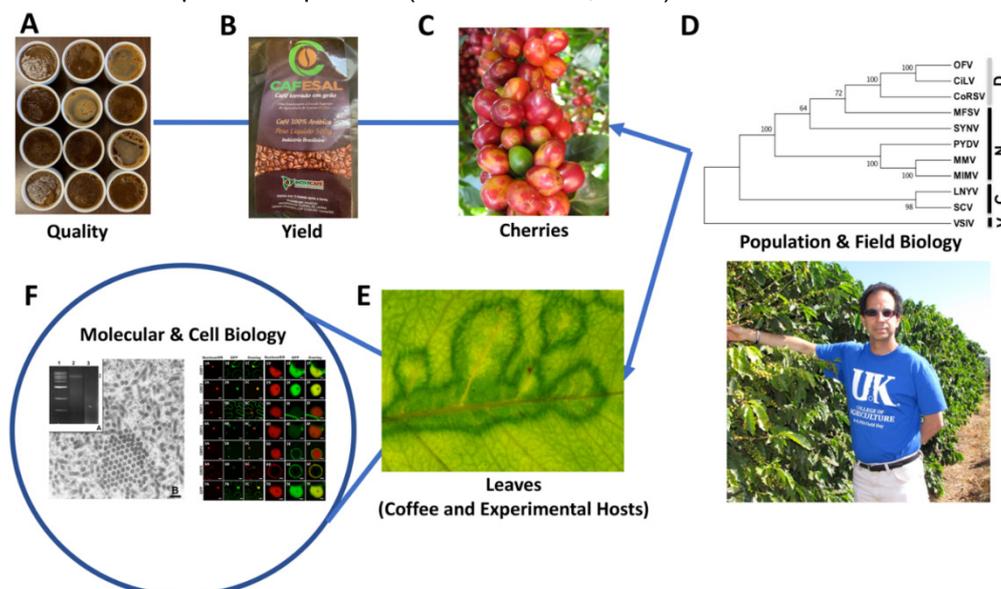
The nine major US food crops (maize, soybeans, wheat, cotton, rice, barley, oats, canola and sugar cane) are also the most important in Brazil, where they account for ~90% of cropland (Barr et al., 2011). Maize, soybean, cotton, and coffee are each heavily cultivated within the Cerrado. It is important to understand the scope of virus-caused disease in crops in Brazil, since the emergence of such diseases will likely herald emergent viral pathogens in the USA. In addition to being a junction point of vast natural biodiversity and intensive crop cultivation undergoing rapid change. The sources of the periodic viral epidemics that sweep cultivated fields are usually unknown, but are probably viruses in adjoining weed and native plant populations that may be mobilized by novel environmental circumstances (changing climatic conditions, invasions of vectoring arthropods, and combinations of such factors) (Gilbertson et al., 2015). These considerations make the characterization of plant viruses in plant populations that abut cultivated fields in Brazil an attractive subject for scientific study. The outcomes of such metagenomic research include insight into the emergence of viral diseases in cultivated fields, contributions of the evolution of virus subpopulations to virus persistence in wild plant refuges as well as cultivated crops, and contributions that climate changes make to the persistence of viruses in refuges and spill-over to cultivated crops (Figs. 1 and 2) (Jones, 2009, Jones, 2016, Roossinck et al., 2015).

Therefore, the agro-ecology of viruses in crop and wild plants in the biodiverse Cerrado region of Brazil permits tests of the hypothesis that the emergence of socially/economically-relevant viral diseases is linked to ecological disturbances caused by human intrusions into natural ecosystems.

5 Coffee Ringspot Virus: General Characteristics, and Occurrence in Brazil

Coffee is the most widely traded agricultural commodity in the world. With worldwide daily consumption in excess of two and a half billion cups, coffee is a key economic driver for tropical and sub-tropical producer nations, as well as in North American, European and Asian markets. Brazil accounts for 32% of the world production of coffee, with the state of Minas Gerais responsible for 50% of the green bean exports from this country (USDA, 2015, Zullo et al., 2011). Climate change is expected to negatively impact the global coffee supply not only in terms of environmental impact but also due to influencing the emergence of previously benign pathogens of *Coffea* sp. (Bunn et al., 2014, Davis et al., 2012, Jaramillo et al., 2011, Gross, 2009). Included within this group of emerging coffee pathogens is coffee ringspot virus (CoRSV), whose genome is composed of single-stranded negative-strand RNA, similar to that of members of the Mononegavirales (Fig. 1). In contrast however, CoRSV is a member of the genus.

Figure 1: A-G. How does CoRSV impact coffee? A. More research is required to determine how CoRSV affects coffee quality. Only one small-scale study has been done to determine the effect of CoRSV on coffee quality (Dos Reis Figueira et al., 2014). B. The effect of CoRSV on the yield of coffee plants has not been examined in detail. C. The effect of CoRSV on the development of coffee cherries has not been investigated. D. While the taxonomy and population structure, based on the nucleocapsid gene, has been established. Further studies are required to determine rates of reassortment and recombination in CoRSV. E. The reservoir of CoRSV in wild species, particularly in the Cerrado of Brazil, has not been established. F. The molecular basis for temperature dependent susceptibility to systemic infections has not been determined (Ramalho et al., 2014). Additionally, the cell biology of CoRSV beyond generation of protein interaction and localization maps is poorly characterized particularly with respect to identification of host factors required for replication and cell to cell movement, viroplasm formation, and nucleocytoplasmic trafficking of CoRSV nucleocapsids and proteins (Ramalho et al., 2014).



Dichorhavirus, with a bipartite genome composed of: RNA1 (6522 nt) organized into five open reading frames capable of encoding the viral nucleocapsid (ORF1p), phosphoprotein

(ORF2p), putative cell-to-cell movement protein (ORF3p), a protein of unknown function (ORF4p) and glycoprotein (ORF5p). Each ORF is separated by a conserved tri-modular intergenic junction. RNA2 (5945 nt) encodes a single protein (ORF6p), with homology to RNA-dependent RNA polymerases.

CoRSV shares a pattern of emergence observed with numerous other plant viruses in being described decades ago and then rising into prominence as cultural and environmental conditions conducive to range expansion of their vectors are met with increasing frequency (Gilbertson et al., 2015, Rey and Vanderschuren, 2017). First documented in 1938 (Bittancourt, 1938), CoRSV is now established over the majority of coffee growing regions in Brazil (Ramalho et al., 2015).

Some plant hosts, *Chenopodium quinoa* and *Nicotiana benthamiana* for example, exhibit a dramatic temperature-dependent susceptibility to CoRSV (Ramalho et al., 2014). In experiments conducted with both species, plants must be incubated at 28°C for at least five days in order for CoRSV to establish systemic infections. That this phenomenon occurs in two genetically dissimilar plant species suggests that the temperature-dependence affects some virus-specific process. Importantly, the 2-4 °C increase in ambient temperatures projected by climate change predictions may severely impact the occurrence of this virus in reservoir species, which in turn may impact the severity and frequency of CoRSV in coffee production areas.

Therefore, in order to gain insight into the population structure of CoRSV, as a prerequisite for predicting its spread in coffee growing regions, a survey was conducted in May-July, 2014 on farms within a 700,000 km² area that span three of the major coffee producing states in Brazil. This area is situated between 500-1,300 m above the sea level, and utilizes a diverse array of cropping practices (e.g., lowland pivot irrigation vs. steep mountainside). CoRSV was found on 100% of farms visited (n=45). Phylogenetic analysis of the viral ORF1 suggested that CoRSV spread is constrained by clonal expansion of its mite vector, the populations of which are composed largely of haploid females (Weeks et al., 2001). We propose that genetic constraints imposed by its host and vector have resulted in the emergence of CoRSV and viruses with segmented genomes related to the unsegmented genomes of other rhabdoviruses. This pilot study was conducted via a UFLA-UK collaboration, and largely executed by undergraduates from Brazil and the USA. Procedures for field sampling of plants, RNA isolation, library preparation, and data analyses essential to support future studies were established (Ramalho et al., 2014, Ramalho et al., 2015).

Currently, the wild reservoir host(s) of CoRSV is unknown. However, there are several lines of experimental evidence that this virus may be commonplace in the wild. Much of the coffee growing regions of Brazil are surrounded by wild and semi-wild sections of the Cerrado (Rehm et al., 2015, de Oliveira et al., 2015, de Mello et al., 2015, Rampelotto et al., 2013). This region has not been extensively indexed for viruses, despite the ease with which plants in this region can be found with virus-like symptoms. Given the range of experimental hosts of CoRSV, it stands to reason that plants in the Cerrado may serve as reservoir species for CoRSV (Ramalho et al., 2015, Kitajima et al., 2010). Current virus-discovery-by-sequencing methods (Roossinck, 2017, Zheng et al., 2017, Pecman et al., 2017, Lefeuvre et al., 2019) are ideally suited to mapping the

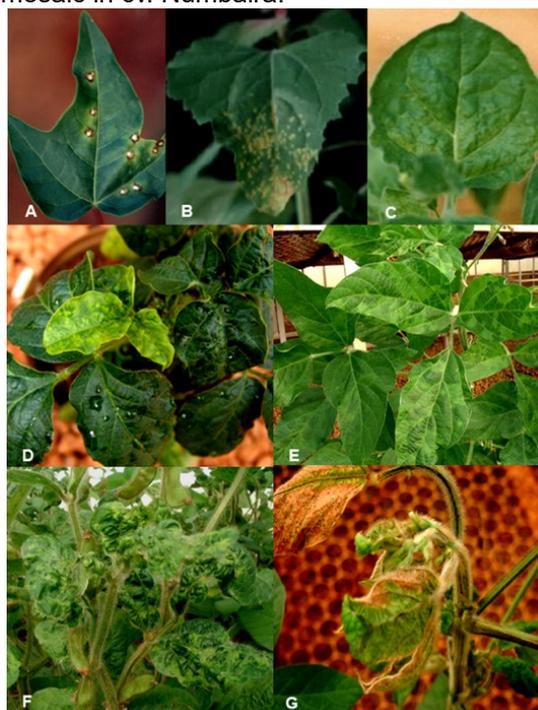
virus population structure of the Cerrado, which is the second largest savannah ecosystem in the world, with exceedingly rich biodiversity, much of which is undescribed, and under threat from human activity (Andrade-Souza et al., 2017).

It is important to note that CoRSV is related to dichorviruses that are themselves significant pathogens of economic importance in Brazil. These viruses include citrus leprosis virus-N, and orchid fleck virus and others. Identification of the wild reservoirs of all these viruses may yield insight into the evolution and emergence of this genus as a group (Dias Arena et al., 2017, Dietzgen et al., 2018, Dietzgen et al., 2014, Sanchez-Velazquez et al., 2015).

6 Characterization of soybean yellow shoot virus, an emerging potyvirus infecting soybean plants in Brazil

CoRSV is not the only virus characterized via the UFLA-UK collaboration (Geraldino Duarte et al., 2019). A novel virus, capable of inducing severe symptoms in soybean, was first observed in experimental fields in Lavras-MG, Brazil, and named soybean yellow shoot virus (SoyYSV; Fig 2). In a collaboration between the Figueira and Goodin laboratories, SoyYSV was completely sequenced and its structural, biological, and molecular properties were determined (Geraldino Duarte et al., 2019). Among the most common potyviruses present in Brazil, only SoyYSV induced local necrotic lesions in *Carica papaya L.* The complete genome of SoyYSV was determined to be 9,052 nucleotides, encoding a single ORF that is subsequently cleaved generating 11 proteins. SoyYSV was transmitted by *Myzus persicae* and *Aphis gossipii*, but lacks the HCPro domain required for aphid transmission in *Potyvirus* genus members. No seed transmission was observed. This report constitutes the first detailed characterization of SoyYSV. The ability of SoyYSV to infect soybean plants with genetic resistance to soybean mosaic virus is of substantial concern, as it suggests the potential to cause losses in soybean. Fortunately, among some soybean cultivars genetic resistance to SoyYSV was identified, despite being susceptible to SMV. Studies with the purpose of mapping these resistance genes for a possible resistance pyramiding have already been started. A more detailed characterization of this virus has become important to guide development of control measures in the future (Geraldino Duarte et al., 2019).

Figure 2: Symptoms shown by SoyYSV-susceptible plants. (A) *Carica papaya*, (B) *Chenopodium amaranticolor*, (C) *Nicotiana bentamiana*, (D) typical yellow shoot in soybean cv. Paraná, (E) mild mosaic in cv. UFV-2, (F) severe mosaic in cv. Juliana, (G) necrotic mosaic in cv. Numbaira.



7 Can We Predict Plant Virus Emergence?

The ability to predict viral emergence via spillback or spillover phenomena depends upon an understanding of population structures on an ecological scale. Therefore, studies employing unbiased sampling and detection methods are essential. Particular focus will be made via ULFA-UFV-UK partnerships to maximize the discovery of viruses in order to greatly expand the current understanding of Cerrado viro-ecology. Typically, plant viruses are named according to, (i) the host in which they were first described or characterized and, (ii) associated symptoms (e.g. tobacco mosaic virus, sonchus yellow net virus, coffee ringspot virus). This convention belies the fact that, (i) plant viruses may have more than one host plant species (e.g. cucumber mosaic virus infects plants in over 80 genera), and (ii) “plant virus” may be termed more correctly in some cases as “plant-adapted”, which better describes viruses that replicate in their arthropod vectors (e.g. potato yellow dwarf virus). The virologists in this team are experts in the discovery, nomenclature, and taxonomy of novel viruses. Therefore, virus discovery will be done in tandem with identification of the species of plants in which viruses are found. Both conventional botanical taxonomy and DNA barcoding methods will be employed to identify plant species using a three-locus DNA barcode (rbcL, trnH-psbA and ITS2) (Wang et al., 2018, Garcia-Robledo et al., 2013, Costion et al., 2016). Ultimately, this information will be used to facilitate phylogenetics-based analyses to explore how plant host species correlate with host range of viruses. Such analyses will be conducted when the same novel virus is found in multiple plant species using analyses similar to those used to map plant species to the diet of herbivores (Garcia-Robledo et al., 2013). Priority will be given to the identification of reservoir species of CoRSV, and mapping the viral ecology of the Cerrado regions.

Literature Cited

- ANDRADE-SOUZA, V., SILVA, J. G.; HAMADA, N. Phylogeography and population diversity of *Simulium hirtipupa* Lutz (Diptera: Simuliidae) based on mitochondrial COI sequences. **PLoS One**, 2017, 12.12: e0190091.
- BARR, K. J., BABCOCK, B. A., CARRIQUIRY, M. A., NASSAR, A. M.; HARFUCH, L. Agricultural Land Elasticities in the United States and Brazil. **Applied Economic Perspectives and Policy**. 2011. 33.3: 449-462.
- BIRD, B. H.; MAZET, J. A. K. Detection of Emerging Zoonotic Pathogens: An Integrated One Health Approach. **Annu Rev Anim Biosci**, 2018, 6: 121-139.
- BITTANCOURT, A. A. A mancha anular, uma nova ameaça do cafeeiro. **O Biológico**, 1938, 4: 404-405.
- BUNN, C., LÄDERACH, P., OVALLE RIVERA, O.; KIRSCHKE, D. A bitter cup: climate change profile of global production of Arabica and Robusta coffee. **Climatic Change**, 2014, 1-13.
- CARROLL, D., DASZAK, P., WOLFE, N. D., GAO, G. F., MOREL, C. M., MORZARIA, S., PABLOS-MENDEZ, A., TOMORI, O.; MAZET, J. A. K. The Global Virome Project. **Science**, 2018, 359. 872-874.
- COSTION, C. M., KRESS, W. J.; CRAYN, D. M. DNA Barcodes Confirm the Taxonomic and Conservation Status of a Species of Tree on the Brink of Extinction in the Pacific. **PLoS One**, 2016, 11: e0155118.
- DAVIS, A. P., GOLE, T. W., BAENA, S.; MOAT, J. The impact of climate change on indigenous Arabica coffee (*Coffea arabica*): predicting future trends and identifying priorities. **PLoS One**, 2012, 7.11: e47981.
- DE MELLO, P. L., MACHADO, R. B.; NOGUEIRA CDE, C. Conserving Biogeography: Habitat Loss and Vicariant Patterns in Endemic Squamates of the Cerrado Hotspot. **PLoS One**, 2015, 10: e0133995.
- DE OLIVEIRA, G., LIMA-RIBEIRO, M. S., TERRIBILE, L. C., DOBROVOLSKI, R., TELLES, M. P.; DINIZ-FILHO, J. A. Conservation biogeography of the Cerrado's wild edible plants under climate change: Linking biotic stability with agricultural expansion. **Am J Bot**, 2015, 102: 870-7.
- DIAS ARENA, G., RAMOS-GONZÁLEZ, P. L., NUNES, M. A., JESUS, C. C., CALEGARIO, R. F., KITAJIMA, K. W., NOVELLI, V. M.; FREITAS-ASTÚA, J. *Arabidopsis thaliana* as a model host for *Brevipalpus* mite-transmitted viruses. **Scientia Agricola**, 2017, 74: 85-89.
- DIETZGEN, R. G., FREITAS-ASTUA, J., CHABI-JESUS, C., RAMOS-GONZALEZ, P. L., GOODIN, M. M., KONDO, H., TASSI, A. D.; KITAJIMA, E. W. Dichorhviruses in their Host Plants and Mite Vectors. **Adv Virus Res**, 2018, 102: 119-148.
- DIETZGEN, R. G., KUHN, J. H., CLAWSON, A. N., FREITAS-ASTUA, J., GOODIN, M. M., KITAJIMA, E. W., KONDO, H., WETZEL, T.; WHITFIELD, A. E. Dichorhavirus: a proposed new genus for *Brevipalpus* mite-transmitted, nuclear, bacilliform, bipartite, negative-strand RNA plant viruses. **Arch Virol**, 2014, 159, 607-19.
- DOS REIS FIGUEIRA, A., GIRAO, L. V. G., ALMEIDA, J. E. M., POZZA, A. P., BARROCAS, E. N.; SUSSEL, A. A. B. Logarithmic scaling and effects of severity levels of ringspot disease on sensory quality of coffee brew. **African Journal of Agricultural Research**, 2014, 9, 3360-3368.
- GARCIA-ROBLEDO, C., ERICKSON, D. L., STAINES, C. L., ERWIN, T. L.; KRESS, W. J. Tropical plant-herbivore networks: reconstructing species interactions using DNA barcodes. **PLoS One**, 2013, 8, e52967.

GERALDINO DUARTE, P. S., FIGUEIRA, A. R., VAN LENT, J., GALVINO-COSTA, S. B. F., FARMAN, M.; GOODIN, M. Characterization of soybean yellow shoot virus, a new member of the family Potyviridae infecting soybean plants in Brazil. **Plant Disease**, 2019, 103, 1172-1180.

GILBERTSON, R. L., BATUMAN, O., WEBSTER, C. G.; ADKINS, S. Role of the Insect Supervectors *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in the Emergence and Global Spread of Plant Viruses. **Annu Rev Virol**, 2015, 2, 67-93.

GOLDSTEIN, T., ANTHONY, S. J., GBAKIMA, A., BIRD, B. H., BANGURA, J., TREMEAU-BRAVARD, A., BELAGANAHALLI, M. N., WELLS, H. L., DHANOTA, J. K., LIANG, E., GRODUS, M., JANGRA, R. K., DEJESUS, V. A., LASSO, G., SMITH, B. R., JAMBAL, A., KAMARA, B. O., KAMARA, S., BANGURA, W., MONAGIN, C., SHAPIRA, S., JOHNSON, C. K., SAYLORS, K., RUBIN, E. M., CHANDRAN, K., LIPKIN, W. I.; MAZET, J. A. K. The discovery of Bombali virus adds further support for bats as hosts of ebolaviruses. **Nat Microbiol**, 2018, 3, 1084-1089.

GROSS, M. Coffee growers feel the heat. **Curr Biol**, 2019, 19, R965-6.

JARAMILLO, J., MUCHUGU, E., VEGA, F. E., DAVIS, A., BORGEMEISTER, C.; CHABI-OLAYE, A. Some like it hot: the influence and implications of climate change on coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) and coffee production in East Africa. **PLoS One**, 2011, 6, e24528.

JONES, R. A. Plant virus emergence and evolution: origins, new encounter scenarios, factors driving emergence, effects of changing world conditions, and prospects for control. **Virus Res**, 2009, 141, 113-30.

JONES, R. A. Future Scenarios for Plant Virus Pathogens as Climate Change Progresses. **Adv Virus Res**, 2016, 95, 87-147.

KITAJIMA, E. W., RODRIGUES, J. C. V.; FREITAS-ASTUA, J. An annotated list of ornamentals naturally found infected by *Brevipalpus* mite-transmitted viruses. **Scientia Agricola**, 2010, 67, 348-371.

LEFEUVRE, P., MARTIN, D. P., ELENA, S. F., SHEPHERD, D. N., ROUMAGNAC, P.; VARSANI, A. Evolution and ecology of plant viruses. **Nat Rev Microbiol**. 2019.

MADOFF, L. C. ProMED-mail: an early warning system for emerging diseases.

Clin Infect Dis, 2004, 39, 227-32.

MAHUKU, G., LOCKHART, B. E., WANJALA, B., JONES, M. W., KIMUNYE, J. N., STEWART, L. R., CASSONE, B. J., SEVGAN, S., NYASANI, J. O., KUSIA, E., KUMAR, P. L., NIBLETT, C. L., KIGGUNDU, A., ASEA, G., PAPPU, H. R., WANGAI, A., PRASANNA, B. M. & REDINBAUGH, M. G. Maize Lethal Necrosis (MLN), an Emerging Threat to Maize-Based Food Security in Sub-Saharan Africa. **Phytopathology**, 2015, 105, 956-965.

MALMSTROM, C. M. & ALEXANDER, H. M. Effects of crop viruses on wild plants. **Curr Opin Virol**, 2016, 19, 30-36.

PECMAN, A., KUTNJAK, D., GUTIERREZ-AGUIRRE, I., ADAMS, I., FOX, A., BOONHAM, N.; RAVNIKAR, M. Next Generation Sequencing for Detection and Discovery of Plant Viruses and Viroids: Comparison of Two Approaches. **Front Microbiol**, 2017, 8, 1998.

RAMALHO, T. O., FIGUEIRA, A. R., SOTERO, A. J., WANG, R., GERALDINO DUARTE, P. S., FARMAN, M.; GOODIN, M. M. Characterization of Coffee ringspot virus-Lavras: A model for an emerging threat to coffee production and quality. **Virology**, 2014, 464-465C, 385-396.

RAMALHO, T. O., FIGUEIRA, A. R., WANG, R., JONES, O., HARRIS, L. E.; GOODIN, M. M. Detection and survey of coffee ringspot virus in Brazil. **Arch Virol**. 2015.

- RAMPELOTTO, P. H., DE SIQUEIRA FERREIRA, A., BARBOZA, A. D.; ROESCH, L. F. Changes in diversity, abundance, and structure of soil bacterial communities in Brazilian Savanna under different land use systems. **Microb Ecol**, 2013, 66, 593-607.
- REDINBAUGH, M. G.; STEWART, L. R. Maize Lethal Necrosis: An Emerging, Synergistic Viral Disease. **Annu Rev Virol**, 2018, 5, 301-322.
- REHM, E. M., OLIVAS, P., STROUD, J.; FEELEY, K. J. Losing your edge: climate change and the conservation value of range-edge populations. **Ecol Evol**, 2015, 5, 4315-26.
- REY, C.; VANDERSCHUREN, H. Cassava Mosaic and Brown Streak Diseases: Current Perspectives and Beyond. **Annu Rev Virol**, 2017, 4, 429-452.
- ROOSSINCK, M. J. Plant RNA virus evolution. **Curr Opin Microbiol**, 2003, 6, 406-9.
- ROOSSINCK, M. J. Plant virus metagenomics: biodiversity and ecology. **Annu Rev Genet**, 2012, 46, 359-69.
- ROOSSINCK, M. J., MARTIN, D. P.; ROUMAGNAC, P. Plant Virus Metagenomics: Advances in Virus Discovery. **Phytopathology**, 2015, 105, 716-27.
- ROOSSINCK, M. J. Deep sequencing for discovery and evolutionary analysis of plant viruses. **Virus Res**, 2017, 239, 82-86.
- SAANTUNES, T. F., AMARAL, R. J., VENTURA, J. A., GODINHO, M. T., AMARAL, J. G., SOUZA, F. O., ZERBINI, P. A., ZERBINI, F. M.; FERNANDES, P. M. The dsRNA Virus Papaya Meleira Virus and an ssRNA Virus Are Associated with Papaya Sticky Disease. **PLoS One**, 2016, 11, e0155240.
- SANCHEZ-VELAZQUEZ, E. J., SANTILLAN-GALICIA, M. T., NOVELLI, V. M., NUNES, M. A., MORA-AGUILERA, G., VALDEZ-CARRASCO, J. M., OTERO-COLINA, G. & FREITAS-ASTUA, J. Diversity and Genetic Variation among Brevipalpus Populations from Brazil and Mexico. **PLoS One**, 2015, 10, e0133861.
- USDA. Online - Home. In: Production, Supply and Distribution Online.
- VINCENT, S. J., COUTTS, B. A.; JONES, R. A. 2014. Effects of introduced and indigenous viruses on native plants: exploring their disease causing potential at the agro-ecological interface. **PLoS One**, 2015, 9, e91224.
- WANG, X., GUSSAROVA, G., RUHSAM, M., DE VERE, N., METHERELL, C., HOLLINGSWORTH, P. M.; TWYFORD, A. D. DNA barcoding a taxonomically complex hemiparasitic genus reveals deep divergence between ploidy levels but lack of species-level resolution. **AoB Plants**, 2018, 10, ply026.
- WEEKS, A. R., MAREC, F.; BREEUWER, J. A. A mite species that consists entirely of haploid females. **Science**, 2001, 292, 2479-82.
- WOODALL, J. P. Global surveillance of emerging diseases: the ProMED-mail perspective. **Cad Saude Publica**, 2001, 17 Suppl, 147-54.
- ZHENG, Y., GAO, S., PADMANABHAN, C., LI, R., GALVEZ, M., GUTIERREZ, D., FUENTES, S., LING, K. S., KREUZE, J.; FEI, Z. VirusDetect: An automated pipeline for efficient virus discovery using deep sequencing of small RNAs. **Virology**, 2017, 500, 130-138.
- ZULLO, J., PINTO, H. S., ASSAD, E. D.; DE AVILA, A. M. H. Potential for growing Arabica coffee in the extreme south of Brazil in a warmer world. **Climatic Change**, 2011, 109, 535-548.

CAPÍTULO 11 - NEMATODES IN VEGETABLES: OCCURRENCE, IMPACTS ON THE BRAZILIAN OLERICULTURE PRODUCTIVE SECTOR AND SUSTAINABLE MANAGEMENT

Jadir Borges Pinheiro¹

Raphael Augusto de Castro e Melo²

Giovani Olegário da Silva³

Danielle Biscaia⁴

1 Olericulture and Plant-Parasitic Nematodes (PPN)

In recent years, olericulture is the fastest growing Brazilian agricultural segment, both in terms of consumption and harvested area; recently the concern with the quality of life and food security has stimulated the population to consume more vegetables (BRANDÃO FILHO et al., 2018). Vegetable crops are among the most attacked by plant-parasitic nematodes (PPN), with a significant investment in the development of cultivars and management techniques aimed at controlling these plant parasites, especially for the *Meloidogyne* genus (OLIVEIRA et al., 2018). The root-knot nematode (*Meloidogyne* spp; RKNs) causes significant damages in most vegetable species, such as lettuce (*Lactuca sativa* L.), potato (*Solanum tuberosum* L.), sweetpotato [*Ipomoea potatoes* (L.) Lam.], eggplant (*Solanum melongena* L.), carrot (*Daucus carota* L.), scarlett eggplant (*Solanum aethiopicum* Raddi), peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr.), peppers (*Capsicum* spp. L.), tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and cucurbits like melons (*Cucumis melo* L.), watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai], pumpkins (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poir.) and squash (*Cucurbita maxima* Duchesne)}.

The most important species of the genus *Meloidogyne* Goeldi in this productive sector are *M. incognita* (Kofoid; White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood, *M. arenaria* (Neal) Chitwood and *M. hapla* Chitwood. In crops such as coriander (*Coriandrum sativum* L.), *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira causes significant yield losses, especially in the northeast region of Brazil. In parsley and peruvian carrot cultivation, the root-lesion nematode *Pratylenchus* spp. Filipjev has been responsible for significant yield losses, as well as *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) Filipjev in garlic. *Scutellonema bradys* (Steiner; Lehew) Andrassy is one of the most relevant pathogens in yam [*Dioscorea* spp. (L.) Schott]. Certain genera and species of PPN cause sporadic damages in different crops, strongly depending on the local climate conditions, population density present in the area, soil type, cultivars susceptibility and the management practices adopted by growers Table 1.

1 Research Scientist, Agricultural Engineer, Ph.D. in Agronomy (Plant Pathology), Embrapa Vegetables, Brasília, DF.

2 Research Scientist, Agricultural Engineer, M.Sc. in Agronomy (Plant Science), Embrapa Vegetables, Brasília, DF.

3 Research Scientist, Agricultural Engineer, Ph.D. in Agronomy (Genetics and Plant Breeding), Embrapa Vegetables, Canoinhas, SC.

4 Technician - Laboratory of Nematology, Food Scientist, M.Sc. in Food Science and Technology, Embrapa Vegetables, Brasília, DF.

Table 1: Main genera and species of plant-parasitic nematodes considered of importance in the vegetable production sector in Brazil.

Common name	Nematode species	Vegetable species
Root-knot nematode	<i>M. enterolobii</i> , <i>M. incognita</i> , <i>M. javanica</i> , <i>M. ethiopica</i> , <i>M. hapla</i> , <i>M. arenaria</i>	⁽¹⁾ Lettuce, carrot, sweetpotato, table beet, onion, cucurbits (pumpkins, squash, melon, cucumber), Solanaceae (potato peppers, eggplant, scarlett eggplant, and tomato).
Root-lesion nematode	<i>Pratylenchus brachyurus</i> , <i>P. penetrans</i> , <i>P. coffea</i>	⁽¹⁾ Potato, peruvian carrot, yam. ⁽²⁾ Carrot, okra, scarlett eggplant, tomato, peppers, sweetpotato, peas.
Stem and Bulb Nematode in Garlic	<i>Ditylenchus dipsaci</i>	⁽¹⁾ Garlic. ⁽²⁾ onions
Reniform nematode	<i>Rotylenchulus reniformis</i>	⁽¹⁾ Coriander and melon. ⁽²⁾ Lettuce, sweetpotato, watermelon, tomato, okra.
Yam nematode	<i>Scutellonema bradys</i>	⁽¹⁾ Yams (<i>Dioscorea</i> and <i>Colocasia</i>), peruvian carrot.
Common spiral nematode	<i>Helicotylenchus dihystera</i>	⁽¹⁾ Carrot

⁽¹⁾Main occurrence. ⁽²⁾Other crops with sporadic damages.

2 PPN Impacts

In the past, research and development (R&D) in the horticultural sector received limited support for the generation of nematode management technologies. However, today, this scenario is changing, especially since it is now recognized that PPN can cause large losses to crops vegetables. Plant-parasitic nematodes cause estimated losses of 14.6% of total production for tropical and subtropical crops, meaning an estimated global annual economic loss of over US\$ 173 billion and consequently significant impact on the world population food supply (NICO et al., 2011; ELLING, 2013). In Brazil, according to Machado (2015), PPN losses in agriculture represents R\$ 35 billion (approximately US\$ 10 billion). The estimated global average for annual yield losses caused by PPN in vegetables is about 11% (RAVICHANDRA, 2014; RAO et al., 2016). However, because PPN symptoms are generally quite nonspecific, the losses caused by these organisms are often underestimated. The behavior of nematodes, especially in tropical regions, can cause situations where it is practically impossible to grow in areas with the presence of these microorganisms. When vegetables are grown in the same area, without proper control measures, crops often do not develop due to the intense attack of nematodes, resulting in losses that can reach 100% (Table 2). However, reports of losses caused by PPN in some cultures, even in the literature, are occasional, and the lack of available information is probably due to the difficulty of conducting field studies, which may also be related to the short cycle of most vegetable species.

Table 2: Losses, in percentage, caused by plant-parasitic nematodes in vegetable crops.

Vegetable species	Percentage of losses (%)	References
Cole crops	12	NOLING; BARKER (1994).
Tomato	30 a 80	CHITWOOD (1951); SAYRE; TAYAMA (1964); BARKER et al. (1976); LORDELLO (1978); SASSER (1979); FERRAZ; CHURATA-MASCA (1983); ROBERTS; MAY (1986); CHARCHAR (1995)
Carrot	100	VRAIN et al. (1981)
Potato	12,2	BARKER (1998)
Melon	10 a100	MCSORLEY et al. (1987); NUGENT; DUKES (1997); KOENNING et al. (1999); LIMA et al. (1995).

3 PPN Vigilance and International Market Opportunities

Some PPN species pose a potential threat to Brazil's vegetable production sector and require vigilance from government agencies to ensure that they are not introduced to the country in the short, medium and long term. This work is carried out by Embrapa 's Plant Quarantine and the plant health protection agencies. Table 3 shows some important quarantine PPN for vegetables grown in Brazil, according to Normative Instruction No. 41 of July 1, 2008 (BRAZIL, 2008).

Table 3: Quarantine plant-parasitic nematodes species considered of importance to vegetables in Brazil.

Nematode species	Vegetable species
<i>Belonolaimus longicaudatus</i>	Potato, sweetpotato, table beet, melon and tomato
<i>Ditylenchus destructor</i> , <i>D. dipsaci</i> (all races, except garlic)	
<i>Globodera rostochiensis</i> , <i>G. pallida</i>	
<i>Heterodera schachtii</i>	
<i>M. fallax</i> , <i>M. chitwoodi</i>	
<i>Nacobbus aberrans</i> , <i>N. dorsalis</i>	
<i>P. scribneri</i>	

Source: BRASIL (2008).

On the topics of the national olericulture productive chain and plant health rules/regulations, due to recent opportunities (mainly a conjunction of the high demand by some European countries and reduced product availability in some periods by the leading agricultural producing countries) some vegetable species are receiving good prospects to be exported in order to supply part of the European Union markets. Although this scenario represents better security in terms of contracts and potentially lucrative segments, it requires from the suppliers to be certified and regularly audited by the Global G.A.P. (Global Good Agricultural Practices). This certification is essential to export and with this the grower will be able to add value to the product and increase the quality of production. Thus, the certification being obtained can open markets for Brazilian vegetables, provided that the required standards are followed, and these depend on adjustments in the production system. The practices required by the certi-

fiers are feasible and the cost of applying them is reverted to higher profit for the grower that will serve the foreign market and the gains are much more advantageous compared to the domestic market and to a grower without certification, impacting the entire production system, including the management of PPN.

4 OSTs Related to PPN and R&D Activities

While the impacts of nematodes on the olericulture are quite expressive, the information and damage survey on these crops are still limited. In the presence of a population level of a particular virulent nematode species, susceptible host and a favorable environment, this conjuncture may impact on various activities related to integrated management, quality and yield losses. At present, most R&D activities on plant parasitism by nematodes are carried out with field crops such as soybeans, coffee, rice, corn, wheat, and cotton. As well, input and labor costs by the producer, environmental impacts, in addition to the costs for the development and adoption of a resistant cultivar/rootstock or even the development and adoption of a chemical or biological nematicide product. In more extreme cases, occurring in highly infested areas and with the misuse of integrated management practices, many growers may abandon production areas and even change to activities outside the agricultural sector. It is noteworthy that differences in the technological levels of the vegetable grower directly influence the employed management, consequently the control of PPN, which can be benefited by Good Agricultural Practices.

Concerning the impacts on inputs, labor and other costs borne by agricultural companies and the growers, it is also worth mentioning the increasing expenses related to diagnosis centers (labs), plant nutrition products, tolerant or resistant cultivars, biological or chemical nematicides and the ones related to crop rotation that reduces profits from the main crop. In some cases professional consulting costs for nematode management are also included in the grower's budget.

As an example, one of major milestones regarding PPN occurrence that impacted the expenses related to its management was the discovery and reporting of the Mi gene by Smith in 1944. The development and adoption of a resistant cultivars or rootstocks are 'tools' now readily available for Solanaceous species. The tomato Mi gene confers resistance to *M. incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* (GILBERT; McGUIRRE, 1956; COOK, 1991). However, it does not confer resistance to *M. enterolobii* (CARNEIRO et al., 2006) and has little effect on *M. hapla* and some virulent isolates of *M. incognita* and *M. arenaria*. In addition, the Mi-1 mediated nematode resistance at high temperatures (above 28° C) can be broken (ROBERTS; THOMASON, 1986; ROBERTS et al., 1990), but in Tomato it has been demonstrated that the plants can recover with time regardless of additional heat exposures and *M. incognita* infection (CARVALHO et al., 2015).

Still, within this context, it is important to emphasize that socioeconomic impact studies are quite scarce, primarily due to the lack of methodologies. On the other hand, there are also positive impacts such as the expansion of crops to new areas and regions.

opportunities in the development of technological innovations for the sector; research priorities and definition of management strategies; growing importance of nematology in the national and international scenario; fostering research in different areas of nematology; opportunities for multidisciplinary work; the formation of new nematologists; resistant crop seeds and biological or chemical nematicide products; jobs creation; and finally the importance of nematologists as part of plant pathology and other agricultural sciences.

5 Brazilian Vegetable Production and PPN Management Context

In Brazil, the problems caused by nematodes in vegetables are intensified by the existence of a large number of cultivated areas located in urban and peri-urban regions, which increase the movement of people, machinery and animals, factors that favor the spread of nematodes. Among the main factors responsible for the importance of nematodes in vegetables, we highlight a large number of cultivated vegetable species that are host to root-knot nematodes. Thus, the lack of use of a crop rotation scheme with the intensification of vegetable planting throughout the year leads to an exponential increase in nematode population levels. This result in a reduction in the value of the products, especially in tuberous roots - carrot, table beet, yams, Peruvian carrot, potato, and sweetpotato. In relation to the sustainable management of nematodes, the use of resistant cultivars is one of the best management alternatives. The development of new resistant plant genotypes is considered a fundamental strategy against these parasites. The sources of resistance to nematodes identified so far are poorly studied when compared to existing genetic diversity, especially in vegetables (TRUDGILL, 1991).

Crop rotation is another alternative for reducing the population of nematodes in the soil. On the other hand, many of the resistant plant species that can be applied in crop rotation are considered not economically profitable by growers. Thus, most researchers involved in creating a solution to nematodes problems in agriculture and its impacts, emphasize genetics and breeding to develop tolerance or resistance of economically important plants as the best alternative (KHAN et al., 2015). Thus, for the management of nematodes, it is also of great importance the integration of several measures ranging from the choice of planting area, seedlings, and cultural treatments, until harvest. Among these measures, the main ones are: use of resistant cultivars, quality seedlings or vegetative propagation material, crop rotation, use of antagonistic plants, elimination of crop and debris, weeding, use of organic matter, biological control and, in the latter case, chemical control is recommended.

Within olericulture, most crops are considered 'minor crops' with few products registered as nematicides (BRASIL, 2019). It is significant that, as most vegetables are consumed fresh, the use of these products is not recommended due to the high toxicity and long residual period in relation to the plant cycle. As people become increasingly aware of environmental protection, intensive research efforts to develop alternative strategies for reducing nematode impacts are indispensable (RAO et al., 2016). Therefore, the future of nematicides in olericulture will depend on new compounds that are effective, environmentally safe and reduce the impacts caused by

several nematode species. For most cultivated vegetables in Brazil, the few registered nematicide products are listed in Table 4. This small number makes it's the indiscriminate use difficult and reduces the chances of contamination of vegetable consumers.

Table 4: Nematicides registered at the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply (MAPA) for the control of nematodes in vegetables.

Vegetable species	Number of commercial products	Active ingredients
Potato	8	Metam-sodium, carbofuran and fenamiphos
Carrot	7	Metam-sodium, carbofuran, and fosthiazate
Peppers	1	Fluensulfone
Tomato	3	Metam-sodium, carbofuran and fenamiphos

Source: BRASIL - Agrofit (2019).

Currently, the adoption of biological nematicide products is growing, and products with a satisfactory control level are being incorporated into the market, especially in combination with chemicals, resulting in lower environmental impacts and improvements in control efficiency. Table 5 shows the number and active ingredients of the main formulated biological nematicides registered.

Table 5: Biologic nematicides registered at the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply (MAPA) for the control of nematodes in vegetable species.

Number of formulations	Active ingredients
20	Pasteuria, Bacillus, Pochonia, Paecilomyces, Trichoderma

Source: BRASIL - Agrofit (2019).

Associated to biological control, the identification and incorporation of nematode resistance genes in vegetable cultivars by breeding programs are important in order to develop and market resistant cultivars and contribute to the reduction use of pesticides. Several nematode resistance genes have been reported in vegetable species. Some genes confer resistance to more than one species of nematode (Table 6).

Table 6: Resistance genes to *Meloidogyne* spp. identified and used in vegetable species.

Vegetable species	Genes	Meloidogyne species	References
Lettuce	Me	<i>M. incognita</i> raça 1, 2, 3 e 4	GOMES (1999)
Potato	<i>Rmc1</i> (<i>Solanum bulbocastanum</i>) <i>MfaXIIspl</i> (<i>Solanum sparsipilum</i>)	<i>M. chitwoodi</i> ; <i>M. hapla</i> ; <i>M. fallax</i> ; <i>M. incognita</i>	BROWN et al. (1996); JANSSEN et al. (1997); KOUASSI et al. (2006)
Carrot	Mj-1	<i>M. incognita</i> ; <i>M. javanica</i>	BOITEUX et al. (2000)
Peppers	Me1; Me3; Me4; Me7; <i>Mech1</i> ; <i>Mech2</i> , <i>N</i>	<i>M. arenaria</i> ; <i>M. incognita</i> ; <i>M. javanica</i>	DJIAN-CAPORALINO et al. (2007)
Tomato	Mi-1-Mi-9	<i>M. arenaria</i> , <i>M. incognita</i> e <i>M. javanica</i>	SMITH (1944) WATTS (1947); YAGHOUBI et al. (1995)

In the case of the Mi gene, after more than 60 years, Brazilian breeding programs still use this important source for the development of tomato cultivars resistant to *Meloidogyne spp.* In the development of resistant cultivars, wild plants belonging to the Solanaceae family have been studied for resistance to soil diseases such as bacterial wilt [*Ralstonia solanacearum* (Smith.) Yabuuchi et al.], Phytophthora wilt (*Phytophthora capsici* Leonian), fusarium wilt (*Fusarium spp.* Link ex Gray) and mainly nematodes (MATTOS et al., 2011; PINHEIRO et al., 2011), constituting a potential use as rootstocks resistant to these pathogens, mainly *M. enterolobii* Yang and Eisenback. However, the knowledge of the genes involved in the resistance reactions of wild solanaceae evaluated for the root-knot nematode and the defense mechanisms involved in these interactions needs further studies, as well as compatibility studies with scarlett eggplant, eggplant, tomato, sweet pepper and other species used as rootstocks.

Damage caused by nematodes in vegetables may be potentiated as there are reports of interactions of root-knot nematode species with important soil pathogens that cause major diseases in vegetables such as *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi, *Erwinia carotovora* (Jones) Holland. (Syn: *Pectobacterium carotovorum*), *Fusarium spp.* Link ex Gray, *Fusarium solani* (Martius) Saccardo, *Pythium Pringsheim*, among others (Table 7).

Table 7: Interaction of some nematode species with pathogens in vegetables.

Pathogen	Vegetable species	Nematode	Reference
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Okra	<i>M. javanica</i>	CHARCHAR; LOPES (1995)
<i>Ralstonia solanacearum</i>	Potato	<i>M. incognita</i>	BEKHET et al. (2010)
<i>Erwinia carotovora</i> subs. <i>carotovora</i> (<i>Pectobacterium carotovorum</i>)	Carrot	<i>M. incognita</i>	SOWMYA; RAO (2011)
<i>Fusarium</i>	Tomato	<i>M. javanica</i> e <i>M. incognita</i>	BERGESON et al. (1970); MORRELL; BLOOM (1981)
<i>Verticillium dahliae</i>	Potato	<i>M. hapla</i>	MACGUIDWIN; ROUSE (1990)
<i>Fusarium solani</i>	Pepper	<i>M. incognita</i>	AHMED; SHAHAB (2013)

Finally, for the sustainable production of vegetables and the reduction of caused impacts, an integration of different actions is utmost necessary. This change can lead Brazil to embrace opportunities, being the main reason why the country needs to improve its competitiveness and explore new markets. Although the government and the productive chain made concerted efforts to redress the balance by investing in R&D, plant health regulations, novel agricultural inputs, and in other activities, PPN are hugely significant to the this sector economy, still needing advances in their management, technology development/adoption and associated areas.

Literature Cited

AHMED, D.; SHAHAB, S. "Pathogenic potential of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and root-rot fungus *Fusarium solani* on chilli (*Capsicum annuum* L.). **Archives of Phytopathology and Plant Protection** v. 46, n. 18, p. 2182-2190, 2013.

- ALI, M., MATSUZOE, N.; OKUBO, H.; FUJIEDA, K. Resistance in non-tuberous *Solanum* to root-knot nematode. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 60, p. 921-926, 1992.
- BARKER K. R. Introduction and synopsis of advancements in nematology. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAM, G. L. (Ed.). **Plant and nematode interactions**. Madison: American Society of Agronomy, p. 1- 20, 1998.
- BARKER, K. R.; SHOEMAKER, P. B.; NELSON, I. A. Relationship of initial population densities of *Meloidogyne incognita* and *M. hapla* to yield of tomato. **Journal of Nematology**, v. 8, p. 232-239, 1976.
- BEKHET, M. A.; KELLA, A. M.; KHALIL, A. E.; TOHAMY, A. A. Interaction between root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* and the bacterium, *Ralstonia solanacearum* on Potato. **Journal Plant Protection and Pathology**, v. 1, n. 7, p. 505-518, 2010.
- BERGESON, G. B., VAN GUNDY, S. D.; THOMASON, I. J. Effect of *Meloidogyne javanica* on rhizosphere microflora and *Fusarium* wilt of tomato. **Phytopathology**, v. 60, p. 1245–1249, 1970.
- BOERMA, H. R.; HUSSEY, R. S. Breeding plants for resistance to nematodes. **Journal Nematology**. v. 24, p. 242-252, 1992.
- BOITEUX L. S. 2000. Characterization of the *Meloidogyne javanica* resistance locus employing molecular markers and isolation of candidate disease resistance loci in the carrot (*Daucus carota* L.) genome. Dissertation, University of Wisconsin, 2000.
- BOITEUX, L. S.; BELTER, J. G.; ROBERTS, P. A.; SIMON, P. W. RAPD linkage map of the genomic region encompassing the root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) resistance locus in carrot. **Theor Appl Genet**, v.100, p.439–446, 2000.
- BOITEUX, L. S.; CHARCHAR, J. M. Genetic resistance to root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) in eggplant (*Solanum melongena*). **Plant Breeding (short communication)**, v. 115, p. 198-200, 1996.
- BRANDÃO FILHO, J. U. T.; FREITAS, P. S. L. de; BERIAN, L. O. S.; GOTO, R. (Org.). **Hortaliças-fruto**. Maringá: Eduem, 2018. 535 p. il.
- BRASIL.BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 41, de 1º de julho de 2008, e alterações posteriores. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. (acesso em: 28 jul. 2019).
- BRASIL. AGROFIT: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários, 2019 - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, MAPA.
- BROWN, C. R.; C-P YANG, C.-P.; MOJTAHEDI, H.; SANTO, G. S.; MASUELLI, R. RFLP analysis of resistance to Columbia root-knot nematode derived from *Solanum bulbocastanum* in a BC2 population. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 92, p. 572–576, 1996.
- CARES, J. E.; LOPES, C. M. L. 2018. Nematologia no contexto internacional e brasileiro: ameaças à sustentabilidade da agricultura e à segurança alimentar. p.22-27. In. ARAÚJO FILHO, J.V.; GOMES, C.B.; DIAS-ARIEIRA, C.R.; BELLÉ, C.; MOCCELLIN, R. (Eds.) **Anais do 35º Congresso Brasileiro de Nematologia: problemas emergentes e estratégias de manejo**. Bento Gonçalves, RS. Brasília, DF: Embrapa., 239p.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; BRAGA, R. S.; ALMEIDA, C. A.; GIORIA, R. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* parasitando plantas de tomate e pimentão resistentes à Meloidoginose no estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 81-86, 2006.

CARVALHO, L. M. de; BENDA, N. D.; VAUGHAN, M. M.; CABRERA, A. R.; HUNG, K.; COX, T.; ABDO, Z.; ALLEN, L. H.; TEAL, P. E. A. Mi-1-mediated nematode resistance in tomatoes is broken by short-term heat stress but recovers over time. **Journal of Nematology**, v. 47, n. 2, p. 133-140, June, 2015.

CHARCHAR, J. M. *Meloidogyne* em hortaliças. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE NEMATOLOGIA TROPICAL, 19., 1995, Rio Quente., **Programa e Anais...** Brasília: SBN, 1995. p. 149-153.

CHARCHAR, J. M. NEMATOIDES EM HORTALIÇAS. Circular técnica 18, Embrapa hortaliças, nov. 1999.

CHARCHAR, J. M.; HUANG, C. S.; SOBRINHO MENEZES, J. A.; LOPES, C. A. Nematóide fitoparasitas associadas à planta de alho (*Allium sativum* L. e *A. ampeloprasum* L.), coletados nos principais estados produtores do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 5, n. 1, p. 105-114, 1980.

CHARCHAR, J. M.; LOPES, C. A. Associação de *Meloidogyne javanica* com *Sclerotium rolfsii* em quiabeiro no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 1, p. 77, 1995.

CHARCHAR, J. M.; TENENTE, R. C. V.; ARAGÃO, F. A. S. Resistência de cultivares de alho (*Allium sativum*) a *Ditylenchus dipsaci*. **Nematologia Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 179-184, 2003.

CHARCHAR, J. M.; HUANG, C. S.; SOBRINHO MENEZES, J. A.; LOPES, C. A. Nematóide fitoparasitas associados à plantas de alho (*Allium sativum* L. e *A. ampelorasum* L.), coletados nos principais estados produtores do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 5, n. 1, p. 105-114, 1980.

CHITWOOD, B. G. 1951. Root-Knot nematodes – II. Quantitative relation of the root-knot nematode – *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949, with tomato, onions and lima beans. **Plant and Soil**, v. 3, p. 47-50, 1951.

COOK, R. Resistance in plants to cyst and root-knot nematodes. **Agricultural Zoology Reviews**, v. 4, p. 213-240, 1991.

DECKER, H. **Phytonematologie**. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin (DE). 1969.

DI VITO, M.; ZACCHEO, G.; CATALANO, F. Source of resistance to root-knot nematodes (*Meloidogyne* sp.) in eggplant. VIII th Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding on Capsicum and Eggplant, p. 7-10, September 1992, Rome, Italy. **Capsicum Newsl.** (special issue), p. 301-303, 1992.

DJIAN-CAPORALINO, C.; FAZARI, A, ARGUEL MJ, VERNIE T, VANDECASTEELE C, FAURE I, BRUNOUD G, PIJAROWSKI L, PALLOIX A, LEFEBVRE V, ABAD P. Root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) Me resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) are clustered on the P9 chromosome. **Theoretical & Applied Genetics**, v.114, p.473–486, 2007.

DJIAN-CAPORALNIO, C.; FAZARI, A.; ARGUEL, M. J.; VEMIE, T.; VANDECASTEELE, C.; FATURE, I. Root-Knot nematode (*Meloidogyne* spp.) Me resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) are clustered on the P9 chromosome. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 114, p. 473-486, 2007.

ELLING, A.A. 2013. Major Emerging Problems with Minor *Meloidogyne* Species, **Phytopathological**, v.103, pl1092–1102.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA.. BERINJELA (*Solanum melongena* L.). Sistemas de produção, 3, versão eletrônica (editores) REIS, A.; LOPES, C. A.; MORETTI, C. L.; RIBEIRO, C. S da C.; CARVALHO, C.M.M.; FRANÇA, F.H.; VILLAS BÓAS, G. L.; HENZ, G. P.; SILVA, H. R.; BIANCHETTI, L.de B.; VILELA, N. J.; MAKISHIMA, N.; FREITAS, R. A.; SOUZA, R. B.; CARVALHO, S. I. C de.; BRUNE, S. MAROUELLI, W. A.; NASCIMENTO,

W. M.; PEREIRA, W.; MELO, W. F de. Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Berinjela/Berinjela_Solanum_melongena_L/index.html. 2007

EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. EMATER-MG. Coeficientes técnicos. Disponível em: <<http://www.emater.mg.gov.br>>. Acesso em: 14 abr. 2010.

FERRAZ, L. C. C. B.; CHURATA-MASSA, M.G.C. Comportamento de cultivares de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*, Mill) de crescimento determinado em relação ao nematoide *Meloidogyne incognita* (Kofoid; White, 1919). **Revista Científica**, v. 11, n. 1, p. 87-91, 1983.

GILBERT, J. C.; McGUIRRE, D. C. Inheritance of resistance to severe root-knot from *Meloidogyne incognita* in commercial-type tomatoes. **Proceedings of American Society of Horticultural Science**, v. 68, p. 437-442, 1956.

GOMES, L. A. A. Herança da resistência da alface (*Lactuca sativa* L.) cv. Grand Rapids ao nematóide de galhas *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil, 1999.

GUBINA, V. G. (Ed.). **Nematode of plants and soils: genus *Ditylenchus***. Karashi: Saad Publications, 1988. 397 p.

JANSSEN, G. J. W, VAN NOREL, A.; JANSSEN, R.; HOOGENDOORN, J. Dominant and additive resistance to the root-knot nematodes *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax* in Central American *Solanum* species. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 94, p. 692–700, 1997.

JOHNSON, A. W.; ROBERTS, P. A. Diseases Caused by Nematodes. p. 35-40. In: SCHWARTZ, H. F.; MOHAN, S. K. (Ed.) **Compendium of Onion and Garlic Diseases**. 1995. St. Paul: American Phytopathological Society

KHAN, M. W.; HAIDER, S. H. Comparative damage potential and reproduction efficiency of *Meloidogyne javanica* and races of *M. incognita* on tomato and eggplant. *Nematologica*, v. 37, p. 293-303, 1991.

KHAN, Z., GAWADE, B.H., KANDAN, A. **Resistant Cultivars: An option for Environment-friendly Management of Plant Parasitic Nematodes**, ICAR-National Bur. Plant Genet. Resour. New Dellh. 2015. <http://www.biotecharticles.com/Agriculture-Article/Resistant-Cultivars-Environment-friendly-Management-of-Plant-Parasitic-Nematodes-3438.html> (acesso em 24 de março de 2019).

KOENNING, S. R., OVERSTREET, C., NOLING, J. W., DONALD, P. A., BECKER, J.O.; FORTNUM, B. A. Survey of crop losses in response to phytoparasitic nematodes in the United States for 1994. **Journal of Nematology**, v. 31, p. 587–618. 1999.

KOUASSI, A. B.; KERLAN, M. C., CAROMEL B., DANTEC J. P.; FOUVILLE, D.; MANZANARES-DAULEX M.; ELLISSECHE, D.; MUGNIERY D. A major gene mapped on chromosome XII is the main factor of a quantitatively inherited resistance to *Meloidogyne fallax* in *Solanum sparsipilum*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 112, p. 699-707, 2006.

LIMA, R. D.; DIAS, W. P.; CASTRO, J. M. C. Doenças Causadas por Nematóides em Cucurbitáceas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 182, p. 57-59, 1995.

LORDELLO, L. G. E. **Nematóides das plantas cultivadas**. São Paulo, Nobel, 197 p., 1978.

MACGUIDWIN, A. E.; ROUSE, D. I. Effect of *Meloidogyne hapla*, alone and in combination with subthreshold populations of *Verticillium dahliae*, on disease symptomology and yield of potato. **Phytopathology**, v. 80, p. 482–486, 1990.

- MAI, W. F. Plant-parasitic nematodes: their threat to agriculture. IN: SASSER, J.N.; CARTER, C. C. (Ed.). *An Advanced treatise on Meloidogyne*, Volume 1: Biology and Control, p. 11-17. North Carolina State University Graphics, Raleigh. 1985.
- MATTOS, L. M.; PINHEIRO, J. B.; MENDONCA, J. L.; SANTANA, J. P. 2011. Wild Solanaceae: Potential for the use as rootstocks resistant to root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.). **Acta Horticulturae**, v. 917, p. 243-247, 2011.
- MCSORLEY, R.; ARNETT, J. D.; BOST, S. C.; CARTER, W. W.; HAFEZ, S.; JOHNSON, A. W.; KIRKPATRICK, T.; NYCZEPIR, A. P.; RADEWAD, J. D; ROBINSON, A. F.; SCHMITT, D. P. Bibliography of estimated crop losses in the United States due to plant-parasitic nematodes. **Annals of Applied Nematology**, v. 1, p. 6-12., 1987.
- METLITSKY, O. Z. Stem nematode race parasitic on cultivated strawberries. In: STRAWBERRY cultivation in the USSR. Izdatelstvo: [s.n.], 1972. p. 422-426.
- MORRELL, J. J.; BLOOM, J. R. Influence of *Meloidogyne incognita* on *Fusarium* wilt of tomato at or below the minimum temperature for wilt development. **Journal Nematology**, v. 13, p. 57-60, 1981.
- NICOL, J.M.; TURNER, S.J.; COYNE, D.L.; DEN NIJS, L.; HOCKLAND, S.; MAAFI, Z.T. 2011. Current Nematode Threats to World Agriculture, In: **Genomics Mol. Genet. Plant-Nematode Interact**, p. 347-367.
- NOLING, J. W., BECKER, J. O. The challenge of research and extension to define and implement 1005 alternatives to methyl-bromide. **Journal Nematology**, v. 26, p. 573-586, 1994.
- NUGENT, P. E.; DUKES, P. D. Root-knot nematode resistance in *Cucumis* species. **HortScience**, v. 32, n. 5, p. 880-881, 1997.
- OLIVEIRA, C. M. G.; ROSA, J. M. O.; GIORIA, R.; BRAGA, K. R. B. Nematoides. In: BRANDÃO FILHO, J. U. T.; FREITAS, P. S. L. de; BERIAN, L. O. S.; GOTO, R. (Org.). **Hortaliças-fruto**. Maringá: Eduem, 2018. 315-338 pp.
- PARLEVLIT, J. E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. **Annual Review of Phytopathology**, v. 17, p. 203-222, 1979.
- PINHEIRO, J. B.; MENDONCA, J. L.; SANTANA, J. P. Reaction of Wild Solanaceae to *Meloidogyne incognita* Race 1 and *M. javanica*. **Acta Horticulturae**, v. 917, p. 237-241, 2011.
- RAO, M.S.; UMAMAHESWARI, R.; PRITI, K.; RAJINIKANTH, R.; GRACE, G.N.; KAMALNATH, M.; et al. 2016. Role of Biopesticides in the Management of Nematodes and Associated Diseases in Horticultural Crops, In: **Plant, Soil Microbes**, Springer International Publishing, Cham, p. 117-148.
- RAVICHANDRA, N.G. Horticultural Nematology, Springer India, New Delhi, 2014.
- REGIONAL IPM PROJECT. Nematodos. In: **Integrated pest management for potatoes in the western United States**, p. 108-116, 1986.
- ROBERTS, P. A. Current status of the availability, development, and use of host plant resistance to nematodes. **Journal Nematology**, v. 24, p. 213-227, 1992.
- ROBERTS, P. A.; MAY, D. *Meloidogyne incognita* resistance characteristic in tomato genotypes developed for processing. **Journal of Nematology**, v. 18, p. 352-359, 1986.
- ROBERTS, P. A.; THOMASON, I. J. Variability in reproduction of isolates of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* on resistant tomato genotypes. **Plant Disease**, v. 70, p. 547-551, 1986.

- ROBERTS, P. S.; DALMASSO, A.; CAP, G. B.; CASTAGNONE-SERENO, P. Resistance in *Lycopersicon peruvianum* to isolates of Mi gene compatible *Meloidogyne* populations. **Journal Nematology**, v. 22, p. 585-589, 1990.
- SANTOS, B. B.; LOZANO, L. A. L. Ocorrência de *Ditylenchus dipsaci* (Nematoda: Tylenchidae) em alho no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 2, p. 113, 1988.
- SASSER, J. N. Economic importance of *Meloidogyne* in tropical countries. In: LAMBERTI, F.; TAYLOR, C. E. (Ed.). **Root-knot nematodes (*Meloidogyne* species): Systematics, biology and control**. London: Academic Press, p. 256-268, 1979.
- SAYRE, R. M.; TOYAMA, T. K. The effect of root-knot nematodes on the yield of processing tomatoes. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 44, p. 265-267, 1964.
- SEINHORST, J. W. Population studies on the eelworm (*Ditylenchus dipsaci*), **Nematologica**, Leiden, Holanda, v. 1, p. 159-164, 1956.
- SILVA, L. A. T.; ANTONIO, H.; SANTOS, B. B. Ocorrência do *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn, 1857) Filipjev, 1936 (Nematoda: Tylenchidae) em cultura do alho no Paraná, Brasil. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 59, n. 1, p. 29-33, 1984.
- SMITH, P.G. **Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.** 44:413-416, 1944.
- SOWMYA, D. S.; RAO, M. S. Biotechnological approaches for bio-management of disease complex in carrot (*Daucus carota* L.) by using fluorescent pseudomonads and *Paecilomyces lilacinus*. National Nematology Symposium on “**Nematodes: A Challenge Under Changing Climate and Agricultural Practices**”, 16th-18th November, 2011, Thiruvananthapuram, Kerala, India, pp. 143-144, 2011.
- STURHAN, D. Biological races. In: ZUCKERMAN, B. M.; MAI, W. F.; ROHDE, R. A. (Ed.). **Plant parasitic nematodes**. London: Academic, v. 2. p. 51-57, 1971.
- TENENTE, R. C. V.; VIANELLO, R. P.; PINHEIRO, F. P. Reprodução de *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn, 1857) Filipjev, 1936 em diferentes plantas hospedeiras no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, SP, v. 24, n. 1, p. 87-90, 2000.
- TRUDGILL, D. L. Resistance and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 29, p. 167-192, 1991.
- VRAIN, T. C, FOURNIER, Y.; CRÊTE, R. Carrot yield increases after chemical control of root-knot nematode in organic soil. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 61, p. 677-682, 1981.
- WATTS, V. M. The use of *Lycopersicon peruvianum* as a source of nematode resistance in tomatoes. **Proceedings of American Society of Horticultural Science**, v. 49, p. 233-234, 1947.
- YAGHOUBI, J.; KALSOSHIAN, I.; WEN, Y.; WILLIAMSON, V. M. Mapping a new nematode resistance locus in *Lycopersicon peruvianum*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 91, p. 457-464, 1995.

CAPÍTULO 12 - MANEJO DE RESISTÊNCIA A DOENÇAS NO AGRONEGÓCIO

Fernando Gilioli¹

1 Histórico

De forma prática e convencional as empresas do agronegócio, produtoras e sintetizadoras de moléculas agroquímicas, sempre posicionaram suas tecnologias no manejo de doenças, pragas e controle de ervas daninhas de forma a obter estrategicamente, o melhor retorno possível para suprir todo o investimento realizado para a obtenção da molécula e formulação do produto comercial. São implementadas ações de estrutura de investimento em marketing e desenvolvimento de produtos, plano de acesso ao mercado, aquisição de pesquisas de segmentos de mercado para melhor entender o nicho de melhor valor a ser explorado, comunicação visual de campanhas de vendas, demonstrações a campo e até campanhas de incentivos para a distribuição e força de vendas interna.

Entendendo que estamos falando de estratégia de acesso ao mercado depois que um produto é lançado comercialmente, após ter passado por todo o processo de investigação de molécula com eficácia ideal, apelo ambiental positivo, toxicidade aceita, características de boa aplicabilidade, aprovação em órgãos responsáveis e liberação para comercialização (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA e Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA) muitas vezes, a questão da estratégia assertiva se encontra no contexto onde os vários Departamentos de uma companhia detentora de uma molécula, devem estar alinhados para que esta nova tecnologia tenha longevidade e permaneça o máximo de tempo possível gerando retorno para a manutenção de uma determinada estrutura.

Hoje em dia, existem vários exemplos de ocasiões em que apenas um desalinhamento entre o Departamento de Pesquisa de uma empresa, na comprovação de que determinada molécula a ser lançada deva ser aplicada em uma determinada dose, baseada na eficácia de controle e segurança obtida, seja desconsiderada por outro Departamento da mesma empresa, como por exemplo o Departamento Comercial, alegando simplesmente que para aquele devido posicionamento para qual a molécula se propõe, há que se fazer uma ajuste na dose comercial para que a mesma se encaixe nos custos aceitáveis dos demais produtos já existentes para aquele determinado segmento. A consequência de um desalinhamento desses pode ser desastrosa para a empresa e gerar inclusive custos elevados para que se busque uma alternativa em salvar aquela molécula mal posicionada no mercado.

Um exemplo clássico e muito comum de acontecer no mercado é o erro de posicionamento de doses de um produto, onde a expectativa do mercado em conhecer alternativas cada vez mais sofisticadas e com alta performance de manejo, acaba sendo frustrada devido à baixa performance fornecida, em muitos casos, por um erro na dose. E qual o impacto disso?

¹ Engenheiro Agrônomo – Desenvolvimento de Mercado UPL Brasil

Dessa forma, por muito tempo a questão do manejo de resistência de doenças por exemplo, não foi devidamente considerada importante, visto que o interesse primordial das empresas se baseava na exploração ao máximo e no retorno de uma determinada molécula por longos anos, sendo comercializada inclusive de forma isolada. O conceito de controle químico de doenças de plantas é, em muitos casos, a única medida eficiente e economicamente viável para garantir as altas produtividades e qualidade de produção, visadas pela agricultura moderna. Tal conceito levou as empresas de agroquímicos do mercado, durante muitos anos, a desconsiderarem fatores relacionados aos conceitos de manejo de resistência. A resistência a fungicida se desenvolveu como um grande problema pela primeira vez, na década de 1960, em sementes tratadas com compostos organomercuriais (NOBLEET et al., 1966). No final da década de 1970, essa situação estava causando efeitos graves e ameaçava o uso de muitos produtos de química semelhantes de diferentes fabricantes. Assim, a indústria iniciou nos anos 1980 um grande esquema de colaboração com a formação do Comitê de Ação de Resistência a Fungicida (FRAC), a fim de coordenar estratégias de gerenciamento de resistência para áreas da química com risco de desenvolvimento de resistência.

2 O Cenário dos Grupos Químicos Diante da Resistência de Doenças

Os defensivos agrícolas são essenciais para a obtenção de produtividade e qualidade nas lavouras de diversos cultivos (SERRA et al., 2016). Sendo assim, estes produtos são indispensáveis no atual cenário da agricultura mundial para que se consiga alimentar a população global. Estima-se que em 2050, a população mundial aumentará em até 35%, com isso, a produção agrícola terá que duplicar para alimentar toda a população (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura – FAO 2016).

Por esse motivo, a agricultura moderna necessita considerar todo e qualquer detalhe na busca por melhores produtividades sem expansão de área plantada. Pensando assim, a questão da manutenção da performance dos fungicidas atualmente utilizados é um ponto chave para a manutenção da qualidade e produtividade no agronegócio. Se pensarmos que existem doenças que podem dizimar lavouras levando a um colapso por falta de alimento, haja visto o ocorrido na Europa, onde a batata que era o alimento de base principal em várias partes do mundo, especialmente na Irlanda, por conta do patógeno *Phytophthora infestans*, causador da doença requeima que atacou em larguíssima escala as lavouras, resultando na Grande Fome de 1845-1849 na Irlanda. Um período marcado pela fome, doenças e emigração em massa em que a população da Irlanda se reduziu entre 20 e 25%.

Este tópico abordará aspectos acerca da identificação de resistência de doenças aos grupos químicos dos fungicidas, sendo exemplificado pelo cenário da cultura da Soja, após uma sequência de descobertas de resistência da Ferrugem Asiática da Soja.

Ao longo dos anos, muito se aprendeu com os estudos acerca do manejo da Ferrugem Asiática da Soja. A ameaça que sempre representou desde o seu surgimento em meados dos anos de 2002 e 2003, nos remeteu a estudos profundos desde então e até os dias de hoje ainda

aprendemos ano a ano como lidar com esta doença. Um exemplo clássico do que essa doença na cultura da Soja induziu, foi o surgimento do então conhecido “Consórcio Antiferrugem”, uma instituição criada e conduzida pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA.

2.1 O Exemplo na Prática

O mercado brasileiro de defensivos agrícolas passou por uma revolução após o surgimento de uma doença que se apresentou como devastadora de início na cultura da Soja, essa doença é a Ferrugem Asiática (*Phakopsora pachyrhizi*). A importância econômica da Ferrugem Asiática no Brasil pode ser avaliada pela sua rápida expansão, virulência e pelas perdas causadas. Ao nível de propriedade, frequentemente, atingiu níveis de perda total pela inviabilidade da colheita. Na safra 2005/06, a doença causou prejuízos acumulados em cerca de US\$ 8 bilhões. Desde que apareceu pela primeira vez no Brasil em 2002, confirmou-se como principal problema da safra, com ocorrência em praticamente todo o território brasileiro, com exceção do Amapá. Já na safra de 2011/2012, de acordo com a Associação de Produtores de Soja do Estado de Mato Grosso, os prejuízos para esta safra foram de até R\$ 1 bilhão.

Até então o surgimento desta doença, pouco se sabia como manejar a mesma e a classe pesquisadora se viu diante de um grande pesadelo, passando a inverter toda linha de pensamento na elaboração de estratégias de combate a doença. Ao longo dos primeiros anos de seu surgimento, a forma de combate da doença adotada pelo mercado foi o uso imediato de associações de grupos químicos dos Triazóis ao das Estrobirulinas. As empresas fabricantes do setor, durante os primeiros anos de surgimento da doença, não conseguiam se estabelecer com estoques para a safra e conseqüentemente os preços dos produtos disponíveis dispararam no mercado.

Além do manejo com defensivos agrícolas, outras técnicas de manejos também foram adotadas com o decorrer do tempo visando controlar a Ferrugem Asiática da Soja. Épocas de plantios tardios, por exemplo, devem ser evitadas pois a cultura fica mais exposta às condições favoráveis ao desenvolvimento da doença.

Paralelo a este período as empresas fabricantes começaram a desenvolver moléculas com o propósito do controle da Ferrugem Asiática da Soja em um ritmo acelerado, passando todos os projetos para o desenvolvimento de seus produtos como ordem prioritária nos órgãos responsáveis pela aprovação de uso dos mesmos. No entanto, até então todas as alternativas se baseavam apenas em produtos prontos a base de Triazóis com Estrobirulinas. Nos anos seguintes uma sequência de produtos formulados a base desta mistura começou a ser utilizado de forma acentuada durante as safras de Soja. A consequência disso foi uma rápida adaptação do fungo da Ferrugem Asiática da Soja aos grupos químicos utilizados.

A “Resistência” do patógeno começou a ser facilitada por uma sequência de aplicações destes produtos formulados, onde o mesmo começou a dar os primeiros sinais de resistência ao grupo químico dos Triazóis. A resistência é transmitida geneticamente e resulta de uma ou mais mutações no fungo alvo. Quando a resistência se torna um problema prático, as

mutações geralmente provocam uma alteração no sítio alvo bioquímico, fazendo com que a ligação do fungicida seja menos efetiva, ou até que não ocorra. Essas mutações gênicas principais resultam em altos níveis de resistência e, embora a grande maioria esteja associada a alguma dificuldade de adaptação, ou mesmo letalidade, nem sempre isso acontece. As mutações podem ocorrer em genes nucleares ou, como no caso dos fungicidas Estrobilurinas recentemente introduzidos, em genes mitocondriais. Quando está envolvida resistência de gene principal, a recombinação genética entre os parentais resistentes e os não mutantes gera duas classes distintas de progênie, e nenhuma progênie com sensibilidade intermediária. A seleção para resistência de gene principal geralmente resulta em um rápido declínio da eficiência.

A resistência em muitos patógenos é bioquimicamente possível, embora em diversos casos somente seja estudada em mutantes resistentes gerados em laboratório. A natureza exata das alterações dos aminoácidos nas proteínas alvo que causam resistência somente é conhecida no caso dos fungicidas Benzimidazóis, DMI e Estrobilurina. Outros mecanismos, além de alterações no local alvo, também podem provocar resistência. A desintoxicação metabólica de fungicidas raramente é encontrada, talvez porque os fungos não possuem mecanismos de excreção e enzimas necessárias para gerar metabólitos polares que possam ser expelidos por vias aquosas. Mas como os outros organismos, os fungos possuem um sistema de proteínas que transpõe a membrana e que está envolvido tanto na absorção de nutrientes como no efluxo de moléculas indesejáveis.

É possível que alguns alvos bioquímicos apresentem baixo risco de resistência. Existem fungicidas cujos mutantes resistentes podem ser gerados em laboratório, ou mesmo encontrados em populações de campo, mas sua frequência é baixa. Vejamos a tabela abaixo que cita um pouco do histórico de algumas resistências já identificadas:

Tabela 1
Ocorrência de Resistência Prática aos Fungicidas em Plantas Cultivadas*

Data da primeira observação (aprox.)	Fungicida ou Classe do fungicida	Anos de uso comercial antes da observação de resistência (aprox.)	Principais doenças em plantas cultivadas e patógenos afetados	Refs+
1960	Hidrocarbonetos aromáticos	20	Bolor verde e azul em Citros, <i>Penicillium</i> spp	[10]
1964	Organo-mercuriais	40	mancha amarela ou crestada das folhas de cereais, <i>Pyrenophora</i> spp.	[11]
1969	Dodine	10	Sarna da macieira, <i>Venturia inaequalis</i>	[12]
1970	Benzimidazóis	2	Multas doenças-alvo e patógenos	[13]
1971	2-Amino-pirimidinas	2	Oídio do pepino e da cevada, <i>Sphaerotheca fuliginea</i> & <i>Erysiphe graminis</i>	[14]
1971	Kasugamicina	6	Brusone do arroz, <i>Magnaporthe grisea</i>	[15]
1976	Fosforotiolatos	9	Brusone do arroz, <i>Magnaporthe grisea</i>	[15]
1977	Trifeniltinas	13	Mancha da folha da beterraba açucareira, <i>Cercospora betae</i>	[16]
1980	Fenilamidas	2	Requeima da batata e mildio da videira, <i>Phytophthora infestans</i> & <i>Plasmopara viticola</i>	[17]
1977	Trifeniltinas	13	Mancha da folha da beterraba açucareira, <i>Cercospora betae</i>	[16]
1980	Fenilamidas	2	Requeima da batata e mildio da videira, <i>Phytophthora infestans</i> & <i>Plasmopara viticola</i>	[17]
1982	Dicarboximidas	5	Mofa cinzento da videira, <i>Botrytis cinerea</i>	[18]
1982	Inibidores da desmetilação de esteroi (DMIs)	7	Oídio do pepino e da cevada, <i>Sphaerotheca fuliginea</i> & <i>Erysiphe graminis</i>	[19]
1985	Carboxanilidas	7	Carvão da cevada, <i>Ustilago nuda</i>	[20]

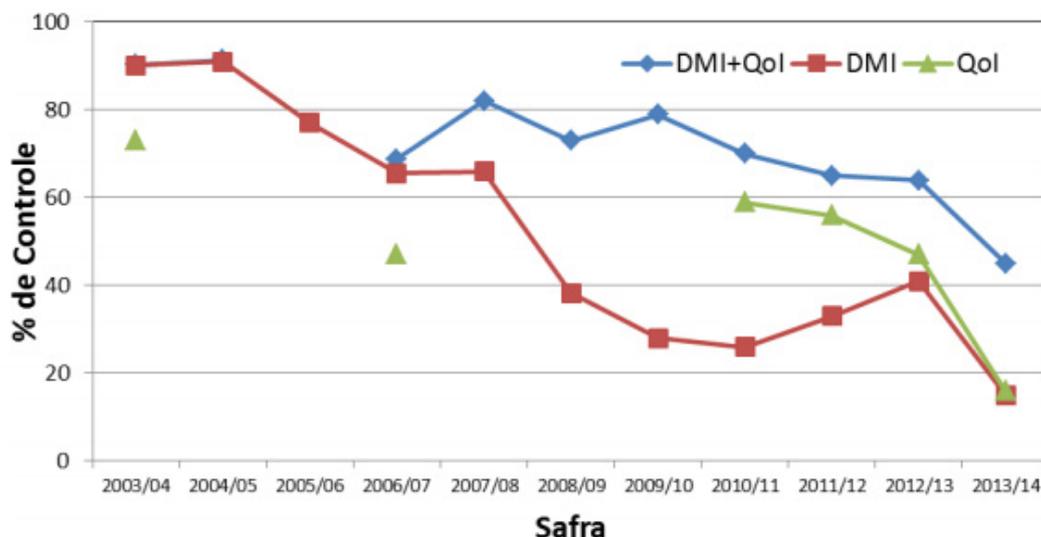
* Modificado de [3] + Referências gerais, nem sempre primeiro registro.

2.2 Adoção de Fungicidas de Ação Multissítio

Muito tem sido realizado na busca por driblar a resistência que amedronta o setor, uma vez que mesmo as novas opções de produtos formulados a serem lançados, se enquadram em grupos químicos já existentes e utilizados no mercado.

Após este cenário já ter suas características bem definidas na cultura da Soja, por um bom tempo o mesmo manejo de doenças na cultura ainda se deu por conta dos produtos formulados a base de Triazóis e Estrobirulinas (misturas prontas). Até o momento em que estes dois grupos químicos tiveram suas respectivas resistências identificadas (Triazóis em período de 6 anos e Estrobirulinas em um período de 10 anos). Vejamos abaixo a divulgação publicada pelo Consórcio Antiferrugem, após a safra 2013/14 (Figura 1):

Figura 1: Porcentagem de controle da ferrugem-asiática da soja com fungicidas DMI (tebuconazol), QoI (azoxistrobina) e mistura de DMI + QoI (ciproconazol + azoxistrobina), avaliada no período de 2004 a 2014.



Fonte: Consórcio Antiferrugem.

Hoje analisando a disponibilidade de citação de produtos disponíveis para o manejo da Ferrugem Asiática na Soja, temos o exemplo do Consórcio Antiferrugem que cita da seguinte forma: “Os fungicidas utilizados no controle da ferrugem pertencem a três grupos distintos: os Inibidores de desmetilação (IDM, “Triazóis”), os Inibidores da Quinona externa (IQe, “Estrobilurinas”) e os Inibidores da Succinato Desidrogenase (ISDH, “Carboxamidas”). Ao ser identificada no Brasil, no ano de 2001, a Ferrugem Asiática foi controlada com a aplicação de fungicidas Triazóis isolados e misturas de Triazóis e Estrobilurinas. Desde 2008, ingredientes ativos isolados não são recomendados em decorrência da seleção de populações do fungo menos sensíveis aos fungicidas IDM, sendo recomendados somente misturas comerciais de fungicidas com diferentes mecanismos de ação.

A partir da safra 2013/14, uma redução de eficiência foi observada para a Estrobilurina isolada nos ensaios cooperativos. Nessa mesma safra foram registradas as primeiras misturas de fungicidas Estrobilurinas e Carboxamidas para a cultura da Soja. Em 2017, o FRAC comunicou a detecção de uma mutação na subunidade C na posição I86F no fungo *P. pachyrhizi*. Essa mutação foi associada a menor eficiência de fungicidas contendo ISDH observada nos ensaios na região Sul, na safra 2016/17.

Fungicidas multissítios foram avaliados quando a Ferrugem Asiática foi relatada no Brasil. No entanto, em função da menor eficiência de controle comparado aos fungicidas IDM e misturas de IDM + IQe nesses testes, foram desconsiderados para o controle da Ferrugem Asiática. Com a redução de eficiência dos IDM e das misturas de IDM + IQe, fungicidas multissítios têm sido registrados para o controle de doenças na Soja e sua utilização vem aumentando em associação aos fungicidas sítio-específicos.

A aplicação do fungicida deve ser realizada preventivamente ou após os sintomas iniciais da doença na lavoura ou região. A decisão sobre o momento de aplicação (sintomas iniciais ou preventiva) deve ser técnica, levando em consideração os fatores necessários para o apa-

recimento da Ferrugem Asiática (presença do fungo na região, idade das plantas e condição climática favorável), a logística de aplicação (disponibilidade de equipamentos e tamanho da propriedade), a presença de outras doenças e o custo do controle. O atraso na aplicação, após constatados os sintomas iniciais, pode acarretar em redução de produtividade, caso as condições climáticas favoreçam o progresso da doença. O número e a necessidade de reaplicações vão ser determinados pelo estágio em que for identificada a doença na lavoura e pelo período residual dos produtos.

Pouco se fazia ou se conhecia sobre o manejo da Ferrugem da Soja sem ser através do uso destes dois principais grupos químicos (Triazóis e Estrobirulinas), até que então uma das empresas do setor de produção de defensivos agrícolas começou a desenvolver um trabalho de posicionamento com o uso de Fungicidas de Ação Multissítio, mais especificamente com o uso do fungicida “Mancozebe”.

A estratégia desta companhia para inserir esta ferramenta no manejo de doenças foi muito bem arquitetada e baseada em fatos inquestionáveis pela classe de pesquisadores. Após testes em laboratórios promissores não houve dúvidas sobre a necessidade de se verificar a campo o que se via em laboratório. O fato é que, ao se recomendar a associação dos fungicidas com modo de ação multissítio (como exemplo o Mancozebe) aos fungicidas de ação em sítios específicos (Triazóis e Estrobirulinas), começou-se a notar uma melhora na eficácia de manejo da Ferrugem Asiática em percentuais significativos. Mesmo após a inclusão de outro grupo químico no circuito para manejo da doença, o grupo químico das Carboxamidas, em pouco mais de 3 anos de uso já se registrava uma possibilidade de resistência da Ferrugem Asiática da Soja, também a este grupo. Então o mesmo grupo químico passou a ser incluído aos demais sobre a recomendação de rotação e associação a uso com fungicidas multissítios.

Tal façanha inclusive ajudou a inserir esta companhia como uma das mais conhecidas no setor, com evolução exponencial no mercado. Mas o fato que mais chamou atenção é que ao decorrer do tempo, muitas empresas, inclusive esta, nunca haviam pensado que exercendo uma simples técnica de manejo de resistência onde os ensinamentos sempre preconizaram dessa forma, pudesse ter e ser reconhecida perante o mercado. Um dos fatores que impediram por muito tempo, que o conceito de manejo de resistência através do uso de fungicidas multissítios ao longo dos anos fosse adotado, foram os interesses comerciais no uso de moléculas de alta rentabilidade e de fácil produção e manuseio a campo, caso dos produtos comerciais utilizados por muitos anos, compostos de associações de fungicidas Triazóis e Estrobirulinas. Também existia um fator relacionado a questão de capacidade de produção de moléculas em alta escala para atender o mercado de Soja, onde se produzir uma molécula em que a dose a ser utilizada versus o tamanho do mercado geraria uma necessidade de produção em alta escala de volume.

O FRAC, Comitê de Ação e Resistência a Fungicidas, chegou a publicar um comunicado sobre adoção de boas práticas de manejo, inserindo como uma das indicações a associação do fungicida de ação multissítio aos demais com ação em sítios específicos, como podemos ver abaixo:

Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas - FRAC-
Brasil
Rodovia SP 340, km 141, Holambra, São Paulo
13825-000
CNPJ/ME nº 03.554.109/0001-69



Holambra, 01 de dezembro de 2017

Prezado (a) Sojicultor (a),

Considerando a **identificação precoce da ferrugem asiática da soja** nesta safra, os **atrasos no plantio** em função das chuvas e o atual cenário de **evolução da redução de sensibilidade** desta doença aos grupos químicos de mecanismo de ação específico mais utilizados hoje, o FRAC-BR vem através deste alerta-lo quanto a necessidade de adoção de boas práticas de manejo:

- Esteja atento ao monitoramento constante das doenças da soja, especialmente a ferrugem, e realize as aplicações em intervalos adequados seguindo as recomendações do fabricante;
- Realize a aplicação dos fungicidas de forma preventiva, **sempre** em associação com fungicidas multissítios;
- Utilizar sempre **misturas comerciais** formadas por **dois ou mais fungicidas** com mecanismos de ação distintos;
- Rotacione fungicidas com diferentes mecanismos de ação (Triazóis, Estrobilurinas, Carboxamidas, Morfolinas e Multissítios.)
- Não ultrapasse o número máximo de 2 (duas) aplicações de fungicidas de mecanismo de ação específico no mesmo ciclo de cultivo;
- Utilize tecnologia de aplicação adequada
- Não plante soja "safrinha"
- Respeite o vazio sanitário e elimine as plantas voluntárias remanescentes em lavouras e beiras de estrada (guaxas)
- Procure realizar o plantio na época recomendada, utilizando variedades de ciclo mais curto e se possível, com tolerância genética frente à doença;
- Realize a rotação de culturas;

Estas recomendações são essenciais para se preservar a manutenção da eficácia dos fungicidas, uma tecnologia indispensável para o cultivo da soja no Brasil.

Uma excelente safra a todos!

Para maiores informações consulte www.frac-br.org

Atenciosamente,

FRAC Brasil

1 de 1

3 Cenas do Próximo Capítulo

Hoje, após este cenário ter se tornado uma realidade no mercado de Soja por exemplo, se analisarmos outros cultivos é como se disséssemos que nos cultivos de hortifrúti (HF) sempre realizamos esta modalidade de uso dos fungicidas multissítios associados aos fungicidas de ação em sítio específico (Fungicidas sistêmicos). É como dizer que o mercado de Cereais passou a incrementar e adotar medidas que o setor de HF já fazia a muito tempo. Afinal de contas sempre se manejou doenças no HF como a Requeima da Batata (*P. infestans*) por exemplo, com os tradicionais fungicidas para este alvo, sempre associado ao fungicida multissítio. Muitas ve-

zes o que acontece no HF é até ao contrário do que hoje utilizamos no combate à Ferrugem da Soja. Na verdade os manejos se iniciam com as aplicações de fungicidas multissítios e quando o cenário vai se tornando mais favorável para a evolução da doenças, aí sim se intensificam o uso de fungicidas mais específicos. Este paralelo também se refere ao número de aplicações que se realizam nestes cultivos, que são em números bem maiores do que nos cultivos de Cereais atualmente. Fica a pergunta “Será que esta condição de manejo não se inverterá um dia também para a cultura da Soja?”. Não há que se discordar de nenhuma possibilidade, afinal tal fato já foi colocado em pauta inclusive pelo pesquisador Erlei Melo Reis, Professor da disciplina de Fitopatologia na Universidade de Passo Fundo no Rio Grande do Sul, em apresentações e livros publicados por ele, e também foi publicado pelo Professor Ricardo Silverio Barlardin o livro “Mancozebe muito além de um fungicida” em 2017, que relata em detalhes como esta molécula atua e suas várias questões positivas no manejo de doenças.

O fato é que este cenário de manejo de resistência pode e deve ser utilizado também em outros cultivos, uma vez que a questão “Resistência” de doenças a fungicidas não está relacionada a cultivos. No caso da cultura do Café por exemplo, utiliza-se os mesmos produtos a mais tempo ainda do que na cultura da Soja, para manejo da Ferrugem do Cafeeiro (*Hemileia vastatrix*). Não seria provável que o mesmo cenário estaria acontecendo também neste cultivo? Na verdade, não temos até hoje um fato comprovador de que ocorre a questão da “Resistência” da Ferrugem do cafeeiro aos fungicidas, porém nos últimos anos ocorre na prática uma maior dificuldade de se manejar esta doença. Tal fato pode ser ocasionado na cafeicultura pelas condições de manejo onde a calendarização de aplicações pode levar o cafeicultor ao erro no manejo, assim como há o questionamento sobre a eficácia dos fungicidas aplicados via foliar ou via solo. Onde há fumaça pode haver fogo, assim se encontra o atual dilema neste cultivo, quanto a questão do manejo de Ferrugem do cafeeiro. Um exemplo de que algo pode estar acontecendo de fato, é um trabalho publicado pela UFLA (Universidade Federal de Lavras) nos anais do 44º Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras com o tema “Mancozebe em mistura com fungicidas no controle da Ferrugem, Cercosporiose e Mancha de Phoma do cafeeiro visando manejo de resistência, uniformidade na florada e maiores produtividades”, que evidenciou uma evolução na eficácia de controle das doenças e propiciou uma melhor disponibilidade de planta para a safra seguinte.

Muito ainda há por se fazer para que os manejos de doenças com o uso de fungicidas sejam melhor aproveitados a campo, gerando melhores níveis de controle, maiores intervalos de aplicações e redução no número de aplicações ao longo dos ciclos dos cultivos, porém também há muito que se entender sobre a questão de resistência de doenças em vários cultivos. Ainda bem que a ciência e tecnologia pode contar com o apoio da iniciativa privada para que estes estudos sejam fomentados, onde mesmo que estes possuam os seus interesses individuais, é de onde surge muito do que temos de informações importantes para o fomento da agricultura nacional.

Referências

- BALARDIN, R. S. Mancozebe muito além de um fungicida. 1ª Edição. Santa Maria-RS. Editora AgriSchool. 2017.
- H. Kimati. **Manual de Fitopatologia**. Vol 1. 3ª Edição. São Paulo-SP. Editora Ceres. 1995.
- IAMAUTI, M. **Descoberta e desenvolvimento de fungicidas**. ESALQ, 2014. Disponível em: <https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/2268912/mod_resource/content/1/Fungicidas.pdf>. Acesso em: 20 set. 2019.
- Mancozebe em mistura com fungicidas no controle da Ferrugem, Cercosporiose e Mancha de Phoma do cafeeiro visando manejo de resistência, uniformidade na florada e maiores produtividades**. 2018. Serra Negra-SP. Anais do 44º Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras. Editora Procafé. 2018.
- Manual de Procedimentos para Registro de Agrotóxicos, MAPA 2012**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumosagropecuarios/insumosagricolas/agrotoxicos/arquivos/manual-de-procedimentos-para-registro-de-agrotoxicos.pdf/view>>. Acesso em: 23/10/2019.
- Necessidade de adoção de boas práticas de manejo da ferrugem asiática da Soja**. Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas – FRAC. Disponível em https://docs.wixstatic.com/ugd/85b-1d3_47e1623b6ebd4948adaf6da3b0ec6cae.pdf. Acesso em 21/10/2019.
- Novas recomendações para o manejo da ferrugem asiática da soja. Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas – FRAC. Disponível em <https://www.frac-br.org/patogenos-de-plantas-cultivadas> Acesso em 20/10/2019.
- Procedimentos para avaliação de agrotóxicos e afins**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Meio Ambiente – MAPA. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em 20/10/2019.
- Produtos para controle. Consórcio Antiferrugem. Disponível em: <http://www.consorcioantiferrugem.net/#/conteudos/view/11> Acesso em 18/10/2019.
- Regulação**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/agrotoxicos>. Acesso em 20/10/2019.
- Resistência a fungicidas em patógenos de plantas cultivadas: como manejá-la?**. Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas – FRAC. Disponível em <https://www.frac-br.org/patogenos-de-plantas-cultivadas>. Acesso em 21/10/2019.
- Resistência a fungicidas revisões e conceitos**. Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas – FRAC Disponível em: <https://www.frac-br.org/definicoes-e-conceitos>. Acesso em 20/10/2019.
- Segurança química**. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/seguranca-quimica.html>. Acesso em 23/10/2019.
- SERRA, L. S., MENDES, M. R. F., SOARES, M.; MONTEIRO, I. P. Revolução Verde: reflexões acerca da questão dos agrotóxicos. **Revista Científica do Centro de Estudos em Desenvolvimento Sustentável da UNDB**, v. 1, n. 4, jan/jul de 2016.

CAPÍTULO 13 - MERCADO DE PRODUTOS BIOLÓGICOS: UMA VISÃO ATUAL DA APLICAÇÃO NO TERRITÓRIO BRASILEIRO

Rafaela Araújo Guimarães¹

Julio Carlos Pereira da Silva²

Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros³

1 Introdução

O número de produtos biológicos vem crescendo desde 2008 quando houve o primeiro registro no Brasil. Assim, é possível observar o crescente número de produtos registrados, porém esse valor ainda é muito inferior quando se comparado com defensivos químicos. Na composição desses produtos biológicos, estão produtos de baixa toxicidade, menos nocivos à saúde humana com formulações compostas por organismos biológicos, microbiológicos, bioquímicos, semioquímicos ou extratos vegetais que, muitas vezes, podem ser aplicados na agricultura orgânica. Além disso, as formulações geralmente apresentam uma multiplicidade de alvos biológicos em diferentes culturas anuais e perenes (MAPA, 2019). Devido ao crescimento de problemas agrícolas sem soluções viáveis, juntamente a uma melhor legislação no controle de qualidade e registro, o controle biológico de pragas e patógenos é hoje uma realidade comercial, aplicável e eficiente no campo.

2 O Início do Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil

O controle biológico de doenças de plantas no Brasil teve seu marco inicial na ciência com publicação do artigo científico intitulado “Inativação do vírus do mosaico comum do fumo pelo filtrado de culturas de *Trichoderma* sp.” (Foster, 1950). No entanto, o primeiro produto disponível foi lançado apenas em 1987 à base de uma cepa de *Trichoderma viride* recomendado para controle de *Phytophthora cactorum* em maçã e desenvolvido pela Embrapa Clima Temperado. Outros produtos foram disponibilizados logo em seguida como o *Acremonium* spp. para o controle de *Camarotella torrendiella* (lixo do coqueiro) desenvolvido pela Empresa Shinobu Sudo em 1990 e o *Tricovab* (*Trichoderma stromaticum*) para o controle de *Moniliophthora perniciosa* (vassoura-de-bruxa) no cacaueteiro desenvolvido pela CEPLAC (Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira) em 2000. Porém, apenas em 2008 foi feito o primeiro registro de biofungicida comercial pelo Ministério da agricultura para o produto *Trichodermil*[®] (*Trichoderma harzianum* - cepa ESALQ1306 Itaforte Bioprodutos Ltda) com ação a múltiplos alvos biológicos (*Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, *Pratylenchus zaei*, *Rizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Thielaviopsis*

1 Pós- Doutoranda do Programa de Pós-Graduação, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 37200-000, Lavras MG. rafaela_argui@hotmail.com.

2 Professor, Departamento de Defesa Fitossanitária, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria RS.

3 Professor, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras MG. flaviohvmedeiros@gmail.com.

paradoxa) (Morandi & Bettiol, 2009). Hoje este mesmo produto ainda é comercializado, porém pela Koppert Biological Systems.

Dentro do panorama de crescimento do controle biológico, a América Latina, em especial Brasil, México, Chile e Argentina são os mercados de maior destaque. Até 2021, espera-se um crescimento de mais de 40% de uso de biológicos. Neste cenário, o Brasil terá ainda maior crescimento devido à diversidade de cultivos, clima, pragas e doenças. Fato que, com a adoção do Manejo Integrado de Doenças e Pragas (MIDP) aproximou ainda mais o controle biológico dos produtores que antes contavam apenas com ferramentas de controle químico, físico e cultural nas lavouras brasileiras. Ainda assim, algumas mudanças precisam ser feitas para o aumento do uso do controle biológico em áreas brasileiras como, a disponibilidade de novos registros e aumento do número de empresas, que são fatores diretamente ligados a aceitação da tecnologia como uma ferramenta para o produtor rural (Barsari & Claudino, 2019).

A partir do uso e aceitação do controle biológico como uma tecnologia aplicável, o que vem acontecendo no momento é o processo de difusão e transferência de tecnologia. A difusão vem sendo feita por propagandas pela mídia, dias de campo, ensaios em rede e outras formas de divulgação. Depois dessa divulgação são feitos os chamados “*market share*” mostrando a situação atual das empresas que atuam dentro do segmento de biológicos e qual fatia participativa dessas empresas dentro do mercado brasileiro. Já a transferência de tecnologia vem sendo normalmente feita dentro do setor de pesquisa e desenvolvimento de multinacionais (fora da atuação no ramo de biológicos) que desejam desenvolver *portfolio* para produtos biológicos e também empresas já ligadas ao segmento de insumos biológicos no desenvolvimento de novos produtos.

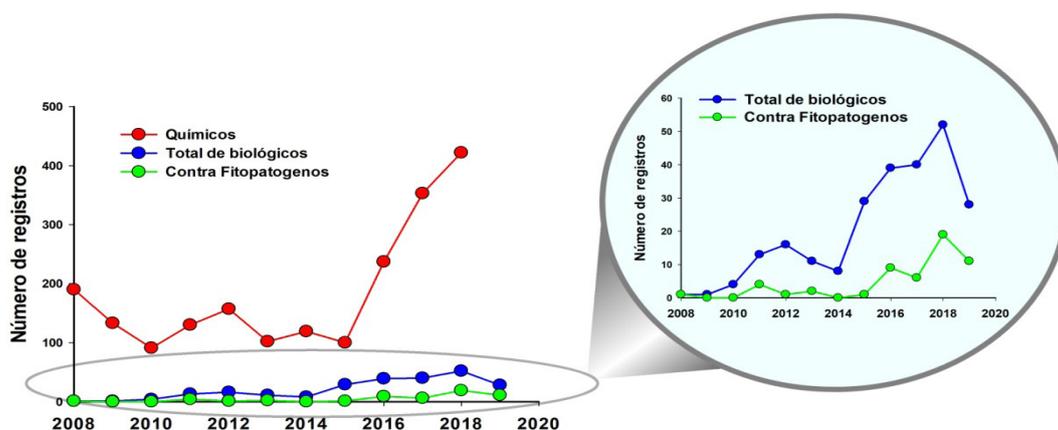
Outra realidade dentro do controle biológico é o uso de fermentações *on farm* ou também chamada de produção caseira, em que os próprios produtores multiplicam os microrganismos dentro de suas propriedades (ABCBio, 2019). Esta é uma prática que vem aumentando principalmente entre grandes produtores, pois estes podem fazer grandes investimentos, principalmente em fermentadores e infraestrutura. Entretanto a fermentação *on farm* ainda é uma atividade que não garante a mesma qualidade obtida nos processos industriais, pois muitas vezes não se tem as condições controladas e a inspeção necessária presentes nos procedimentos industriais, que podem levar até mesmo a uma maior multiplicação de organismos contaminantes do que agentes de controle biológico (Valicente et al. 2018).

3 Os Números do Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil

A aplicação do controle biológico de doenças e pragas constitui-se em uma das principais alternativas para a redução da aplicação de produtos químicos e de resíduos presentes em produtos alimentares. O manejo integrado por produtos biológicos, químicos e outros métodos auxiliam na redução do surgimento de novas raças pela diminuição da pressão seleção causada pelo uso intensivo de compostos químicos mais específicos. No entanto, uso de produtos químicos no controle de pragas e doenças de plantas ainda é muito mais difundido em relação ao uso de produtos biológicos. Existem registrados no Ministério da Agricultura mais de dois mil produtos químicos para o controle de pragas e doenças, enquanto os produ-

tos biológicos divididos em inseticidas, fungicidas, acaricidas, bactericidas e nematocidas chegam a 242 (AGROFIT, 2019). Mesmo assim, esse número de produtos biológicos representa um crescimento de 42% em relação ao ano de 2017, onde 122 produtos eram registrados como biocontroladores de pragas e doenças (Medeiros et al., 2018). As pesquisas e o envolvimento da indústria agrícola no controle biológico são recentes quando comparados ao controle químico, o que acaba refletindo nesta discrepância numérica de produtos registrados (Figura 1). No passado, essa situação acontecia, principalmente, pelo pouco conhecimento do manejo de produtos biológicos no campo. Ao contrário de produtos químicos, por vários anos, houve dificuldade em se reproduzir os resultados obtidos em laboratório no campo. Isso levava a uma menor aceitação pelo produtor, principalmente em grandes culturas. Entretanto, os estudos com microrganismos antagônicos a pragas e doenças de plantas aumentaram nos últimos anos, graças a ferramentas biomoleculares e a aplicação prática em grandes áreas de produção, tendo como reflexo o crescimento da indústria de produtos biológicos. Enquanto o mercado de defensivos químicos apresentou queda global de 6% na produção (US\$ 64 bilhões) em 2018, o saldo mundial do controle biológico foi 17% maior que o alcançado no ano anterior. No Brasil, no início de 2018, o mercado de produtos biológico movimentou quase R\$ 528 milhões (MAPA, 2019). Foram 52 produtos biológicos registrados em 2018 e 28 produtos registrados em 2019 até o momento (ABCBio, 2019). Dos 28 produtos registrados em 2019, dez são para o controle de fitopatógenos como fungos e nematoides (Figura 1).

Figura 1: Crescimento dos registros de agrotóxicos químicos e biológicos contra pragas e fitopatógenos no Brasil.



Com o crescimento da demanda no mercado aumenta o interesse de empresas do agronegócio. Tanto empresas nacionais como multinacionais com sede no Brasil têm investido massivamente no mercado de biológicos para o controle de fitopatógenos. Um dos fatores atrativos para as empresas é o investimento necessário para registro. Para registro de um produto químico o investimento pode chegar a 250 milhões de dólares, enquanto um defensivo biológico necessita de um investimento de cerca de 10% desse valor. Além dos gastos, outras vantagens dos biológicos chamam a atenção das empresas como tempo para o registro e a maior facilidade para entrada no mercado. Existem 17 empresas no Brasil com registros de produtos biológicos para o controle de doenças de plantas totalizando 54 produtos registrados a base de microrganismos atualmente para o controle de fitopatógenos. Esses produtos são divididos em nematocidas, fungicidas e bactericidas (Tabela 1).

Tabela 1: Produtos biológicos registrados para o controle de doenças de plantas no Brasil (AGROFIT, 2019).

Classe	Microrganismo antagonista	Produtos*(Empresa)	Ano de Registro	
Biofungicida	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Ecoshot (Ihara Bras.)	2016	
		Quartz (Lallemand-Farroupilha)	2018	
		Duravel (BASF)	2018	
		Twixx (Agrivalle)	2019	
	<i>B. amyloliquefaciens</i> / <i>T. harzianum</i>	Native/Shocker (Agrivalle)	2018	
	<i>Bacillus pumilus</i>	Sonata (Bayer S.A.)	2011	
	<i>Bacillus subtilis</i>	Biolmune (Biovalens)	2018	
	<i>Trichoderma asperellum</i>	Trichodermax EC (Novozymes)	2011	
		Organic (Lallemand-Farroupilha)	2016	
		Quality (Lallemand-Farroupilha)	2011	
		Bio-Hulk (Biovalens)	2019	
		TrichoTurbo (Biovalens)	2018	
		Rizoderma (Ballagro)	2019	
		<i>Trichoderma harzianum</i>	Tricovab (CEPLAC - MAPA)	2012
			Ecotrich (Ballagro)	2013
			Predatox (Ballagro)	2015
			Stimucontrol (Simbiose Agro)	2016
	Trianum (Koppert)		2017	
	Daytona (Koppert)		2018	
	Majestic (Ballagro)		2018	
	Walker (Koppert)		2018	
	Bio Zenon (Simbiose)		2019	
	Natucontrol (Nufarm)		2019	
Trychonyd (TZ Botech)	2019			
Gaia Bio (Simbiose)	2019			
Trichodermil - Trichodermil Super/ DS (Koppert)	2008-2018			
Biofungicida e bactericida	<i>Bacillus pumilus</i>	Serenade (Bayer S.A.)	2011	
	<i>Bacillus subtilis</i>	Biobac (Biovalens)	2016	

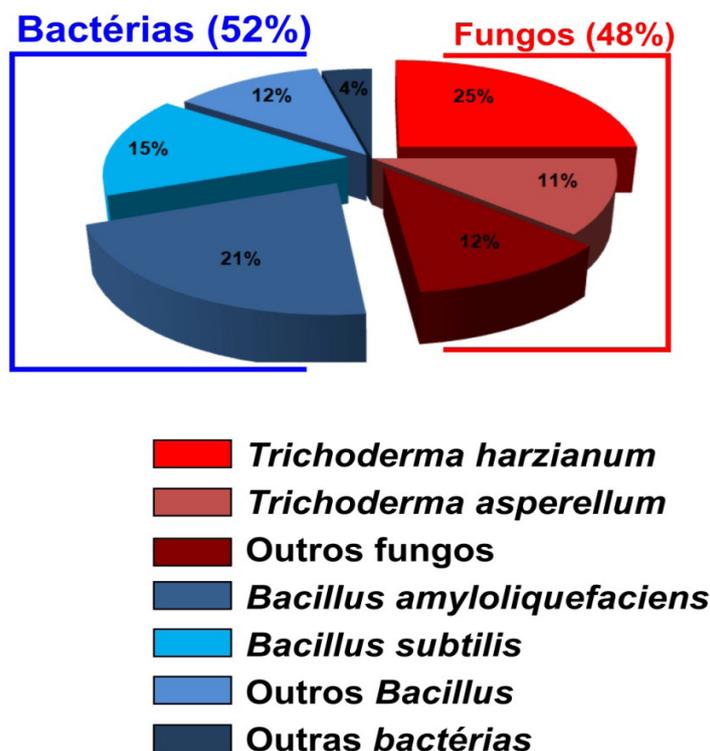
Continua...

Tabela 1 (continuação)

Classe	Microrganismo antagonista	Produtos*(Empresa)	Ano de Registro
Bionematicida	<i>Pasteuria nishizawae</i>	Clariva PN (Syngenta)	2017/2018
		NemaControl (Simbiose)	2016
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Eficaz Nema (Simbiose)	2018
		Duravel (BASF)	2018
		PFC-Control (Simbiose)	2018
		No-nema (Biovalens)	2018
		Oleaje Prime (BASF)	2017
	<i>Bacillus firmus</i>	Andril Prime (BASF)	2017
		Votivo/Prime (Bayer)	2016/2017
	<i>Bacillus methilotrophicus</i>	Onix/OG (Lallemand - Farroupilha)	2017/2018
	<i>Bacillus subtilis</i>	Biobaci (Biovalens)	2018
		Rizos/OG (Lallemand - Farroupilha)	2016/2016
		Quartzo (FMC)	2019
		Profix (Agrivalle)	2019
		Presence (FMC)	2019
	<i>Pochonia chlamydosporia</i>	Rizotec (Rizoflora Biotec.-Stoller)	2016
	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Nemat (Ballagro)	2013
		NemaKill (Maneogene)	2018
		Unique (Ballagro)	2018
		Purpureonyd FR (TZ Biotech)	2019
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	Diamond (Lallemand - Farroupilha)	2018	

* Não estão inclusos aqueles em fase de registro ou com registro temporário e produtos a base de extratos vegetais.

A maioria dos produtos biológicos registrados no Brasil são à base de bactérias do gênero *Bacillus* e fungos do gênero *Trichoderma* (Figura 2). O gênero *Bacillus* é o maior detentor de registros, chegando a 48% dos produtos registrados devido ao sucesso principalmente no controle de patógenos de solo. Oito produtos apresentam isolados de *Bacillus amyloliquefaciens*, representando a maior porcentagem de produtos à base de bactérias (21%). Em relação aos fungos, as espécies *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma asperellum* englobam 36% dos produtos registrados para controle de fitopatogenos. No último ano o crescimento de registro de biológicos aconteceu pelo aumento em princípios fungicos como *Trichoderma* spp. e *Paecilomyces lilacinus* registrados como biofungicidas e bionematicidas.

Figura 2: Porcentagem de produtos à base de fungos e bactérias registrados no Brasil contra fitopatógenos.

4 Principais Inovações do Uso do Controle Biológico

O crescente mercado de controle biológico de doenças de plantas proporcionou o surgimento de diversas empresas que trabalham com linhas de produtos semelhantes. Com um padrão diferencial, algumas empresas têm investido em pesquisa para trazer novos produtos e/ou serviços, além de trazer o incentivo e a inovação do setor através de estratégias como aceleradores de *startups*.

Um dos caminhos mais recorrentes proposto pela inovação é a busca por novos agentes de controle biológico e/ou desenvolvimento de novos produtos para alvos ainda não contemplados. O uso de *Pochonia chlamydosporia* (Rizotec®, Rizoflora/Stoller) para manejo de nematoides foi um caso de sucesso proposto pela inovação. Apesar de já ter sido relatado na literatura anteriormente (meados da década de 70), não havia nenhum produto cujo ativo era essa espécie no mercado brasileiro. Sendo assim, essa proposta de produto rapidamente conquistou o mercado nacional. Essa diferenciação também está se dando pelo desenvolvimento de produtos para alvos ainda inéditos no controle biológico, principalmente para alguns patógenos de parte aérea, como no caso a ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) que teve recentemente um biofungicida registrado a base de *Bacillus subtilis* (Bioimune®, Biovalens/Grupo Vittia).

Os produtos biológicos, principalmente aqueles oriundos de fermentação líquida, são compostos por dois ativos, as células do microrganismo e o metabólito produzido durante o processo de fermentação. Assim, é de conhecimento que ambos os ativos têm papel muito importante no manejo da doença sendo que, os metabólitos têm uma ação imediata de inibição do crescimento do fitopatógenos alvo ou podem atuar por indução de resistência. Enquanto isso, as células

(conídios ou endósporo) irão se estabelecer na superfície do tecido vegetal, competindo por nutrientes, evitando o estabelecimento da doença e garantindo um efeito residual na proteção. Neste sentido, todas as empresas têm investido na otimização das condições de fermentação para aumento do número de células por volume, mas poucas ainda se preocupam com os metabólitos gerados pelos microrganismos. Mesmo trabalhando com um mesmo isolado microbiano como ativo, empresas concorrentes podem chegar a produtos diferentes pela simples otimização das condições de fermentação. Além disso, as propriedades dos inertes e adjuvantes agregados na formulação final irão garantir a estabilidade da formulação e a vida de prateleira.

Em relação à viabilidade do propágulo durante o armazenamento e, também, à sua maior sobrevivência após aplicação, muitas pesquisas vêm sendo realizadas. No entanto, estas pesquisas não são divulgadas por publicações científicas e representam muitas vezes o grande diferencial do produto, como no caso de formulações do tipo granulado dispersível (WG), onde a única disponível no mercado é a cepa de *Trichoderma asperellum* (Quality® Lallemand/Farroupilha). Além de ser uma formulação diferente da demais por garantir maior estabilidade do produto, possui também protetor solar contra raios ultravioleta. Esta formulação garante maior sobrevivência do produto quando aplicado sobre o filoplano, que é um ambiente de constantes mudanças (temperatura, umidade e exposição solar). Outro diferencial entre as formulações seria em relação à tolerância às condições de acondicionamento do produto antes da distribuição como temperatura de transporte e refrigeração (uso de embalagem com isolamento térmico), além do tempo de prateleira que muitas vezes é o grande desafio para formulações de biológicos.

Mesmo um produto de alta eficiência, com exclusividade no mercado em relação aos alvos e com processos industriais otimizados, podem apresentar um controle insatisfatório da doença na ausência de uma tecnologia de aplicação adequada e de um posicionamento técnico correto de aplicação. Pensando nisso, uma empresa desenvolveu um aplicador de produto no sulco de plantio com sistema que monitora sua saída. O foco da aplicação com este equipamento visa o controle de patógenos radiculares como nematoides e fungos. Para estes alvos, temos registrados no ministério da agricultura mais de 50% dos produtos e como uma estratégia de inovação, foi desenvolvido um aplicador de sulco (SimbioseJet® Simbiose) que permite não apenas acompanhar a dose aplicada como também aplicar o produto a taxa variável, permitindo, por exemplo, que o produtor aplique o produto em maior dose nas reboleiras, onde se encontra maior pressão de inóculo dos patógenos radiculares. Apesar de inovadora, a iniciativa não supre a demanda de pesquisa e inovação em tecnologia de aplicação de produtos biológicos para proteção de plantas.

Uma vez aplicado o biológico, o produtor sempre fica em dúvida se o produto está viável e se existirá eficiência no manejo da doença. O controle de qualidade pós-venda é outra área de inovação ainda carente no desenvolvimento de metodologias eficientes. Algumas iniciativas nesse sentido foram propostas como o *kit mofo* em que empresas que comercializavam produtos para manejo do mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) entregavam placas de Petri aos produtores contendo meio semisseletivo para avaliação da eficiência de parasitismo dos escleródios tratados com o produto aplicado. Iniciativas dessa natureza têm sido propostas para outros alvos e representam uma segurança ao produtor em relação à qualidade e eficiência do produto.

Conclui-se que a pesquisa e inovação é um caminho promissor para criação de novas empresas que pretendem atuar no controle biológico de doenças de plantas. A busca por novas espécies ou cepas microbianas representa apenas um dos desafios para a inovação do mercado. Além do mais, muitas das empresas multinacionais possuem fundos de investimento em aceleradores de *startups* que vão apoiar a empresa desde a prova de conceito até a concepção de novos produtos ou tecnologias de aplicação dentro do controle biológico. A ideia é sempre transformar grandes ideias em produtos e/ou serviços que contribuam cada vez mais para que o controle biológico seja uma ferramenta importante para o manejo de doenças de plantas e garanta a sustentabilidade da produção agrícola brasileira.

5 Principais Contribuições do Controle Biológico de Doenças de Plantas para o Agronegócio

As principais contribuições do controle biológico de doenças de plantas além de ter efetividade no controle de doenças de plantas é o seu uso como aliado na resistência aos fungicidas (FRAC, 2019). O controle biológico caracteriza-se por ter múltiplos alvos biológicos, além de diferentes modos de ação, por isso quando usado corretamente no manejo integrado de doenças de plantas exercem papel protetor análogo aos fungicidas químicos multissítios, evitando o surgimento de isolados sensíveis a determinado princípio ativo.

Em relação à efetividade das formulações existem vários casos de sucesso, como, o uso de *Trichoderma* spp. (diferentes formulações) contra mofo branco (*S. sclerotiorum*) na cultura da soja. Neste caso, normalmente as formulações são aplicadas na parte aérea (estádios fenológico V3 e V6) para garantir o parasitismo dos escleródios produzidos nas últimas safras reduzindo assim as fontes de inóculo inicial da doença. Além de garantir resultado no parasitismo de escleródios reduzindo assim a germinação carpogênica, muitas vezes pode se observar promoção de crescimento das plantas de soja e até proteção contra outros patógenos que vivem no filoplasma. Desta forma, o manejo de mofo branco com isolados de *Trichoderma* spp. não é apenas uma tentativa de inserção do controle biológico dentro no manejo integrado de doenças e sim uma ferramenta insubstituível tanto para o controle da doença como também por gerar benefícios para as plantas de soja.

Nos últimos anos o aumento de áreas com alta infestação de fitonematoides colocou em evidência a importância de táticas viáveis para o controle desses patógenos. Nematicidas químicos são muito tóxicos ao ambiente e muitas vezes não garante redução populacional significativa, principalmente em culturas perenes. No entanto, produtos a base de fungos parasitas de ovos (*Purpureocillium*, *Pochonia* e até mesmo espécies de *Trichoderma*) e bactérias do gênero *Bacillus* estão se mostrando como as melhores armas no manejo desses patógenos em culturas como soja, café e cana-de-açúcar. Além disso, a tecnologia na produção e formulação de biológicos permitiu a produção em massa de *Pasteuria nishizawai* (Clariva PN®, Syngenta) para o controle do nematoide do cisto da soja. Os actinomicetos do gênero *Pasteuria* são parasitas obrigatórios e a formulação destes microrganismos sempre foi um desafio para a indústria e

a formulação desse microrganismo representou um avanço na produção de biológicos. Hoje os bionematicidas a base desses fungos e bactérias, juntamente com a venda do manejo e posicionamento adequados, são os principais produtos no portfólio de várias empresas de biológicos devido à alta eficiência no campo.

6 Perspectivas futuras do mercado

Dentro do grande momento atual do controle biológico, com aumento exponencial no mercado, a tendência é de uma expansão ainda maior. Para Associação Brasileira de Empresas de Controle Biológico (ABCBio) a expectativa é que em cinco anos, com ainda mais processo de difusão, mais tecnologias, novos produtos e ainda maior aceitação por parte dos produtores é que esse mercado cresça mais de 95%. Além de que, na nova era da agricultura, conhecida como “Agricultura 4.0” um dos pontos a serem seguidos é a redução do uso de agrotóxicos aliados ao aporte tecnológico com sistemas inteligentes, sendo assim duas ferramentas que vão atuar tanto na segurança alimentar quanto energética do país (Vasconcelos, 2018).

Referências

ABCBio. Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico. Associação brasileira das empresas de controle biológico projeta expansão do mercado. Disponível em www.abcbio.org.br/conteudo/publicacoes/. Acesso em 25 de outubro de 2019.

AGROFIT. http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em 25 de outubro de 2019.

Borsari, A. P., & Claudino, M. (2019). Mercado e percepção do produtor brasileiro. *AgroANALYSIS*, 38(10), 32-37.

FORSTER, R. Inativação do vírus do mosaico comum do fumo pelo filtrado de culturas de *Trichoderma* sp. *Bragantia*, v. 10, n. 5, p. 138-148, 1950.

MAPA (2019). <http://www.agricultura.gov.br/noticias/cresce-numero-de-registros-de-produtos-biologicos-para-uso-agricola>. Acesso em 27/10/2019.

MAPA. Mercado de biodefensivos cresce mais de 70% no Brasil em um ano. 2011 Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/feffmercado-de-biodefensivos-cresce-em-mais-de-50-no-brasil>.

Medeiros, Flávio Henrique Vasconcelos; Silva, Júlio Carlos Pereira; Pascholati, Sérgio Florentino: Controle Biológico de Doenças de Plantas. *In*: Amorim, Lilian; Rezende, Jorge Alberto Marques; Bergamim Filho, Armando (org.). **Manual de Fitopatologia**, Volume I, 5^o Edição. Ouro Fino-MG: Agronômica Ceres, 2018.

MORANDI, Marcelo Augusto Boechat; BETTIOL, Wagner. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. **Embrapa Meio Ambiente-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2009.

VALICENTE, Fernando Hercos et al. Riscos à Produção de Biopesticida à Base de *Bacillus thuringiensis*. **Circ Técnica EMBRAPA Milho e Sorgo. Sete Lagoas**, 2018.

Vasconcelos, Yuri (2018). Options on table. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/en/2019/02/26/options-on-the-table/>. Acesso em 28/10/2019.

XIX INTERNATIONAL SYMPOSIUM
ON PLANT DISEASE MANAGEMENT
PLANT HEALTH IN TROPICAL AGRIBUSINESS:
THE NUMBERS OF THE GIANT

RESUMOS



Organization



Sumário

Bacteriologia de Plantas

NANOPARTÍCULAS DE ZnO E ZnOCI NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE <i>Xanthomonas sp. in vitro</i>	175
---	-----

Biologia Molecular

COMPARATIVE GENOMICS OF THE PYRROLNITRIN GENE CLUSTER IN <i>Archaea</i> AND <i>Bacteria</i>	176
CARACTERIZAÇÃO <i>in silico</i> DE SEQUÊNCIAS CANDIDATAS À FLAGELLIN SENSING 2 (FLS2) EM <i>Coffea spp.</i>	177

Clínica e Diagnose

OCORRÊNCIA DE <i>Fusarium oxysporum</i> EM MOGNO AFRICANO NO BRASIL.	178
RELATO PRELIMINAR SOBRE A PODRIDÃO DOS CLADÓDIOS DE PITAIA VERMELHA NA FASE INICIAL DE CULTIVO EM SUBSTRATO ORGÂNICO	179
INCIDÊNCIA DE CERCOSPORIOSE EM PROGÊNIES DE CAFEEIROS DE GRÃOS GRAÚDOS “BIG COFFEE VL”	180
INTENSIDADE DE FERRUGEM E CERCOSPORA EM CULTIVARES DE <i>Coffea arabica</i> L.	181

Controle Alternativo

USO DE SUBPRODUTOS DA INDÚSTRIA CARVOEIRA NA REDUÇÃO DA SEVERIDADE DA MURCHA DE <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> RAÇA 3 EM TOMATEIRO	182
FOSFITO DE POTÁSSIO NO CONTROLE DA FERRUGEM DO FEIJOEIRO	183
PROFILE OF VOLATILE MOLECULES PRODUCED BY DIFFERENT <i>Bacillus</i> STRAINS ISOLATED FROM COCOA AND SISAL RHIZOSPHERE.	184
ENDOPHYTIC AND RHIZOSPHERIC BACTERIAL SPECIES <i>in vitro</i> POTENTIAL SCREENING FOR BIOLOGICAL CONTROL AGAINST <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> LAP2244	185
EFEITO DO SOMBREAMENTO NO MANEJO DA CERCOSPORIOSE DA BETERRABA	186
PRODUTOS ALTERNATIVOS NO MANEJO DO BOLOR VERDE EM LARANJAS PÓS-COLHEITA	187
EFEITO DE BICARBONATO DE POTÁSSIO NO CONTROLE DE OÍDIO DA ABOBRINHA.	188

Controle biológico

ANTAGONISMO DE RIZOBACTÉRIAS A FUNGOS FITOPATOGÊNICOS E SUA PRODUÇÃO DE ÁCIDO CIANÍDRICO, SIDERÓFOROS E ÁCIDO INDOL ACÉTICO.	189
EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF COMMERCIAL BIOLOGICAL PRODUCTS FOR MANAGEMENT SOIL-BORNE DISEASES IN COFFEE	190

NO ANTAGONISTIC EFFECT OF <i>Bacillus</i> STRAINS BY VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS ON BIOLOGICAL CONTROL AGENTS.....	191
GAINS OF CO-INOCULATION WITH BACTERIA IN SOYBEAN.....	192
MANAGEMENT OF COFFEE CERCOSPORIOSIS BY AFFORESTATION WITH FRUIT AND TREE SPECIES.....	193
QUANTIFICAÇÃO DE CÉLULAS FORMADORAS DE BIOFILME DE <i>Bacillus subtilis</i> EM HÍBRIDOS COMERCIAIS DE MILHO.....	194
<i>Bacillus subtilis</i> BV02 (BIO-IMUNE®) COMBINADO COM FERTILIZANTE MINERAL (NHT® COBRE SUPER) CONTROLA ANTRACNOSE NA SOJA.....	195
INFLUENCE OF FUNGICIDE AND ANTIBIOTIC ON SOIL MICROBIOME ANTAGONISTIC TO <i>Meloidogyne incognita</i>	196
Controle químico	
ETILFOSFONATO DE COBRE COMO REFORÇO AO FUNGICIDA FLUXAPIROXADE+PIRACLOSTROBINA PARA O MANEJO DO OÍDIO DA SOJA.....	197
ETILFOSFONATO DE COBRE ASSOCIADO A FUNGICIDAS NO MANEJO DO TOMBAMENTO EM FEIJOEIRO COMUM.....	198
Epidemiologia	
CORRELAÇÃO ENTRE INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE FERRUGEM E A QUALIDADE DE BEBIDA EM CAFÉ ARÁBICA.....	199
Indução de Resistência	
AVALIAÇÃO DO EFEITO DE FOSFITOS E FUNGICIDA COM O PROGRAMA DE PROTEÇÃO E NUTRIÇÃO DE CAFÉS, NO CONTROLE DE <i>Hemileia vastatrix</i> E PRODUTIVIDADE DO CAFEIEIRO.....	200
AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DE SORGO À HELMINTOSPORIOSE NO PARAGUAI.....	201
INDUCTION OF SOIL DISEASE SUPPRESSION TO THE SOILBORNE PATHOGEN <i>Bipolaris sorokiniana</i> IN WHEAT.....	202
TEOR DE FENÓIS SOLÚVEIS TOTAIS EM GENÓTIPOS CONTRASTANTES PARA RESISTÊNCIA À MANCHA AUREOLADA DO CAFEIEIRO.....	203
TEOR DE ÁCIDO CLOROGÊNICO EM GENÓTIPOS CONTRASTANTES PARA À MANCHA AUREOLADA DO CAFEIEIRO.....	204
<i>Bacillus</i> spp. STRAINS SELECTION WITH ANTAGONISTIC ACTIVITY AS POTENTIALS ELICITORS OF SYSTEMIC RESISTANCE AGAINST GRAY MOLD IN PEPPER PLANTS .	205

Nematologia

ACTIVE SYNTHESIZED CHALCONES IN VITRO AND IN VIVO AGAINST <i>Meloidogyne incognita</i> , AND <i>in silico</i> STUDIES	206
---	-----

Microbiologia Agrícola

EFICÁCIA DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS <i>in vitro</i> PARA O CONTROLE DE <i>Fusarium oxysporium</i>	207
---	-----

Patologia de Sementes

DETECÇÃO DE FUNGOS PATOGÊNICOS EM SEMENTES DE CANOLA COM E SEM GRAFITE.	208
QUALIDADE SANITÁRIA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES CRIOULAS DE FEIJÃO-GUANDU .	209

Virologia de Plantas

GEOGRAPHIC BARRIERS TO GENETIC RECOMBINATION: IMPLICATIONS ON THE EVOLUTIONARY DYNAMICS OF BEGOMOVIRUS SUBPOPULATIONS.	210
--	-----



Área: Bacteriologia de Plantas

NANOPARTÍCULAS DE ZnO E ZnOCI NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Xanthomonas* sp. *in vitro*

Fabiana Silva Fraga¹; Natália Silva Oliveira¹; José Magno Queiroz Luz²; Nilvanira Donizete Tebaldi³.

¹Mestranda- Programa de Pós-Graduação (fabianas.f@hotmail.com), do Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia; ²Doutor em Olericultura – UFU; ³Doutora em Fitopatologia – UFU.

O tomate é uma das principais hortaliças cultivadas e consumidas no Brasil. No entanto, a agressividade das bactérias (*Xanthomonas vesicatoria*, *X. euvesicatoria*, *X. gardneri* e *X. perforans*) causadoras da mancha bacteriana aliada ao baixo número de produtos químicos registrados contribuem para perdas na produção e na qualidade comercial do produto. Portanto, surge a necessidade de alternativas de controle, como a nanotecnologia com aplicação de nanopartículas como agente antibacteriano. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) e óxido de zinco com Cl (ZnOCl) em diferentes diluições na inibição do crescimento de *Xanthomonas* sp. *in vitro*. Após recuperar o isolado UFU A35 de *Xanthomonas* sp. anteriormente conservado em água, o mesmo foi cultivado por 24 horas a 28°C sob agitação em meio nutriente líquido. Posteriormente 10 mL da suspensão bacteriana (10^9 UFC/mL) foi adicionada ao meio de cultura 523 semi-sólido (0,8%) e então vertido em placas de Petri, contendo uma camada básica de ágar-água (2%). Sobre o meio já solidificado foram distribuídos 6 discos de papel filtro estéreis (6 mm) e sobre cada um foi adicionado 10 µL de cada nanopartícula a $0,1\text{g mL}^{-1}$ e diluída em série de 10^{-1} a 10^{-3} , e os controles positivo (antibiótico Cefalexina) e negativo (NaCl 0,45%) com 3 repetições. As avaliações foram feitas por medição dos halos de inibição (cm) ao redor dos discos de papel filtro com utilização de paquímetro, após incubação das placas por 96 horas a 28 °C. As nanopartículas de ZnO e ZnOCl independente da diluição inibiram o crescimento de *Xanthomonas* sp. *in vitro*. As nanopartículas de ZnO (1,71 cm) apresentaram maiores médias de halo de inibição em comparação ao ZnOCl (0,78 cm), sendo intermediária ao antibiótico (2,72 cm) e a solução salina (0,0 cm). Conclui-se que as nanopartículas de ZnO apresentaram capacidade de inibir o desenvolvimento de *Xanthomonas* sp. demonstrando seu efeito antibacteriano *in vitro*.

Palavras-chave: Controle; Mancha bacteriana; *Solanum lycopersicum*.

Apoio: FAPEMIG.



Área: Biologia Molecular

COMPARATIVE GENOMICS OF THE PYRROLNITRIN GENE CLUSTER IN *Archaea* AND *Bacteria*

Yasmim Freitas Figueiredo¹; Valter Cruz-Magalhães¹; Phellippe Arthur Santos Marbach²; Jorge Teodoro de Souza¹.

¹Laboratório de Fitopatologia Molecular, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG (yasmim_f@hotmail.com); ² Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA.

Pyrrolnitrin (Prn) is a secondary metabolite produced by a large variety of bacteria, including *Burkholderia pyrrocinia*, *Myxococcus fulvus*, *Pseudomonas protegens* and *Serratia plymuthica*. This metabolite shows antibiotic, antifungal and nematocidal activity. Prn-producing bacteria may be used as biological control agents of plant and human pathogens. The synthesis of pyrrolnitrin is encoded by the *prnABCD* gene cluster. Currently, only seven bacterial genera belonging in the Phylum Proteobacteria are described as possessing the *prnABCD* cluster. The aim of this work was to analyze the distribution of the Prn genes in prokaryotes through comparative genomics. Amino acid sequences were recovered from the PrnA, PrnB, PrnC and PrnD proteins and their counterparts from the NCBI (National Center for Biotechnology Information) databases. All complete genomes of prokaryotic organisms present in the NCBI databases until October 05, 2019 were used in the study. The searches were carried out using the four proteins of the Prn biosynthetic pathway of the bacterium *Pseudomonas protegens* Pf-5 as a query. After sequence recovery, an analysis of gene distribution in the prokaryotic sequences was performed. The comparative genomic analyses showed a total of 173 strains with the *prnABCD* gene cluster in the Domain Bacteria. From these, 155 had a fully sequenced genome deposited. Based in these analyzes we found one new possible Prn producer was uncovered in the Phylum *Actinobacteria* and three additional genera were found in the Phylum *Proteobacteria*. No potential Prn producer was found in the Domain Archaea. These findings may be used to confirm the potential of the new putative Prn producers uncovered in this genomics study as biological control agents.

Key-words: Bioinformatics; Prn; Tryptophan.

Support: CAPES.



Área: Biologia Molecular

CARACTERIZAÇÃO *in silico* DE SEQUÊNCIAS CANDIDATAS À FLAGELLIN SENSING 2 (FLS2) EM *Coffea* spp.

Mariana de Lima Santos¹; Mário Lúcio Vilela de Rezende²; Bárbara Alves dos Santos Ciscon³; Natália Chagas Freitas³.

¹Bolsista CAPES; Departamento de Química/UFLA (santos-ml@outlook.com); ²Professor Orientador Departamento de Fitopatologia/UFLA; ³Departamento de Fitopatologia/UFLA.

Os receptores de reconhecimento de padrões (PRR), que desencadeiam a PTI (PAMP Triggered immunity), são proteínas de membranas que reconhecem moléculas microbianas altamente conservadas, denominadas de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). O PRR denominado FLS2 (Flagellin sensing 2) é um dos mais estudados e detecta um epítipo conservado de 22 aminoácidos, o flg22, existente na região N-terminal da proteína flagelina, presente nos flagelos bacterianos. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar, *in silico*, proteínas candidatas a FLS2 nos genomas de *Coffea arabica*, *Coffea canephora* e *Coffea eugenioides*. Para isso, utilizou-se como sequência de referência a proteína FLS2 de *Arabidopsis thaliana* (AT5G46330), disponível no banco de dados TAIR (www.arabidopsis.org). Esta serviu de base para a procura de sequências homólogas no banco de dados do NCBI referente as proteínas preditas de *C. arabica*, *C. canephora* e *C. eugenioides*. A procura foi realizada utilizando a ferramenta BLASTp (Basic Local Alignment Search Tool). Posteriormente, as sequências que apresentaram maior porcentagem de identidade e menor *E-value* foram selecionadas e submetidas às análises no programa SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) e TMHMM2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) para determinar domínios proteicos, transmembrana e regiões intra e extracelular. Todas as sequências selecionadas apresentaram *E-value* igual a 0. As sequências XP_027087043.1 e XP_027089256.1, selecionadas para *C. arabica* apresentaram identidade de 52,45% e 52,53%, respectivamente. Já para *C. canephora* e *C. eugenioides*, foram selecionadas as sequências CDP20162.1 e XP_027184366.1, apresentando 51,42% e 52,53% de identidade, respectivamente. As análises com TMHMM2.0 mostraram que todas as sequências apresentam região transmembrana, além das regiões intra e extracelular. As análises via SMART mostraram que todas as sequências candidatas apresentam os domínios característicos da proteína PRR FLS2, sendo eles: repetições ricas em leucina, domínio transmembrana e quinase intracelular. Todas as sequências apresentaram tamanho proteico de 1162 aminoácidos, exceto a de *C. canephora* que apresentou 1140 aminoácidos. Conclui-se que todas as sequências candidatas apresentaram os domínios característicos do PRR FLS2 e podem servir de molde para análises moleculares da interação bactéria - cafeeiro.

Palavras-Chave: Receptores de membrana; Imunidade basal; Resistência de amplo espectro.

Apoio: CNPq, CAPES, FAPEMIG, INCT Café.



Área: Clínica e Diagnose

OCORRÊNCIA DE *Fusarium oxysporum* EM MOGNO AFRICANO NO BRASIL

Ignácio Lund Gabriel da Silva Carmo¹; Edgley Soares da Silva¹; Mauricio Lourenzoni Augusti¹, Daniel Augusto Schurt²; Roberto Dantas de Medeiros²; Fernanda Maria Estevam Dias³.

¹Universidade Federal de Roraima, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (ignacio.carmo@yahoo.com.br); ²Pesquisador Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro de Pesquisa Agroflorestal de Roraima; ³Graduanda em medicina veterinária Universidade Federal de Roraima.

A expansão do cultivo e a exposição de *K. ivorensis*, assim como outras espécies exóticas, a novas condições climáticas e ambientais remetem ao surgimento de pragas e doenças. Neste sentido, em vista da atratividade econômica e da expansão do cultivo de mogno africano pelo país, o objetivo desse trabalho foi registrar a primeira ocorrência de *Fusarium oxysporum* em mogno africano no Brasil, ocorrido no Estado de Roraima. Plantas de mogno africano apresentaram lesões no ápice caulinar, sobretudo nas brotações e folhas mais novas. Estas lesões ao progredirem tonaram-se escuras ocasionando secamento e queda das folhas com posterior morte do ponteiro. As análises foram realizadas no período de abril a junho de 2019 em isolados obtidos de plantas de mogno africano com cinco anos de idade, cultivadas em espaçamento 6,0 m × 6,0 m, em consórcio com banana (*Musa* sp.) e açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), localizadas em uma fazenda no município de Cantá, Roraima, Brasil. O material com os sintomas foi coletado e encaminhado para análise. A identificação dos microrganismos foi realizada por meio da caracterização cultural e morfológica, utilizando microscopia óptica de luz. Dos isolados foram obtidas colônias de coloração vermelho escura, com conidióforos e conídios característicos do fungo *F. oxysporum*. A patogenicidade dos isolados foi confirmada via inoculação em plantas saudáveis, utilizando solução de $1,3 \times 10^7$ conídios mL⁻¹. Setenta e duas horas após a inoculação, os sintomas típicos, observados em campo, foram reproduzidos. Os sintomas típicos, observados na região da interface da lesão com o tecido sadio, reisolou-se *F. oxysporum*, comprovando a relação de patogenicidade dos isolados obtidos com o mogno africano. Este é o primeiro registro de *Fusarium oxysporum* em mogno africano no Brasil, ocorrido no Estado de Roraima.

Palavra-chave: *Khaya ivorensis* A. Chevalier; Proteção florestal; Morte do ponteiro.



Área: Clínica e Diagnose

RELATO PRELIMINAR SOBRE A PODRIDÃO DOS CLADÓDIOS DE PITAIA VERMELHA NA FASE INICIAL DE CULTIVO EM SUBSTRATO ORGÂNICO

Deyse Cristina Oliveira da Silva¹, Telmar Mota de Oliveira Neto², José Maria Arcanjo Alves³, Sandra Catia Pereira Uchôa⁴, Glauber Ferreira Barreto², Eduardo Alex Carvalho Ribeiro⁵

¹Bolsista de pós-doutorado CAPES/POSAGRO/UFRR (deyse_cris@hotmail.com); ²Mestrando em agronomia POSAGRO/UFRR; ³Professor Orientador Depto de Fitotecnia/UFRR; ⁴Depto de Solos e Engenharia Agrícola/UFRR; ⁵Técnico do laboratório de Fitopatologia e Proteção de plantas/UFRR.

A pitáia vermelha, *Hylocereus undatus* (Haw), é uma cactácea frutífera tida como uma boa opção para a diversificação de pomares. Pesquisas que favoreçam a observação dos principais patógenos, bem como do ciclo das doenças, desde a fase de muda, são fundamentais para definir estratégias de controle e evitar que, tais doenças, atinjam níveis de dano econômico. Objetivou-se estudar a incidência da podridão dos cladódios de pitáia vermelha, na fase inicial de cultivo em substrato orgânico. O experimento foi realizado em casa de vegetação, localizada no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Roraima, Boa Vista - RR. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições. Cada repetição era composta por 12 mudas. Os tratamentos corresponderam aos substratos (S) utilizados para a produção de mudas: S1- 100% de casca de arroz carbonizada (CAC) + 0% húmus; S2- 75% CAC + 25% húmus; S3 - 50% CAC + 50% húmus, S4- 25% CAC + 75% húmus; S5- 0% CAC + 100% húmus. Foi realizada a descrição dos sintomas visuais iniciais. Aos 120 dias após o transplantio das mudas, foi avaliada a porcentagem de mudas sadias, doentes e mortas. O sintoma inicial observado nas mudas de pitáia vermelha foi a lesão clorótica amarelada que aparecia em diferentes regiões dos cladódios. As lesões evoluíram rapidamente para uma necrose marrom de aparência ressecada. Quanto à porcentagem de mudas sadias, o destaque fica para o tratamento S5, com 41,7% de mudas que não apresentaram podridão dos cladódios. Os tratamentos S4, S2 e S1 apresentaram as maiores porcentagens de plantas doentes, 77,1; 79,0 e 77,1, respectivamente, estes tratamentos também apresentaram os maiores percentuais de mudas mortas. Apenas comparando os sintomas observados com os encontrados na literatura, não foi possível determinar o agente etiológico da doença. Existem diferentes patógenos responsáveis pelos mesmos sintomas da podridão dos cladódios nas pitaias vermelhas. Independentemente da composição do substrato utilizado para a produção das mudas, há a incidência da podridão dos cladódios em todos os tratamentos. Desta forma, há pouca relação da incidência da doença com o tipo de substrato utilizado na fase inicial de cultivo da pitáia vermelha. Assim, recomenda-se que a escolha do material propagativo seja realizada de forma criteriosa, uma vez que existe a possibilidade do patógeno ser proveniente desse material.

Palavras-chave: Doenças em cactáceas; *Hylocereus* sp; Qualidade de mudas.

Apoio: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Programa de Pós-Graduação em Agronomia (POSAGRO).



Área: Clínica e Diagnose

INCIDÊNCIA DE CERCOSPORIOSE EM PROGÊNIES DE CAFEEIROS DE GRÃOS GRAÚDOS “BIG COFFEE VL”

Cyntia Stephânia dos Santos¹, Flavia Pichioli de Carvalho², Mariana Thereza Rodrigues Viana³, Samuel Pereira de Carvalho⁴, Marlon Luiz Diniz Sousa², Nadyne Massoli Oliveira Vilela²

¹Doutoranda em Fitotecnia - UFLA, bolsista CAPES – cynthia.s.santos@hotmail.com; ²Graduando em Agronomia – UFLA; ³Dsc. Em Fitotecnia – UFLA; ⁴ Professor titular DAG/UFLA.

A cercosporiose causada pelo fungo *Cercospora coffeicola* Berk & Cook tem ocorrência tanto em mudas como em lavouras em produção, sendo responsável por desfolha, queda de frutos e raquitismo. Objetivou-se avaliar a incidência de cercosporiose em progênies de cafeeiros de grãos gigantes conhecidos como “Big Coffee VL”. Foram selecionadas nove progênies do cafeeiro: P14, M4, M5, M11, M20, G9, G12, G16 e G17. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 6 repetições e uma planta por parcela. Foram realizadas 6 avaliações de incidência de cercospora, espaçadas quinzenalmente, selecionando 20 folhas do terço médio da planta da face de exposição solar Norte e Sul. Os dados foram submetidos ao teste de Lilliefors no programa GENES. Posteriormente, à análise de variância no modelo de parcelas subdivididas e ao teste de agrupamento de médias de Scott-Knott à 5% de probabilidade. Houve diferença significativa entre as nove progênies selecionadas do cafeeiro “Big Coffee VL” para a incidência de cercosporiose. Na face de exposição solar Sul, as progênies do grupo M foram as que apresentaram os maiores valores de incidência da cercosporiose, sendo que a M11 apresentou a maior média de incidência (33,85%). As progênies G12 e G16 apresentaram as menores médias de incidência. Na face de exposição Norte, as progênies M11, M20 e G8 foram agrupadas nas maiores médias de incidência em 5 das 6 avaliações. A face sul de exposição ao sol apresentou valores médios de incidência de cercosporiose maiores que a face Norte. Houve diferença nas progênies de cafeeiros de grãos graúdos “Big Coffee VL” quanto a incidência de cercosporiose. Com base nisso, há possibilidade de selecionar progênies que apresentem potencial de tolerância à esta doença aliada ao tamanho de grãos, com a realização de mais avaliações.

Palavras-chave: Cafeeiro; Face de exposição; *Cercospora coffeicola*.

Apoio: Consórcio Pesquisa Café, INCTCafé, CNPq, CAPES e FAPEMIG.



Área: Clínica e Diagnose

INTENSIDADE DE FERRUGEM E CERCOSPORA EM CULTIVARES DE *Coffea arabica* L.

Cyntia Stephânia dos Santos¹, Jordana Reis Lacerda², Cleiton Gonçalves Domingues³, Cesar Elias Botelho⁴.

¹Doutoranda em Fitotecnia - UFLA, bolsista CAPES (cyntia.s.santos@hotmail.com); ²Agrônoma, J&I CONSULTORIA LTDA ME; ³Mestrando em Fitotecnia – UFLA, bolsista CAPES; ⁴ Pesquisador, Dsc, EPAMIG, Lavras-MG.

Dentre as principais doenças que acometem a cultura do cafeeiro estão a ferrugem e a cercospora, que podem limitar a produtividade da cultura. Uma das alternativas para o controle preventivo dessas doenças é a escolha de cultivares resistentes ou tolerantes. Dessa forma, o presente trabalho objetivou avaliar a intensidade de ferrugem e cercospora em cultivares de *Coffea arabica* L. O experimento foi instalado no Departamento de agricultura, na Universidade Federal de Lavras. Utilizou-se o delineamento em DBC, 25 cultivares de *Coffea arabica* L. e 3 repetições, com parcela de 12 plantas. Foram avaliadas 22 cultivares supostamente resistente à ferrugem: Catucaí Amarelo 2 SL, Catucaí Amarelo 24/137, Catucaí Amarelo 20/15 cv 479, Catucaí Vermelho 785/15, Catucaí Vermelho 20/15 cv 476, Sabiá 398, Palma II, Acauã, Oeiras MG6851, Catiguá MG1, Sacramento MG1, Catiguá MG2, Araponga MG1, Paraíso H419-1, Pau Brasil MG1, Tupi, Obatã, Iapar 59, IPR 98, IPR 99, IPR 103, IPR 104; e 3 cultivares suscetíveis: Bourbon Amarelo LCJ10, Catucaí Vermelho IAC 144 e Topázio MG1190. Em junho de 2018, foi realizada a avaliação da intensidade das doenças, utilizou-se notas numa escala de 0 a 5. Plantas com alta intensidade das doenças permaneceram com notas próximas a 5. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e para o agrupamento entre as médias utilizou-se o teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade. As análises foram realizadas com auxílio do programa Genes. As cultivares Catucaí Amarelo 24/137, Catucaí Amarelo 20/15 cv 479, Catucaí Vermelho 785/15, Oeiras MG6851, IPR 103 apresentaram maior intensidade de ferrugem e cercospora. Embora, estas cultivares sejam consideradas resistentes a ferrugem, o patógeno causador da doença apresenta grande variabilidade genética. Já nas cultivares Palma II, Catiguá MG1, Sacramento MG1, Catiguá MG2 e Paraíso H419-1 observou-se menor intensidade de cercospora e ferrugem. Conclui-se que houve distinção entre as cultivares de *Coffea arabica* L. quanto a intensidade das doenças de ferrugem e cercospora.

Palavras-chave: Cafeeiro; Hemileia vastatrix; Cercospora coffeicola.

Apoio: FAPEMIG, Consórcio Pesquisa Café, INCT do Café, CNPq e CAPES.



Área: Controle Alternativo

USO DE SUBPRODUTOS DA INDÚSTRIA CARVOEIRA NA REDUÇÃO DA SEVERIDADE DA MURCHA DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* RAÇA 3 EM TOMATEIRO

Lucas Guedes Silva¹; Wagner Bettiol²; Cristiano Alberto de Andrade².

¹Doutorando em Proteção de Plantas Unesp/FCA (lucasguedess.agro@gmail.com); ²Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente.

A utilização de biomassas carbonizadas (biocarvão) como uma ferramenta para a melhoria das características físicas e químicas dos solos, assim como no processo de mitigação das mudanças climáticas, foi alvo de grande interesse nas últimas décadas. No entanto, os efeitos do biocarvão (BC) no microbioma do solo e seus impactos sobre as doenças de plantas, especialmente as de solo, não receberam a devida atenção, sendo ainda poucos compreendidos. Sendo assim, o presente trabalho avaliou a adição de crescentes doses de finos de carvão (FC) ao solo (0, 1, 2, 3, 4 e 5% (v/v)) e suas implicações no desenvolvimento da fusariose do tomateiro (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3 - FOL). O experimento foi conduzido em casa de vegetação com vasos de 700 mL e delineamento experimental de blocos casualizados com 10 repetições. O solo utilizado foi infestado com FOL na concentração de 1×10^6 conídios mL^{-1} e realizado o transplante de uma muda de tomateiro (cv. Sotero[®]) por vaso. O progresso da doença foi avaliado semanalmente com uma escala diagramática, pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), além da massa seca e fresca da parte aérea e radicular, o diâmetro do caule, número de folhas e altura das plantas. As massas frescas e secas do sistema radicular, a massa fresca da parte aérea e o número de folhas foram significativamente afetadas pela adição de biocarvão ao solo ($P < 0,05$), apresentando comportamento linear e respostas 21, 40, 22 e 14% superiores ao controle, respectivamente. A severidade da fusariose (AACPD) também foi significativamente influenciada ($P < 0,05$), apresentando tendência inversamente proporcional às concentrações de biocarvão, com redução de até 23% em relação ao controle. A incorporação de finos de carvão ao solo tem potencial em reduzir a severidade da fusariose do tomateiro, podendo ser adotada como mais uma ferramenta no manejo integrado da doença.

Palavras-chave: Controle Alternativo, Supressividade, Fusariose.

Apoio: CNPq.



Área: Controle Alternativo

FOSFITO DE POTÁSSIO NO CONTROLE DA FERRUGEM DO FEIJOEIRO

Thalita Maciel Pereira¹; Mário Lúcio Vilela de Resende²; Matheus Henrique de Brito Pereira³; Bruno Henrique Garcia Costa⁴; Rafaela Balisa Massote⁵; Deila Magna dos Santos Botelho⁶.

¹Bolsista Mestrado Agronomia Fitotecnia/CNPq/UFLA (thalitatmp@hotmail.com); ²Professor Orientador Departamento de Fitopatologia/UFLA; ³Bolsista PIBIC/CNPq/UFLA; ⁴Pesquisador Agrichem do Brasil; ⁵Bolsista Mestrado Agronomia Fitopatologia/CNPq/UFLA; ⁶Pesquisadora INCT-Café.

A ferrugem do feijoeiro (*Uromyces appendiculatus*) é uma doença amplamente disseminada, ocorrendo nas lavouras em todo Brasil. Os danos provocados podem ser mais severos quanto mais cedo ocorrer a doença no ciclo da cultura, sendo muito influenciados pela suscetibilidade das cultivares atacadas. O manejo da ferrugem é realizado, principalmente, por cultivares resistente e pelo controle químico. A utilização de fosfitos é uma alternativa que vem sendo utilizada no manejo de fitopatógenos em aplicação isolada ou em associação ao controle químico. Dessa maneira, o objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência de fosfito de potássio associado ou não ao controle químico no manejo da ferrugem do feijoeiro. O experimento foi conduzido em condições de campo, no município de Lavras – MG, com os seguintes tratamentos: FP (fosfito de potássio -0,75 L ha⁻¹), Fungicida (trifloxistrobina + proclorazoxolol-0,5 L ha⁻¹), FP + Fungicida, FP + Fungicida + Óxido cuproso (0,05 L ha⁻¹) e Testemunha. Foram realizadas três aplicações via foliar, nos estádios V4, V8 e R5, utilizando pulverizador pressurizado a CO₂. O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, com 5 tratamentos e 4 repetições. Foram realizadas quatro avaliações da severidade da doença para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença e posterior análise estatística. As associações FP + Fungicida + Óxido cuproso e FP + Fungicida proporcionaram redução significativa da severidade da ferrugem, com controle de 85,6 e 83,3%, respectivamente, seguidos por Fungicida 74,9% e FP 56,5%. A associação entre fungicida e fosfito de potássio e a aplicação isolada desses produtos reduz a severidade da ferrugem do feijoeiro.

Palavra-chave: Ferrugem; Fosfitos; Manejo.

Apoio: CNPq, Agrichem do Brasil.



Área: Controle Alternativo

PROFILE OF VOLATILE MOLECULES PRODUCED BY DIFFERENT *Bacillus* STRAINS ISOLATED FROM COCOA AND SISAL RHIZOSPHERE

Amanda Flausino de Faria¹, Valter Cruz-Magalhães², Rafaela Araújo Guimaraes², Samuel Júlio Martins³, Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros⁴, Márcio Pozzobon Pedroso⁵.

¹PhD Student, Department of Plant Pathology, UFLA (amanda.flausino16@hotmail.com); ²Post doc position; ³Department of Plant pathology; PSU; ³Department of Chemistry, UFLA.

The emission of volatile organic compounds (VOCs) by microorganisms can be influenced by many factors. The environment in which the microorganism survives, linked to nutrient availability, pH, and oxygen supply conditions can modulate the VOC production profile in some bacterial species. In this study, we aimed to obtain the profile of the VOCs produced by four *Bacillus* strains with biocontrol potential of plant pathogens from Bahia state, Brazil. To solid-phase microextraction (SPME), 100 µL of suspension (10⁸ CFU) each strain was transferred to 20 mL SPME tubes, which were incubated at 21 ° C for 11 days, and then were analyzed by gas chromatography-mass spectrometric (GC–MS). As a positive control, tubes containing ‘Nutrient Agar medium were used. The peaks captured in the bacterial samples not present in the control sample were detected by comparing the spectrum obtained with the spectra present in the mass spectra library and identified by comparing the experimental retention indices (RI Exp.) to the literature (RI Lit.). A total of ten different volatile molecules were identified by SPME- GC-MS. The strains *Bacillus* sp. 1 and *Bacillus* sp. 2, of same species, produced only three VOCs including, 3-hydroxy-2-butanone, 3-methylbutanoic acid and 2-methylbutanoic acid. *Bacillus* sp. 3 strain produced 2-pentanone, 3-methylbutanoic acid and 2-heptanone. *Bacillus* sp. 4 strain produced seven different compounds including 3-methyl-2-pentanone, 3-methylbutanoic acid, 5-methyl-2-hexanone, 2-methylpropanoic acid, 2-heptanone, 6-methyl-2-heptanone and 5-methyl-2-heptanone. The 3-methylbutanoic acid was the one VOCs that produce for all *Bacillus* strains evaluated. Furthermore, only *Bacillus* sp. 3 strain produced the 2-pentanone molecule. In general, knowledge of the diversity and production of these molecules can help to better understand the role *Bacillus* species play in the environment, in symbiotic or antagonistic interactions between microorganisms and even in the activation of plant responses through resistance induction and growth promotion.

Keywords: *Bacillus* spp.; Volatile profile; Gas chromatograph.

Support: CAPES, CNPq, FAPEMIG.



Área: Controle Alternativo

ENDOPHYTIC AND RHIZOSPHERIC BACTERIAL SPECIES *in vitro* POTENTIAL SCREENING FOR BIOLOGICAL CONTROL AGAINST *Sclerotinia sclerotiorum* LAP2244

Muhammad Siddique Afridi¹, Luiz Flávio Machado Góes², Júlia Marques Oliveira¹, Amanda Flausino de Faria¹, Kize Alves de Almeida¹, Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros³.

¹PhD Student, Department of Plant Pathology, UFLA (muhammad.afриди@estudante.ufla.br) ;²Under graduation student, Department of Plant pathology, UFLA ;³Department of Plant pathology, UFLA.

Sclerotinia sclerotiorum is a detrimental, ubiquitous soil-borne phytopathogen affecting many economically important crops across the globe. Nineteen bacteria isolated from sugarcane (*Saccharum officinarum*) tissue and soil cultivated with common bean (*Phaseolus vulgaris*) were evaluated for their biocontrol activity and sclerotial suppression against *S. sclerotiorum* LAP2244 *in vitro* condition. *S. sclerotiorum* LAP2244 was kindly provided by the Laboratory of Seed Pathology, Department of Plant Pathology, Federal University of Lavras-MG, Brazil. The experiment was carried out in Petri plates with randomized complete design containing 19 treatments and three replicates. The 5 mm mycelial disc of the actively growing fungus was placed at one edge of Petri plate on potato dextrose agar (PDA) and 24 h later 10- μ L aliquots of bacterial suspensions containing 10^9 CFU/mL were inoculated five mm from the mycelial disc and incubated at 17 °C for five days. The clear zone was observed and measured. The retrieved sclerotia were surface sterilized for 30 s in 70% ethanol, 3 min in hypochlorite and rinsed in sterilized distilled water, placed five sclerotia in each plate, treated with 10- μ L aliquots of bacterial suspension and incubated at 17°C for 15 days. The statistical analysis was performed in the program R version 3.5. Data were transformed by Box-Cox. Total eleven isolates suppressed the sclerotia production significantly comparative with control ($P=0.01$) in which six inhibited the mycelial growth up to 29% ($P=0.01$). This study can be proceeded with the bacterial biochemical characterizations, suppression of carpogenic germination and implementation as a biological control agent against *S. sclerotiorum* in field trials.

Keywords: Biological control agents, suppression, sclerotia.

Support: CAPES, CNPq, FAPEMIG.



Área: Controle alternativo

EFEITO DO SOMBREAMENTO NO MANEJO DA CERCOSPORIOSE DA BETERRABA

Rafaela Carvalho Vargas¹; Monica Simão Giponi¹; Patrícia Alves de Sá¹; André Marcos da Silva², Antônio Daniel Fernandes Coelho³, Leonardo da Fonseca Barbosa³.

¹Bacharelado em Agroecologia/IFSUDESTEMG – Campus Rio Pomba (rafaelavargas339@gmail.); ² Gerente de produção do Departamento Acadêmico de Agricultura e Ambiente/IFSUDESTEMG – Campus Rio Pomba; ³ Professor Departamento Acadêmico de Agricultura e Ambiente /IFSUDESTEMG – Campus Rio Pomba.

A produção de beterraba (*Beta. Vulgaris* L.) é muitas vezes comprometida pela alta incidência da doença cercosporiose, tendo como agente etiológico o fungo *Cercospora beticola*, podendo esta ocasionar a diminuição da área foliar e conseqüentemente reduzir a produtividade da cultura. Algumas práticas de manejo, como o uso do sombreamento pode reduzir a severidade da doença, pois a presença da fitotoxina cercosporina no fungo em contato com a incidência solar, é ativada e oxidada, causando a destruição das membranas celulares do hospedeiro. Objetivou-se com este estudo testar o efeito do sombreamento na redução da severidade da cercosporiose. O experimento foi realizado em campo com alta incidência de cercosporiose, na horta agroecológica do Instituto Federal Sudeste MG- Campus Rio Pomba, no período de 22 de agosto a 22 de outubro do ano de 2019, dividido em 4 tratamentos: sombrite 100%, sombrite 50% inicial, sombrite 50% final e sombrite 0% (testemunha). Na instalação do mesmo, utilizou-se o delineamento em blocos casualizados com cinco repetições. As parcelas possuíam 2,0 m x 0,7 m, oito linhas espaçadas a 0,25 m, com espaçamento entre plantas de 0,1 m. As mudas utilizadas eram provenientes do cultivo em casa de vegetação da mesma. A adubação de cobertura feita no cultivo foi a base de cama suína (300 g/ linha) em dois intervalos de aplicação 15 e 30 dias após o transplântio das mudas. No 30° dia do experimento, houve o transporte dos sombrites das parcelas com o tratamento 50% inicial para as parcelas que iriam receber o tratamento 50% final. As variáveis analisadas foram severidade e produtividade. Os dados obtidos foram submetidos a ANOVA e a média calculada teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para a quantificação da severidade, foram analisadas 12 plantas centrais das parcelas, sendo a avaliação executada no 60° dia após o cultivo, com auxílio da escala diagramática. No 60° dia, realizou a colheita das 12 plantas centrais e a pesagem em balança Semi Analítica a fim de obter os dados de produção. O tratamento sombrite 100% foi o que apresentou menor severidade da doença (11%) diferindo estatisticamente dos tratamentos sombrite 50% inicial (16,7%), sombrite 50% final (16,6%) e sombrite 0% (21,4%). Entretanto, na variável produtividade o tratamento sombrite 0% (5,25 Kg/m²) e sombrite 50% inicial (5,09 Kg/m²), foram os que apresentaram maiores valores diferindo estatisticamente do tratamento sombrite 50% final (3,28 Kg/m²) e sombrite 100% (2,50 Kg/m²). O uso do sombrite em todo ciclo de cultivo da beterraba no campo reduziu a severidade da cercosporiose, contudo os tratamentos que não apresentaram sombrite em todo ciclo de cultivo tiveram maiores índices de produção.

Palavras-chave: *Cercospora beticola* L; Sombrite; Manejo.



Área: Controle alternativo

PRODUTOS ALTERNATIVOS NO MANEJO DO BOLOR VERDE EM LARANJAS PÓS-COLHEITA

Dalilla Carvalho Rezende¹; Natália Moreira Mafra²; João Luiz Rodrigues Júnior³; Clara Gonçalves de Pontes²; Lívia de Fátima Carvalho Machado³; Maria Luiza Honório Carvalho³.

¹Professor Orientador IFSULDEMINAS (dalilla.rezende@ifsuldeminas.edu.br); ²Discente do curso de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos IFSULDEMINAS; ³Graduando em Agronomia IFSULDEMINAS.

O bolor verde causado pelo fungo *Penicillium digitatum* é considerado o maior problema na fase de pós-colheita em laranjas. O controle químico no manejo da doença pode ocasionar efeitos nocivos à saúde e ao meio ambiente. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de produtos alternativos no manejo do bolor verde e nas características físico-químicas em laranjas pós-colheita. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia do IFSULDEMINAS, Campus Machado. Frutos de laranjeira 'Valência' foram submetidos a cinco tratamentos: 3mL.L⁻¹ de fosfito de potássio; 50mL.L⁻¹ de extrato de alga *Ascophyllum nodosum*; 3mL.L⁻¹ de fertilizante organomineral; produto convencional (fungicida sistêmico do grupo químico benzimidazol na concentração indicada pelo fabricante); e controle (água destilada). O experimento foi conduzido da seguinte forma: higienização dos frutos (hipoclorito de sódio 0,5% por 3 min.); lavagem em água corrente; secagem em temperatura ambiente por 12h; imersão por 5 minutos em soluções contendo os tratamentos; secagem em temperatura ambiente; fermento dos frutos em quatro regiões equidistantes; aspersão de suspensão do patógeno na concentração de 10⁶ conídios mL⁻¹; incubação em câmara úmida por 24h e avaliação da incidência da doença por 6 dias. Os frutos higienizados foram analisados 24h após aplicação dos tratamentos quanto ao pH, acidez, sólidos solúveis e firmeza. O delineamento foi em blocos casualizados, contendo três frutos por parcela, cinco tratamentos e quatro repetições e os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Houve redução significativa da incidência do bolor verde nas laranjas tratadas com fertilizante organomineral e com extrato de alga, em comparação ao controle, no sexto dia de avaliação (25%, 33% e 67%, respectivamente). O tratamento com fosfito de potássio (75% de incidência) não diferiu do controle. Comparando-se ao tratamento convencional (25% de incidência), o fertilizante organomineral e o extrato de alga tiveram resultados semelhantes. Com relação às análises físico-químicas, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Conclui-se que o fertilizante organomineral e o extrato da alga *A. nodosum*, nas dosagens testadas, possuem potencial para serem utilizados no manejo do bolor verde em laranjas pós-colheita, sem alterar a qualidade físico-química dos frutos.

Palavras-Chave: Segurança alimentar; Controle alternativo; Patologia pós-colheita.

Apoio: Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação do IFSULDEMINAS.



Área: Controle Alternativo

EFEITO DE BICARBONATO DE POTÁSSIO NO CONTROLE DE OÍDIO DA ABOBRINHA

David Ferreira Duarte¹; Wagner Bettiol².

¹Mestrando em Agronomia/Fitopatologia; Departamento de Fitopatologia/UFLA (david.duarte.ferreira18@gmail.com); ² Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente.

O oídio, causado por *Podosphaera xanthii*, é considerada a principal doença das cucurbitáceas, especialmente quando cultivadas sob condições de temperatura amena (22 e 31 °C). O controle da doença normalmente é realizado pelo uso de produtos químicos e variedades resistentes. Contudo, o uso indevido de produtos químicos pode resultar na presença de resíduos nos frutos, na contaminação do meio ambiente, e na seleção de isolados resistentes aos princípios ativos. Desta forma, métodos alternativos de controle com produtos menos agressivos ao ambiente e de baixo custo são necessários e uma alternativa de consumo de mercado. Objetivou-se com este trabalho avaliar a eficiência de diferentes concentrações do produto comercial Carbos® (Technes Ltda; K₂O – 62%), no controle do oídio da abobrinha. Plantas de abobrinha (cv. Caserta) foram cultivadas em vasos de 3 L, adubadas com 5 g de fertilizante NPK (10:10:10)/L e mantidas em casa de vegetação livre de inóculo. No estágio de uma folha verdadeira, as plantas foram transferidas para uma casa de vegetação com alto potencial de inóculo. Os tratamentos consistiram em 0%; 0,2%; 0,5%; 0,8%; e 1,1% de Carbos®, além de uma testemunha absoluta (água) e do fungicida Amistar Top® (azoxistrobina + difenoconazol). O produto à base de bicarbonato foi pulverizado semanalmente e o fungicida a cada quinze dias. A severidade da doença foi avaliada semanalmente com base na porcentagem de folha coberta pelo patógeno e com os dados foram calculadas as áreas abaixo da curva do progresso da doença (AACPD). O produto comercial Carbos® foi eficiente em todas as concentrações testadas reduzindo a AACPD, quando comparado com a testemunha absoluta. As concentrações de 0,8% e 1,1% foram tão eficazes quanto ao fungicida.

Palavras-chave: *Podosphaera xanthii*; Cucurbita pepo; Controle alternativo.



Área: Controle biológico

ANTAGONISMO DE RIZOBACTÉRIAS A FUNGOS FITOPATOGÊNICOS E SUA PRODUÇÃO DE ÁCIDO CIANÍDRICO, SIDERÓFOROS E ÁCIDO INDOL ACÉTICO

Erika Lorena Blanco^{1,2}; Yulimar Castro^{1,3}.

¹Laboratório de Fitobiotecnologia/ULA-Venezuela (elorenablancoc@gmail.com); ²Laboratório de Biotecnologia y Química de Polímeros/UNET-Venezuela; ³Bolsista CAPES/UFLA-Brasil.

As rizobactérias fazem parte do grande número de microrganismos que atuam como agentes de biocontrole induzindo a resistência sistêmica em plantas, produzindo metabólitos que inibem o crescimento de patógenos. Além disso, favorecem o crescimento e o desenvolvimento das plantas por meio da solubilização de fosfatos, produção fitormônios como o ácido indol acético (AIA) e fixação de nitrogênio. No presente estudo, avaliou-se a capacidade de 10 rizobactérias de os gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Ochrobactrum* e *Pseudomonas*, em produzir HCN, sideróforos e AIA, solubilizar fosfato, fixar nitrogênio e inibir o crescimento de patógenos. Das 10 cepas avaliadas, *Pseudomas fluorescens* produziu HCN em meio TSA suplementado com glicina usando ácido pícrico como indicador, cinco liberaram sideróforos formando um halo amarelo-alaranjado em torno da colônia de cada rizobactéria pelo teste de cromo azulol-S (CAS) com meio B de King e seis produziram AIA significativamente ($P < 0,05$) em relação ao controle (sem bactérias) na presença de triptofano. A capacidade de solubilizar fosfatos no meio mínimo (MM) com fosfato tricálcico como fonte de P foi verificada para seis cepas e todas cresceram em meio manitol, indicando que todos são fixadores de nitrogênio. No confronto *in vitro* de rizobactérias contra *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani*, nove cepas inibiram o crescimento de *F. oxysporum* ($P < 0,05$), sendo que, a cepa de *Rhizobium tropicci* inibiu em 65% o crescimento do patógeno. A *Pseudomonas fluorescens* foi a única que inibiu significativamente ($P < 0,05$) o crescimento de *C. gloeosporioides* em 25%. Nenhuma das cepas inibiu o crescimento de *R. solani*. Esses resultados indicam que as rizobactérias de os gêneros *Rhizobium* e *Pseudomonas* exercem efeitos benéficos nas plantas por meio de mecanismos diretos e indiretos, ou uma combinação de ambos, tornando-se uma opção sustentável para a produção de culturas agrícolas.

Palavras-chave: Rizhobium; Pseudomonas; agente de biocontrole.

Apoio: Projeto C1890 -14-01C CDCHT/ULA-Venezuela.



Área: Controle Biológico

EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF COMMERCIAL BIOLOGICAL PRODUCTS FOR MANAGEMENT SOIL-BORNE DISEASES IN COFFEE

Hélio Júnior Dolor Coelho¹; Thales Henrique Coelho²; Flávio Henrique Vasconcelos Medeiros³.

¹Farroupilha Laboratory Stage - Lallemand/UFLA (heliodor@gmail.com); ²Advisor Professor Department of Plant Pathology/UFLA; ³Farroupilha Laboratory Market Developer – Lallemand.

The presence of pests and disease is undoubtedly one of the limiting factors in coffee activity worldwide. Therefore, is required to use de methods for reduction or avoid high contamination mainly for disease in coffee systems. The use of biological control, with commercially available products, is a tool that can be used in the management of coffee disease. The objective of this work was to check the effectiveness and applicability of chemical and biological products (together or separated) in reducing disease severity and yield of coffee. The work was conducted in Lagoa farm (Carmo da Cachoeira, Minas Gerais, Brazil). Coffee cultivar used was Mundo Novo, *Coffea arabica* L., planted with a density of 3055 plants/ha. The experimental design was made by randomized blocks design (RBD) with six treatments and four repetitions. The division of the blocks consisted of 12 plants and the treatments used were: T1- Control (only plants); T2- Rugby; T3 -Quality - 250g + Rizos - 250mL + Onix - 250mL + Azos - 1l; T4-Quality + Rizos + Onix; T5-Quality - 200 g + Rizos - 200 mL + Onyx 200 mL + Azos - 1l; T6- Rugby + Quality + Rizos + Onix. Soil and root samples were collected in the initial and final evaluation to quantify and identify nematodes and fungi. Statistical analysis was conducted using the Sisvar software, and the averages were compared by Tukey's test ($P \leq 0.05$). In the evaluation of *Fusarium* spp. the treatment T5 had the lowest average, i.e, had a greater reduction in concentration compared to treatments T1 and T2. While, in the evaluation of *Trichoderma* spp., the treatment T6 had a higher average (1511 UFC/grams of soil) and treatment T1 and T2 had a lower population than the others. There was no significant difference between the evaluated nematode treatments ($P \leq 0.05$). Regarding yield, the treatment T3 (57,5 bags/ha) presented better results, obtaining statistical differences from treatments T6 with 39,9 bags/ha, T1 31,97 and T5 with 25. Probably, the differences between treatments with biological, chemical and control occurred due to the reduction of soil pathogens. In this direction, the treatment with biological products has greater capacity in this reduction, both in reducing pathogens and increasing beneficial microorganisms and consequently contributing to the growth promotion and increase of yield.

Keywords: Coffee arabica; Biological control; Integrated Management; Diseases; Yield.

Support: Farroupilha Laboratory - Lallemand



Área: Controle biológico

NO ANTAGONISTIC EFFECT OF *Bacillus* STRAINS BY VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS ON BIOLOGICAL CONTROL AGENTS.

Rafaela Araújo Guimarães¹, Amanda Flausino de Faria², Valter Cruz-Magalhães¹, Júlio Carlos Pereira da Silva³, Jorge Teodoro de Souza³, Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros⁴.

¹Post doc position (rafaela_argui@hotmail.com); ²PhD Student; ³Departament of Plant pathology, UFLA; ⁴ Supervisor, Departament of Plant pathology, UFLA.

Bacteria of the genus *Bacillus* exhibit high inhibitory activity against different plant pathogens. In addition, the role of volatile organic compounds (VOCs) of these bacteria against phytopathogens is well reported. However, the effect of these molecules on beneficial microorganisms is not yet fully explored. In this study, we evaluated the effect of VOCs produced by two *Bacillus* strains on mycelial growth and conidia formation of fungal biocontrol agents. The models of biological control agents tested were *Trichoderma* sp., *Arthrobotrys* sp. and *Purpureocillium* sp. The experiments were conducted *in vitro* conditions with split plates. The experimental design was completely randomized with nine treatments and five replications per treatment. The effect of VOCs emitted by both *Bacillus* strains was verified individually and in combination. Bacterial suspensions were adjusted to 10⁸ colony forming units (CFU). The experiments were done by transferring 10 µL of both bacterial suspensions on Agar-Nutrient (AN) medium. The bacterial suspension was added simultaneously to the *Trichoderma* sp., *Arthrobotrys* sp. and *Purpureocillium* sp. mycelium disk on PDA medium. The plates were sealed and incubated at 25 °C. Control plates contained fungal mycelial discs and the same amount of distilled water instead of bacterial suspensions. The mycelial growth evaluated until the third day. On the 7th day, conidiogenesis was evaluated with the Neubauer chamber. The data were adjusted by Box-Cox transformation. There was no effect of the bacterial VOCs on *Trichoderma* (P = 0.557) and *Arthrobotrys* (P = 0.150) mycelial growth. However, VOCs from *Bacillus* sp.1 showed a significant inhibitory effect on mycelial growth of *Purpureocillium* sp. (P = 0.01) when compared to the control. The growth of *Purpureocillium* sp. was reduced at 17% at 3th day. Additionally, there was no effect of the bacterial VOCs in the conidia production of *Trichoderma* sp. (P = 0.611), *Arthrobotrys* sp. (P = 0.421) and *Purpureocillium* sp. (P = 0.148). All the results showed that the VOCs produced by both *Bacillus* sp. do not affect the mycelial growth and conidia formation of two biocontrol agents tested (*Trichoderma* sp. and *Arthrobotrys* sp.). Therefore, studies will be developed for the use of both *Bacillus* sp. as biocontrol agents, with the basis of their VOCs. In this context, is possible that the VOCs have a specific action against plant pathogens and not on some beneficial microorganisms.

Keywords: beneficial microorganisms; VOCs; *Bacillus* spp.

Support: CAPES, CNPq, FAPEMIG.



Área: Controle biológico

GAINS OF CO-INOCULATION WITH BACTERIA IN SOYBEAN

¹Amanda Flausino de Faria, ¹Luiz Flávio Machado Góes, ²Júlio Carlos Pereira da Silva, ³Bruna Cristina de Andrade, ¹Kize Alves Almeida, ¹Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros.

¹ Department of Plant Pathology, Universidade Federal de Lavras-MG (amanda_flausino16@hotmail.com); ² Department of Phytosanitary Defense; Universidade Federal de Santa Maria-RS; ³ Department of Agronomy, Universidade Estadual de Maringá-PR.

Co-inoculation of microorganisms has been used in agriculture with the aim to improve plant performance. In agricultural systems they are used as biofertilizers, growth promoters, immune system activators and biocontrol agents. In this way, we studied the effect of soybean co-inoculation with *Bradyrhizobium* spp. (commercial inoculant) and *Bacillus* spp. (Nemout™) on nodulation and soybean yield. We performed three field experiments. The first one we evaluated the application of *Bacillus* spp. in soybean leaves in increasing doses (0 to 4.5 kg.ha⁻¹) and the second and third we evaluated the co-inoculation through seed treatments in areas with and without legume history. The experiments were carried out in Lavras/MG and Três Corações/MG in the 2016/17 and 2017/18 seasons, respectively. The experiment was designed in randomized blocks with five treatments and four replicates. There was no difference for the number and dry mass of nodules, number of pods and weight of thousand grains. In Lavras, soybean yield increased about 11 sacks per hectare ($p=0.03$) when seeds were treated with *Bacillus* spp. (season 2017/18), while in Três Corações the application of *Bacillus* spp. alone or in combination with *Bradyrhizobium* spp. increased 0.4 g in dry mass of nodules and up to 31% yield. Our results showed that soybean plants as well as symbiosis with *Bradyrhizobium* spp. did not respond to *Bacillus* spp. application via spray bar and the seed treatments respond according to the area and the native population of rhizobia in the soil.

Key words: Nitrogen fixing bacteria; Symbiosis; Yield.

Support: CAPES, CNPq, FAPEMIG.



Área: Controle Biológico

MANAGEMENT OF COFFEE CERCOSPORIOSIS BY AFFORESTATION WITH FRUIT AND TREE SPECIES

Graziella Evaristo de Moraes¹, Sára Maria Chalfoun de Souza², Giselle Christiane de Souza Pimentel³,
⁴Christiano de Sousa Machado Matos, Alessandro Botelho Pereira⁵ Caroline Lima Angélico⁶

¹Graduanda em Agronomia, iniciação científica PIBIC/CNPq/EPAMIG, (graziella.moraes@estudante.ufla.br);

²Orientadora, Pesquisadora EPAMIG Sul, ³Bolsista Consórcio Brasileiro de Pesquisa & Desenvolvimento/Café,

⁴ Engenheiro Agrônomo, Bolsista Consórcio Pesquisa Café- EPAMIG, ⁵Analista de Sistemas, Bolsista Consórcio Pesquisa Café/EPAMIG Sul, ⁶Engenheira Agrônoma, Bolsista INCT -EPAMIG

Cercosporiosis or brown eye spot is currently one of the main diseases of the coffee tree. This disease is caused by the fungus *Cercospora coffeicola* Berk. & Cooke. The environmental conditions that favor the development of the disease are: temperatures between 18°C and 25°C, high relative humidity, and high sunstroke. Climate changes have occurred and afforestation may help in the reestablishment of climatic factors and may lead to the management of coffee cercosporiosis. In addition, afforestation can generate extra income for farmers and better use of labor throughout the year in crop management. This study aimed to analyze the impacts of afforestation on coffee cercosporiosis incidence. The experiment was installed in 2012 at “Fazenda da Lagoa”, Santo Antônio do Amparo-MG, where tree species are implanted between plants in the coffee line in two spacings: E1, smaller spacing 9 x 13,6m for wood species, 7x13,6m for Avocado and 5x 13,6 for Macadamia and E2, greater spacing 18x13,6m for wood species, 14x 13,6m for Avocado and 8x13,6m for Macadamia. The evaluations were carried out from July 2018 to July 2019. The evaluated species were two fruit: *Persea americana* (Avocado) and *Macadamia integrifolia* (Macadamia), three wood species: *Tectona grandis* (Teca), *Acrocarpus fraxinifolius* (Cedar) and *Khaya ivorensis* (Mahogany) and control grown in full sun. For the evaluation of the disease, 100 leaves per plot were collected monthly, and the results were expressed as a percentage of the disease incidence. A higher incidence (18% E1 and 16% E2 for Teca and 13% E2 for Mahogany) of the disease was verified in the wood species, excepted Cedar, in relation to the fruit species. In relation to Avocado, a lower incidence (6% E1 and 8% E2) of the disease was observed in the two spacings tested and Macadamia and Cedar presented the higher incidence (10% for both species) of cercospora in relation to the control, in the smallest tested spacing (E1). The best results obtained on the decrease of cercosporiosis incidence in fruit species, is justified by the higher shade index on the coffee trees provided by them. The lower efficiency of the fruit species Macadamia and Cedar in E1 compared to E2 can be attributed to a competition effect of this species with the coffee trees in relation to nutrients, since the occurrence and severity of the disease has a high correlation with the nutritional status of the plants. Thus, the present research demonstrated greater effectiveness of fruit species and Cedar in relation to wood species, Teca and Mahogany, in the management of coffee cercosporiosis.

Key words: *Cercospora coffeicola*. climate changes. integrated management

Support: FAPEMIG, CNPq, EPAMIG.



Área: Controle Biológico

QUANTIFICAÇÃO DE CÉLULAS FORMADORAS DE BIOFILME DE *Bacillus subtilis* EM HÍBRIDOS COMERCIAIS DE MILHO

Samanda López-Peña¹; Rafaela Araújo Guimarães²; Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros³; João Cândido de Souza⁴; Welison Andrade Pereira⁵.

¹Bolsista CNPq/UFLA (samanda11s@hotmail.com.); ²Departamento de Fitopatologia/UFLA; ³Professor Coorientador Departamento de Fitopatologia/UFLA; ⁴Professor Coorientador Departamento de Biologia/UFLA; ⁵Professor Orientador Departamento de Biologia/UFLA. samanda11s@hotmail.com.

No desenvolvimento da agricultura tem-se buscado alternativas para a produção de alimentos livres de resíduos agroquímicos. O uso de microrganismos, como é o caso de *Bacillus subtilis*, tem mostrado grande sucesso no aumento do potencial de produção e proteção contra fitopatógenos nas plantas que conseguem associar-se com a mencionada bactéria, não obstante ainda são poucos os estudos que respaldam essa efetividade. Objetivou-se no presente trabalho avaliar a interação entre *B. subtilis* e a planta de milho por meio da quantificação de células formadoras de biofilme nas raízes de diversos híbridos comerciais de milho (BM3066, 30A37, CD3770, BM820, BM855, 2B688, 2B810, 2B640) fazendo uso do método de quantificação por diluição (MQD). No procedimento foram implementadas quatro repetições e uma testemunha (sem inoculo) para cada genótipo, sendo inoculado 1ml de solução com uma concentração de 1×10^8 UFC/ml de *Bacillus subtilis* nas raízes dos híbridos com uma semana de crescimento em tubos falcon com médio de cultura (15gr/L de ágar e água destilada), armazenando-se por uma semana em BOD (25°C). O processo MQD foi feito por micro gota (10µl/gota, 8 diluições, 2 gotas por diluição) em placa dividida (4 divisões/placa). Após 3 dias em BOD (25°), foram contadas as células formadoras de colônias obtidas na extração do biofilme por grama de raiz crescida em condição axênica, sendo considerada a diluição 10^{-5} para todas as amostras. Os resultados mostraram que todos os híbridos testados apresentaram colonização, embora a mesma foi significativamente variável ($p < 0,05$). O híbrido CD3770 hospedou a menor população da bactéria ($2,97 \times 10^5$ UFC/g) enquanto o 2B640 teve a maior colonização com ($3,5 \times 10^6$ UFC/g). Portanto, se infere que as variações genéticas entre os híbridos de milho considerados interferem na dinâmica da população do agente de biocontrole (*Bacillus subtilis*), mas ainda se deve determinar como essa diferença pode contribuir para o desempenho dos híbridos.

Palavras-chave: Biofilme; *Bacillus subtilis*; Zea mays.

Apoio: CNPq.



Área: Controle biológico

***Bacillus subtilis* BV02 (BIO-IMUNE®) COMBINADO COM FERTILIZANTE MINERAL (NHT® COBRE SUPER) CONTROLA ANTRACNOSE NA SOJA**

Camila Rebelatto Muniz¹; Carlos Eduardo da Silva Souto¹; Mateus Righetti Carrillo¹; Jessica Brasau Silva²; Antônio Jussie da Silva Solino³ Eduardo Souza Freire³.

¹Acadêmico da Universidade de Rio Verde – UniRV, E-mail: esfreire26@yahoo.com.br; ² Pesquisadora Biovalens; ³Professor Orientador da Universidade de Rio Verde – UniRV.

Ocasionada pelo fungo *Colletotrichum truncatum*, a antracnose é uma das principais doenças limitantes na produtividade da soja. O uso de moléculas químicas é o principal método de controle empregado. Contudo, buscando uma alternativa de manejo sustentável e com ativos menos tóxicos ao ambiente e ao homem, objetivou-se estudar a eficácia agrônômica do biofungicida *Bacillus subtilis* BV02 (Bio-Imune®) (BV02) no manejo de *C. truncatum* associado ou não com fertilizante mineral com alta concentração de cobre (NHT® Cobre super) (NHT). O experimento foi conduzido no campus da Universidade de Rio Verde. Utilizou-se sementes de soja cultivar M7739 IPRO Monsoy. As plantas foram pulverizadas com BV02, na concentração 3×10^9 UFC mL⁻¹ nas doses 0, 0,5, 1,0, 2,0 ou 4,0 L p.c. ha⁻¹ isoladas ou combinadas com o NHT na dose de 0,15 L ha⁻¹. Como testemunha química utilizou-se azoxistrobina + benzovindiflupyr + mancozebe (Elatus® + Unizeb Gold®) na dose de 300 g p.c ha⁻¹ + 3 kg ha⁻¹. As pulverizações com cada tratamento se deram com pulverizador agrícola CO₂, com taxa de aplicação de 200 L ha⁻¹, iniciando-se no estágio fenológico V6 da soja, e as subseqüentes a cada 15 dias. Foi avaliada a incidência de *C. truncatum* nas hastes, pecíolos e folhas infectadas, em quatro plantas por parcela, aos 12 dias após a primeira aplicação. As avaliações subseqüentes se deram a cada seis dias, totalizando seis avaliações. Os valores foram transformados em área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Ao final, avaliou-se a produtividade em sacos por hectare. O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, com 11 tratamentos e quatro repetições. Na análise de incidência, todos as doses com BV02, associados ou não com NHT, diferiram estatisticamente da testemunha sem tratamento. A combinação BV02 + NHT na dose 2,0 L p.c. ha⁻¹ apresentou o menor índice de AACPD de antracnose. Na avaliação de produtividade, os tratamentos com BV02 nas doses 1,0 e 2,0 L p.c. ha⁻¹, e as doses de 0,5, 1,0 e 4,0 L p.c. ha⁻¹ associado com NHT diferiram estatisticamente da testemunha, porém não diferiram entre si. Plantas de soja tratadas com 0,5 L p.c. ha⁻¹ de BV02 + NHT produziram quase 8 sacos ha⁻¹ a mais, quando comparadas com as plantas sem tratamentos. Conclui-se que o fungicida microbiológico BV02 combinado ou não com NHT foi eficaz no manejo da *C. truncatum*, além de promover incremento produtivo em soja.

Palavras-chave: Controle biológico; *Colletotrichum truncatum*; *Glycines max*.

Apoio: Biovalens.



Área: Controle Biológico

INFLUENCE OF FUNGICIDE AND ANTIBIOTIC ON SOIL MICROBIOME ANTAGONISTIC TO *Meloidogyne incognita*.

Thaís Conrado Nunes Santos¹, Júlio Carlos Pereira da Silva², Rafael Zaia¹, Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros¹.

¹ Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, thaisaconradons@gmail.com ² Departamento de Defesa Fitossanitária, Universidade Federal de Santa Maria.

Soil biodiversity plays a key role in regulating biological processes within ecosystems. However, soil microbial community are directly affected by different crop systems and also by chemicals, which may interfere in the natural suppressiveness against plant-pathogens. So, this work aimed to evaluate which groups of microorganisms act on the suppression to *Meloidogyne incognita* in two suppressive soils of crop systems (organic and conventional). To evaluate the performance of fungi and bacteria separately in the suppressive soils, the soil slurry extracted from both soil systems was applied in trays filled with sterilized substrate and a tomato seedling cv. Regina. The soils received chemical fungicides or antibiotics as following: T1 (conventional soil slurry with streptomycin-100ppm), T2 (conventional soil slurry with cyproconazole-100ppm), T3 (conventional soil slurry with streptomycin+cyproconazole-100ppm), T4 (conventional soil slurry), T5 (organic soil slurry with streptomycin-100ppm), T6 (organic soil slurry cyproconazole-100ppm), T7 (organic soil slurry with streptomycin+cyproconazole-100ppm), T8 (organic soil slurry), T9 (water control) with 4 repetitions each treatment. After 3 days, 200 second-stage juveniles of *M. incognita* were inoculated in each repetition. The number of galls and eggs in the tomatoes roots was evaluated at the end of 45 days. The treatments with organic soils obtained a better control of the nematodes. Furthermore, the best control of nematodes was found in the substrate where the full microbiome (only soil slurry) of each soil was applied for both systems. Compared to water control, the number of galls was reduced by 88 and 79% by applying soil microbiome of organic and conventional soil systems, respectively, and the number of eggs was reduced by 97.5 and 92% by applying organic microbiome and conventional microbiome, respectively. The soils treated with the combination of fungicide + antibiotic presented the highest number of galls and eggs. The organic slurry treated only with fungicide had 20% less gall and 10% less eggs than the antibiotic treated slurry. The conventional soil slurry treated with fungicide reduced more the number of galls (44%) and eggs (45%) than antibiotic treated slurry. We concluded that the organic soil is more suppressive to *M. incognita* and that the bacterial community performed better activities against the nematode, but the whole microbiome is highly important to suppress the nematode.

Key-words: soil suppressiveness, nematology, biological control

Support: CNPq.



Área: Controle químico

ETILFOSFONATO DE COBRE COMO REFORÇO AO FUNGICIDA FLUXAPIROXADE+PIRACLOSTROBINA PARA O MANEJO DO OÍDIO DA SOJA

Manoel Batista da Silva Júnior¹; Victor Augusto Maia Vasconcelos²; Lucas Barbosa Antonelli²; Alberto Carlos Bittencourt Junqueira²; Deila Magna dos Santos Botelho²; Mário Lúcio Vilela de Resende³.

¹Analista de Pesquisa e Desenvolvimento da Satis (manoel@satis.ind.br); ²Departamento de Fitopatologia/UFLA; ³Professor Orientador Departamento de Fitopatologia/UFLA.

O oídio causa desfolha, queda na fotossíntese e reduz a produtividade da soja em 20 a 50%. A doença se inicia no terço inferior da planta próximo ao período de florescimento e o fechamento da lavoura neste estágio dificulta o manejo. Os fosfonatos se movem no floema e atuam por indução de resistência e nutrição do hospedeiro ou toxidez direta ao patógeno. Assim, objetivou-se avaliar uma formulação de etilfosfonato de cobre (EFCu) como reforço ao fungicida fluxapiroxade+piraclostrobina (Fung) no manejo do oídio da soja. Foram utilizadas plantas do cultivar NA5909 RG plantadas em vasos de 5 L. Os tratamentos testados foram: EFCu (0,5 L/ha), Fung (0,35 L/ha), EFCu + Fung e uma testemunha sem aplicação. Todos os tratamentos foram aplicados com pulverizador manual pressurizado (200 L/ha e 30 psi) nos estádios R_1 , R_{1+15} dias e R_{1+30} dias. Para simular a condição de campo, o terço inferior das plantas foi protegido com saco plástico para a aplicação atingir apenas o terço superior. Foram realizadas 5 avaliações da severidade do oídio em nove folíolos do terço superior e nove no inferior. Foram então calculados a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) e o controle promovido em cada tratamento. Foi montado um segundo ensaio para detectar o teor de fluxapiroxade no terço inferior. Os tratamentos foram aplicados apenas no terço superior em R_1 , os folíolos do terço inferior foram coletados 15 dias após a aplicação e enviados a laboratório onde o teor de fluxapiroxade foi determinado por cromatografia gasosa (CGMS). A análise estatística foi realizada no software R em esquema fatorial 4 x 2 (4 tratamentos x terço inferior/superior). As médias foram diferenciadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Houve interação significativa entre os fatores. No terço superior os tratamentos não diferiram entre si e promoveram controle de 53 a 67%. Já no terço inferior EFCu+Fung diferiu-se dos tratamentos testados isoladamente e promoveu controle de 77%. Os tratamentos Fung e o EFCu promoveram controle de 34 e 48%. Observou-se maior AACPS no terço inferior das plantas avaliadas em todos os tratamentos, com exceção do tratamento EFCu+Fung em que não houve diferença significativa. Na análise de cromatografia gasosa foram detectados 4,2; 1,7 e 0,0 ppm de fluxapiroxade nos tratamentos EFCu+Fung, Fung e testemunha, respectivamente. A mistura EFCu+fungicida promoveu aumento significativo do controle do oídio e do teor da carboxamida no terço inferior de plantas de soja.

Palavras-Chave: *Microsphaera diffusa*, *Glycine max*, Controle químico.



Área: Controle químico

ETILFOSFONATO DE COBRE ASSOCIADO A FUNGICIDAS NO MANEJO DO TOMBAMENTO EM FEIJOEIRO COMUM

Alberto Carlos Bittencourt Junqueira¹; Manoel Batista da Silva Júnior²; Guilherme Rocha Oliveira Boaventura²; Deila Magna dos Santos Botelho¹; Flávio Campos Cordeiro³; Hélio Peres de Alcântara⁴

¹Departamento de Fitopatologia/UFLA (alberto.bittencourt24@gmail.com); ²Satis Indústria e Comércio LTDA; ³Graduando Uniaraxá; ⁴Professor orientador Uniaraxá.

O tombamento é uma doença comum em áreas irrigadas de feijão. O fungo *Rhizoctonia solani* sobrevive no solo e causa um estrangulamento da planta no coleto causando assim o tombamento. Uma das medidas de manejo consiste no tratamento de sementes com fungicidas. Os fosfonatos vem sendo estudados no manejo de doenças de plantas, porém com poucos trabalhos no tratamento de sementes. Assim, o objetivo deste ensaio foi avaliar uma formulação de etilfosfonato de cobre (EFCu) associado a fungicidas no manejo do tombamento na cultura do feijão. O ensaio foi conduzido em área comercial plantada com o cultivar Dama em espaçamento de 0,5m entre linhas e 12 plantas/metro linear (240000 plantas/ha), irrigada com pivô central em DBC com 4 repetições. Os tratamentos testados foram: etilfosfonato de cobre - EFCu (5 mL/Kg sementes), fludioxonil + metalaxil - Flume (3 mL/Kg sementes), pencycuron – Pen (3 mL/Kg sementes), EFCu+Flume, EFCu+Pen e uma testemunha sem aplicação. Todos os tratamentos foram aplicados via TS com auxílio de sacos plásticos. Após tratadas, as sementes foram plantadas de forma manual. As parcelas foram compostas por 4 linhas de plantio com 5m de comprimento, sendo a área útil os 4m centrais. Foram avaliados o estande inicial (EI) aos 15 dias após a emergência (DAE), estande final (EF), peso seco da parte aérea (PFPA) e de raízes (PFR) aos 30 DAE. Ao fim do ensaio as parcelas foram colhidas manualmente, os grãos debulhados e seu peso aferido com balança de precisão para determinação da produtividade em sacos/ha. Foi também avaliado o peso de mil grãos. As análises estatísticas foram realizadas no software R e as médias foram diferenciadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Para o EI todos os tratamentos, exceto Pen e EFCu diferiram da testemunha. Para o EF todos os tratamentos diferiram da testemunha, porém EFCu+Flume foi o de maior efeito. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos e a testemunha para o PFPA. Em relação ao PFR todos os tratamentos, exceto Pen, diferiram da testemunha. O tratamento EFCu+Flume foi o de maior efeito no PFR. Para a produtividade e o PMG não houve diferenças significativas entre os tratamentos e a testemunha, porém houve incrementos não significativos de 3,6 a 6,6 sacos na produtividade e de 15 a 27,5g no PMG. A associação do EFCu aos fungicidas melhorou o manejo do tombamento nas fases iniciais, mas não promoveu incrementos significativos na produtividade.

Palavras-Chave: *Rhizoctonia solani*; *Phaseolus vulgaris*; Tratamento de sementes.

Apoio: Satis Indústria e Comércio Ltda.



Área: Epidemiologia

CORRELAÇÃO ENTRE INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE FERRUGEM E A QUALIDADE DE BEBIDA EM CAFÉ ARÁBICA

Dyanna Rangel Pereira¹; Denis Henrique Silva Nadaleti²; Eduardo Campos Rodrigues³; Diego Junior Martins Vilela⁴; Samuel Pereira de Carvalho⁵; Gladyston Rodrigues Carvalho⁶

¹Bolsista CNPq/Doutorado em Fitotecnia/UFLA (dyannarangel@hotmail.com); ²Bolsista CAPES/Doutorado em Fitotecnia/UFLA; ³Bolsista Consórcio Pesquisa Café /UFLA; ⁴Pesquisador EPAMIG; Professor Orientador Departamento de Agricultura/UFLA; ⁶Pesquisador Coordenador EPAMIG.

A ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*) representa um dos principais problemas fitossanitários para a cultura, com prejuízos quanto à redução da área foliar e queda na produtividade. O desenvolvimento de cultivares resistentes é de fundamental importância para o controle da doença. O Híbrido de Timor (HDT), um híbrido natural entre cafés arábica e robusta, tem se mostrado uma ótima opção com relação à resistência à ferrugem, porém, sua qualidade de bebida é questionada devido ao seu *background* genético proveniente de *Coffea canephora*. Objetivou-se verificar se a resistência à ferrugem existente em genótipos de HDT está correlacionada com a melhor ou pior qualidade de bebida. O experimento foi realizado no ano agrícola de 2018/19, no Campo Experimental de Patrocínio da EPAMIG. Foram avaliados quatro genótipos de café arábica, implantados em DBC com duas repetições e dez plantas por parcela, sendo dois do grupo HDT (MG0277 e MG0313), e dois do grupo Bourbon (MG0006 e MG0012). Em cada parcela metade das plantas receberam controle químico para ferrugem e a outra metade não, totalizando oito tratamentos. Foram realizadas, de março a maio de 2019, quatro amostragens foliares para avaliação da incidência e severidade de ferrugem. Após a colheita, secagem pelo processamento via seca (11%) e beneficiamento dos frutos colhidos no estágio “maduro”, foi realizada a análise sensorial por meio da metodologia proposta pela SCA. Foi realizada a análise de variância e, quando detectadas diferenças significativas no teste F, o teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade para agrupar as médias, com auxílio do software *Sisvar*. Foi realizada também a análise de correlação entre os caracteres avaliados, pelo software *Genes*. Houve efeito significativo de genótipos para o caráter qualidade de bebida. Para os caracteres incidência e severidade de ferrugem, houve efeito significativo de genótipos, controle de ferrugem e interação genótipos x controle de ferrugem. Os resultados indicaram que o genótipo MG0277 é o único resistente dentre os avaliados, havendo, portanto, variabilidade para esse caráter dentro do grupo HDT. Foi revelada baixa correlação entre os caracteres qualidade de bebida x incidência de ferrugem (8,16%) e qualidade de bebida x severidade de ferrugem (9,98%). Assim, constata-se que há variabilidade dentro do germoplasma HDT para a obtenção de genótipos que apresentem resistência a ferrugem e boa qualidade de bebida.

Palavras-chave: *Coffea arabica*; *Hemileia vastatrix*; análise sensorial.

Apoio: EPAMIG, CNPq, UFLA, Federação dos Cafeicultores do Cerrado, Consórcio Pesquisa Café, FAPEMIG, CAPES e INCT do Café.



Área: Indução de Resistência

AVALIAÇÃO DO EFEITO DE FOSFITOS E FUNGICIDA COM O PROGRAMA DE PROTEÇÃO E NUTRIÇÃO DE CAFÉS, NO CONTROLE DE *Hemileia vastatrix* E PRODUTIVIDADE DO CAFEIEIRO

Dario Amadeu de Muniz Oliveira¹, Mário Lúcio Vilela de Resende², Nykolos Carvalho Schiavon³, Maria Eduarda Rodrigues Andrade⁴, Matheus Henrique Brito Pereira⁴, Deila Magna Santos Botelho¹.

¹Bolsista EMBRAPA/INCTdoCafé/UFLA (darioamadeu@hotmail.com); ²Professor Orientador Departamento de Fitopatologia/UFLA, ³Coordenador técnico Santa Clara Agrociência; ⁴Bolsista PIBIC/UFLA.

A ferrugem alaranjada do cafeeiro, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome, é a principal doença da cultura, podendo, em condições favoráveis e na ausência de controle químico, causar perdas de 35 a 50% da produção. Para minimizar os prejuízos causados por *H. vastatrix*, o controle químico, por meio do uso de fungicidas cúpricos e sistêmicos, tem se mostrado eficiente. Contudo torna-se necessário a realização de testes com novas formulações que apresentem eficiência no manejo da ferrugem. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o programa de proteção e nutrição de cafés com o fungicida Azostrobin + ciproconazol aplicado isoladamente e com adição de fosfito de K e fosfito de Mn, no controle da ferrugem e o incremento de produtividade. O ensaio foi conduzido na Universidade Federal de Lavras/Vitrine de Cultivares de Café (INCT-Café). A cultivar utilizada foi Topázio MG-1190, com três anos, em espaçamento 0,75 m x 3,60m. Utilizou-se um delineamento experimental em blocos casualizados, com cinco tratamentos e quatro repetições, sendo cada parcela composta por 10 plantas. A severidade da doença foi estimada pela porcentagem de área foliar lesionada, em cinco avaliações. Com os dados de severidade calculou-se a área de abaixo da curva de progresso da severidade da doença. A partir do volume dos frutos colhidos nas plantas quantificou-se também a produtividade. Os dados foram submetidos a análise de variância pelo software SISVAR versão 5.6 e aplicado o teste de Scott-Knott, à 5% de probabilidade. Na avaliação da severidade da ferrugem do cafeeiro, observou-se que os tratamentos do programa de proteção e nutrição de cafés + fungicida e Fosfito de K + fungicida, apresentaram os melhores resultados, com controle de 49,2% e 44,2%, respectivamente, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Em relação à produtividade, os tratamentos programa de proteção e nutrição de cafés + fungicida, fungicida e o tratamento fosfito de K + fungicida, obtiveram as melhores produtividades, respectivamente 38,5; 35,5 e 28,7 sacas, sendo estatisticamente semelhantes entre si. Com base nos dados obtidos é possível afirmar que os tratamentos programa de proteção e nutrição de cafés + fungicida e Fosfito de K + fungicida, proporcionaram os melhores resultados de controle de *H. vastatrix* e produtividade do cafeeiro, em condições de campo.

Palavras-Chave: Ferrugem; Indução de resistência; Café.

Apoio: Santa Clara Agrociência, Embrapa/INCT Café.



Área: Indução de Resistência

AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DE SORGO À HELMINTOSPORIOSE NO PARAGUAI

Gerald Sormanti¹, Humberto Sarubbi².

¹ Bacharel em Agronomia pela Universidad Nacional de Asunción, Instituição: Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, Campus Universitário, Lavras – MG, Brasil(sormanti@gmail.com); ² Mestre em Proteção Vegetal pela Universidad Nacional de Asunción, Instituição: Universidad Nacional de Asunción, Departamento de Proteção Vegetal, Campus Universitário, Asunción, Paraguai.

Entre as principais doenças foliares que afetam ao sorgo encontra-se a helmintosporiose ocasionada pelo fungo *Exserohilum turcicum*. A doença pode causar perdas significativas na produtividade do cultivo, seja de forma qualitativa ou quantitativa, principalmente numa produção destinada a forragem. Em caso de estabelecimento do patógeno a início da floração, as perdas de produção variam de 30 a 50% e isso evidencia a importância e necessidade de pesquisas deste patossistema que sirvam para direcionar os programas de melhoramento de plantas. O objetivo deste trabalho constituiu em avaliar a resistência de cultivares de sorgo forrageiro à helmintosporiose (*Exserohilum turcicum*). O experimento foi conduzido de dezembro de 2016 a março de 2017, em casa de vegetação localizada na área de Proteção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidad Nacional de Asunción - Paraguai. Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 5 tratamentos e 4 repetições, totalizando 20 unidades experimentais. Foi utilizado como material vegetal as cultivares Sac 710, Productor 401, AD 91 Sucrol, VDH 701 e Jumbo, obtidas no mercado local. As plantas foram inoculadas aos 40 dias após a emergência das mesmas com uma concentração de conídios.mL⁻¹ de *E. turcicum*. Foram avaliadas a incidência e severidade (utilizando uma escala diagramática com valores de 1 a 7, onde 1 corresponde ao dano mínimo e 7, dano máximo) aos 10, 20 e 30 dias após da inoculação (DAI). Os dados obtidos da incidência foram submetidos a análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para a severidade, os dados foram submetidos ao método do Qui-quadrado para determinar a frequência absoluta obtida dos diferentes graus da severidade para cada um dos tratamentos ao longo do progresso da doença. Os resultados obtidos nesta pesquisa mostraram que todas as cultivares são suscetíveis à doença. A incidência apresentou valores máximos para todos os tratamentos e avaliações, sem diferenças estatísticas significativas. O progresso da doença entre as avaliações aos 10 e 30 DAI, marca uma severidade mínima a máxima com um aumento médio de 45,8% para todos os tratamentos. A partir dos resultados obtidos verifica-se a necessidade de continuar o melhoramento de cultivares de sorgo visando a obtenção de genótipos resistentes ou tolerantes à helmintosporiose.

Palavras-chave: Sorghum bicolor; Exserohilum turcicum; Resistência.

Apoio: Universidad Nacional de Asunción.



Área: Indução de Resistência

INDUCTION OF SOIL DISEASE SUPPRESSION TO THE SOILBORNE PATHOGEN *Bipolaris sorokiniana* IN WHEAT

Mírian Rabelo de Faria^{1,2}; Lilian Simara Abreu Soares Costa¹; Josiane Barros Chiaramonte^{1,3}; Tim Mauchline⁴; Wagner Bettiol¹; Rodrigo Mendes¹.

¹Embrapa Environment (Rodovia SP-340, Km 127,5, Tanquinho Velho, Jaguariúna, SP) (mirianrabelofaria@yahoo.com.br); ²UNESP/FCA “Júlio de Mesquita Filho” (Fazenda Lageado, nº 1780, 18.610-307 - Botucatu, SP); ³Esalq-USP (Avenida Pádua Dias s/n - Piracicaba, SP); ⁴Rothamsted Research, West Common, Harpenden, Hertfordshire, AL5 2JQ, UK.

The understanding of interactions between microorganisms and plants in the rhizosphere is key to develop sustainable strategies to improve nutrient acquisition, abiotic stress tolerance, and disease resistance. Here, we inoculated *Bipolaris sorokiniana* across successive cultivation cycles to induce soil disease suppression using different wheat genotypes. Disease assessment and rhizosphere soil sampling for 16S sequencing was repeated for 5 cycles in a microcosm setting. In each cycle, disease severity index (DSI) was evaluated four weeks after pathogen inoculation in two resistant (IAC and Frontana) and in two susceptible (Karakilcik and Guamirim) genotypes. Then, based on DSI over cycles we selected the most contrasting genotypes, i.e. Frontana (R) and Guamirim (S), for evaluation of the induction of soil suppressiveness, rhizosphere bacterial community structure and network and rhizosphere metabolites. The results showed that, while the resistant wheat increases the level of disease throughout the cycles, the susceptible genotype decreases the level of disease over cycles. This observation suggests that a susceptible host is needed for disease suppression induction. As a proof of concept test, the genotype with the highest DSI after the cycles Frontana – (R) was cultivated in soil enriched with its own microbiome and in soil previously cultivated with the Guamirim – (S). The results of this trial revealed that the soil where disease suppression was induced by Guamirim – (S) is able to reduce disease levels in Frontana (R). Bacterial community analysis revealed a shift in the community structure across cycles enriching bacterial families associated with plant protection and different metabolic functions i.e. (*Chitinophagaceae* and *Rhodospirillaceae*), during soil suppression induction. Networks analysis of treatment with Frontana (R) - Guamirim (S) showed lower modularity, however the higher number of communities and longer average path lengths compared to the treatment with Frontana (R) – Frontana (R). The metabolomic data showed that when the rhizosphere is invaded by the pathogen, in soils cultivated in all cycles, the number and diversity of compounds are higher when compared with the other treatments. In conclusion, the results suggest that the disease defense process is correlated with the recruitment of rhizosphere-associated bacterial groups and this process is determined by the host genotype in the presence of the pathogen.

Key-words: Plant - microbe interactions; Plant protection; Manipulation - rhizosphere community.

Support: EMBRAPA/BBSRC 12.15.07.001.00.00, FAPESP (2016/13754-1), FAPESP (2017/14063-05), FAPESP (2015/14680-09), CNPq 443112/2014-2 and CAPES.



Área: Indução de Resistência

TEOR DE FENÓIS SOLÚVEIS TOTAIS EM GENÓTIPOS CONTRASTANTES PARA RESISTÊNCIA À MANCHA AUREOLADA DO CAFEIEIRO

Victor Augusto Vasconcelos¹; Stefanny Araújo Martins¹; Mário Lucio Vilela de Resende²; Alexandre Rezende Teixeira³; Deila Magna dos Santos Botelho⁴, Yohana de Oliveira Medeiros⁵.

¹ Departamento de Fitopatologia/UFLA (victoraugusto_m@hotmail.com); ² Professor Orientador Departamento de Fitopatologia/UFLA; ³ Técnico Fitopatologia/UFLA, ⁴ Bolsista Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Café - INCT Café, ⁵ Bolsista CNPq /UFLA.

Compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário e podem estar envolvidos nos mecanismos bioquímicos e estruturais de resistência em plantas. Objetivou-se no presente trabalho avaliar o teor de fenóis solúveis totais em genótipos parcialmente resistentes (Iapar-59, UFV 7158), resistente (IPR 102) e suscetível (Mundo Novo 376/4) à mancha aureolada do cafeeiro. Folhas de mudas de cafeeiro dos diferentes genótipos testados foram coletadas, secas em estufa a 50°C até atingir peso constante e posteriormente foram trituradas. Para cada 0,5g de folha, foram adicionados 50 mL de água e a extração foi realizada sob aquecimento, até a temperatura de ebulição por três minutos. Posteriormente os extratos foram filtrados e uma alíquota de 125 µL foi misturada com 625 µL do reagente Folin-Ciocalteau (diluído em água destilada 1:10) e 500 µL de carbonato de sódio 4%. Após duas horas de incubação foi medida a absorbância em espectrofotômetro, modelo DU 640B à 750 nm, 23°C ± 2°C. Os resultados do teor de compostos fenólicos totais foram expressos como equivalentes a massa seca de ácido gálico (mg AG. g⁻¹), calculados por meio de uma curva construída com concentrações que variaram de 5 a 100 µg. mL⁻¹. A cultivar Mundo Novo 376/4 apresentou o menor teor de compostos fenólicos totais (13,87 mg/g), diferindo dos demais genótipos analisados. Os genótipos IPR 102, Iapar-59 e UFV 7158 apresentaram valores de 59,96; 48,36 e 47,43, respectivamente, tais teores são aproximadamente três vezes maiores quando comparado a cultivar Mundo Novo, suscetível a mancha aureolada do cafeeiro. Genótipos resistentes e parcialmente resistentes apresentam maiores teores de fenóis solúveis totais quando comparados ao genótipo susceptível.

Palavras-Chave: Coffea arabica; Compostos fenólicos; Resistência.

Apoio: CNPq, FAPEMIG, INCT do CAFÉ.



Área: Indução de Resistência

TEOR DE ÁCIDO CLOROGÊNICO EM GENÓTIPOS CONTRASTANTES PARA À MANCHA AUREOLADA DO CAFEIEIRO

Victor Augusto Vasconcelos¹; Stefanny Araújo Martins¹; Mário Lucio Vilela de Resende²; Alexandre Rezende Teixeira ³; Deila Magna dos Santos Botelho¹, Matheus Brito Pereira¹.

¹ Departamento de Fitopatologia/UFLA (victoraugusto_m@hotmail.com); ² Professor Orientador Departamento de Fitopatologia/UFLA; ³ Técnico Fitopatologia/UFLA.

Compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário e podem estar envolvidos nos mecanismos bioquímicos e estruturais relacionados à resposta de defesa em plantas. Existem diversas substâncias fenólicas associadas à resistência a doenças como, por exemplo, o ácido clorogênico. Objetivou-se no presente trabalho avaliar o teor de ácido clorogênico em genótipos parcialmente resistentes (Iapar-59, UFV 7158), resistente (IPR 102) e suscetível (Mundo Novo 376/4) à mancha aureolada do cafeeiro, cujo agente etiológico é a bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. Para quantificação do ácido clorogênico, foram coletadas folhas de mudas de cafeeiro dos diferentes genótipos testados, secas em estufa a 50 °C até atingir peso constante, sendo posteriormente trituradas. A quantificação foi realizada em cromatógrafo HPLC Shimadzu, equipado com bomba quaternária de alta pressão modelo LC-20AT, degaseificador modelo DGU-20A5, interface modelo CBM-20A, injetor automático modelo SIL-20A-HT e detector UV-Vis (SPD-20A). Foi utilizado como fase móvel para a eluição do ácido clorogênico, a solução de ácido acético a 1% em água e metanol: água: ácido acético (85: 14: 1% v/v). As amostras e os padrões foram eluídos em modo isocrático. O comprimento de onda utilizado foi de 272 nm, fluxo de 1,0 mL min⁻¹ e volume de injeção de 20 µL. O genótipo UFV 7158 apresentou maior concentração de ácido clorogênico (2,44%) nas folhas, diferindo-se das demais cultivares testadas. Nas cultivares IPR 102 e Iapar-59, o teor de ácido clorogênico foi de 2,01 e 1,68%, respectivamente. A cultivar Mundo Novo apresentou o menor valor dentre os materiais avaliados, 0,41%. Para as progênies com teor de ácido clorogênico acima de 2% foram observadas as menores incidências de doença. O mesmo pode ser correlacionado como marcador químico de resistência de progênies de cafeeiro à mancha aureolada.

Palavras-Chave: Coffea arábica; cromatografia líquida de alta eficiência; composto bioativo.

Apoio: CNPq, FAPEMIG, INCT do CAFÉ.



Área: Indução de Resistência

***Bacillus* spp. STRAINS SELECTION WITH ANTAGONISTIC ACTIVITY AS POTENTIALS ELICITORS OF SYSTEMIC RESISTANCE AGAINST GRAY MOLD IN PEPPER PLANTS**

Robert Márquez Gutiérrez^{1,2*}; Erika Lorena Blanco Carrero³; Yani Aranguren Díaz⁴

¹Laboratorio de Fisiología Molecular de Plantas, UFLA (robertmarquez993@gmail.com); ²Laboratorio de Fitobiotecnología, Departamento de Biología, ULA, Mérida, Venezuela; ³Laboratorio de Biotecnología y Química de Polímeros, UNET, San Cristóbal, Venezuela; ⁴ Laboratorio de Investigaciones en Microbiología, USB, Barranquilla, Colombia.

Bacillus species can be found within the Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) community; such genera are of high biotechnological importance because some strains are potentially antagonistic in the rhizosphere, wherein it has been estimated that virtually 8% of the genome is intended for the production of inhibitory substances. The aim of this study was to select native strains of *Bacillus* spp. isolated from the rhizosphere of a corn plant capable of presenting antagonistic mechanisms and inducing resistance to gray mold using pepper plants. The rhizospheric suspension was undergone to pasteurization to eliminate the vegetative cells. Each suspension was cultured in free-nitrogen medium and after 5 days in 30 °C five isolates were selected from colonies through macroscopic analyses. Isolated strains were identified using the 16S ribosomal RNA gene analysis. Sequences were amplified using colony polymerase chain reaction (PCR). To assess the antagonistic effect of the strains, dual cultures were performed in PDA medium with *Botrytis cinerea* and *F. solani* phytopathogens in individual experiments. To assess systemic resistance induction against *B. cinerea* in pepper plants with the two strains selected, it was conducted 2 experiments (each strains) repeated 5 times with 4 treatments each. The treatments were: control plants (T1), plants inoculated at root with strain (T2), plants infected with pathogen (T3), and plants inoculated with strain at root and infected with pathogen one week later (T4). Based on the identification using 16S sequences, the strains M3 and M15 displayed similarity with two *Bacillus* species; strain M8 with *B. pumilus*, strain M10 with *B. clausii*, and strain M16 with *B. licheniformis*. Phylogenetic analysis confirmed the identity of these species when grouped in the same clades. Only strains M8 and M16 significantly inhibited the *in vitro* growth of *Botrytis cinerea* and *Fusarium solani* phytopathogens. According to the results, strain M8 did not significantly inhibit the spread of necrotic lesions in pepper leaves infected with *B. cinerea*, inconsistent with the results of strain M16, which significantly inhibited the growth of necrotic lesions during the 9-day experiment. Accordingly, the use of native rhizobacteria may entail biotechnological progress for the integrated management of crops in agriculture industry.

Key words: *Bacillus* spp; *Botrytis cinerea*; induced systemic resistance.

Support: CDCHTA–ULA, Laboratorio de Fitobiotecnología, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.



Área: Nematologia

ACTIVE SYNTHESIZED CHALCONES IN VITRO AND IN VIVO AGAINST *Meloidogyne incognita*, AND *in silico* STUDIES

Fabiola de Jesus Silva¹; Vicente Paulo Campos²; Denílson Ferreira de Oliveira³; Vanessa Alves Gomes⁴; Aline Ferreira Barros⁵; Edson Rodrigues-Filho⁶.

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia/UFLA; ²Professor Orientador Departamento de Fitopatologia/UFLA; ³Professor do Departamento de Química/UFLA; ⁴Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas/UNESP; ⁵Pós-Doutoranda do Departamento de Fitopatologia/UFLA; ⁶Professor do Departamento de Química/UFSCar. E-mail: fa.agronomia@gmail.com

Plant diseases are obstacles to global food production, requiring control strategies for causal agents. Among the strategies used are chemical pesticides. However, overuse of these toxic molecules in agriculture causes serious environmental problems. Hence the need for alternative and sustainable strategies for the management of plant diseases, such as the use of natural compounds and biological agents. In this work, the activity of 12 chalcone analogues against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* was studied. Three caused mortality greater than negative controls in second-stage juvenile *M. incognita*, with values varying from 19.9% to 100%. The most active chalcone analog was (1*E*,4*E*)-1,5-di(4-nitrophenyl)-2-butylpenta-1,4-dien-3-one (compound **6**), which had an LC₅₀ value of 41 µg/mL. Under the same conditions, the commercial nematicide Carbofuran[®] (2,2-dimethyl-2,3-dihydro-1-benzofuran-7-yl methylcarbamate) presented an LC₅₀ equal to 101 µg/mL. When this chalcone was applied to *M. incognita* infested tomato seedlings, there was a 51% reduction in gall number and 68% reduction in egg number compared to water treatment (negative control). According to *in silico* studies, the enzyme target of compound **6** in *M. incognita* is cytochrome P450, which is important for the oxidation of several substances in the nematode. Therefore, compound **6** is potentially useful for the development of new products to control *M. incognita*.

Palavras-Chave: Solanum lycopersicum; Root-knot nematodes; Nematicide.

Apoio: CNPq, FAPEMIG.



Área: Microbiologia Agrícola

EFICÁCIA DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS *in vitro* PARA O CONTROLE DE *Fusarium oxysporium*

Gracielle Vidal Silva Andrade¹; Adalvan Daniel Martins², Gustavo Magno dos Reis Ferreira², Joyce Dória Rodrigues Soares², Moacir Pasqual².

¹Mestranda do Departamento de Fitotecnia/UFLA (GracielleVidal@hotmail.com); ²Departamento de Fitotecnia/UFLA; ³Professor Orientador Departamento de Fitotecnia/UFLA.

Bactérias endofíticas tem chamado atenção e impulsionado estudos devido ao seu potencial de biocontrole em doenças fúngicas. Murchas causadas por *Fusarium oxysporium* são consideradas um dos principais fatores de declínio e morte de plantas do gênero *Cattleya*. Objetivou-se no presente trabalho avaliar a atividade de bactérias endofíticas antagonista a *F. oxysporium* em *Cattleya walkeriana*. Nesse sentido, bactérias endofíticas foram isoladas de folhas e raízes de *C. walkeriana* e submetidas a testes de inibição para controle do crescimento fúngicos em placas de Petri. Foram avaliadas 103 cepas isoladas. O experimento foi realizado em placas de Petri contendo meio BDA e Ágar Nutriente. Dois discos de micélio (5 mm) de *F. oxysporium* retirados de uma cultura de cinco dias de incubação a 25 °C em BOD, foram colocados a dois cm da borda da placa. Em seguida, fez-se uma estria ao centro da placa, entre os dois discos de micélio, com 20 µl de suspensão bacteriana (10^{-8} CFU mL⁻¹), previamente cultivada em caldo nutriente. Cada bactéria constituiu um tratamento, os controles foram preparados de maneira semelhante sem suspensão bacteriana no meio das placas. O ensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada isolado, sendo cada repetição constituída de uma Placa de Petri. Após cinco dias de incubação a 25 °C em BOD, o efeito inibitório das cepas bacterianas ao patógeno foi determinado calculando-se a taxa de incidência (ICD%) de acordo com a fórmula: $ICD\% = [(CB) / C] \times 100$, onde C é o diâmetro do micélio fúngicos do controle e B o diâmetro do micélio fúngicos cultivado na presença da bactéria endofíticas. Das cepas avaliadas, duas inibiram o crescimento do patógeno. *Enterobacter asburiae* inibiu 70% do crescimento do patógeno enquanto que *Pantonea dispersa* inibiu 60%. Conclui-se que bactérias endofíticas podem ser usadas para o controle de *F. oxysporium in vitro*.

Palavras chave: Antagonismo; Orquídea; Biocontrole.

Apoio: CNPq, FAPEMIG.



Área: Patologia de Sementes

DETECÇÃO DE FUNGOS PATOGENICOS EM SEMENTES DE CANOLA COM E SEM GRAFITE

Solange Celestino Costa¹; Ivair José de Moraes Júnior²; Adílio de Sá Júnior²; Nilvanira Donizete Tebaldi².

¹Departamento de Fitossanidade e fitopatologia, UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n - Jaboticabal/SP - CEP 14884-900, (scelestinocosta@hotmail.com); ²Departamento de Produção Vegetal/ICIAG-UFU, 78 Câmpus Glória UFU, Rodovia BR 050 Km, Uberlândia/MG. CEP 38410-337.

A canola (*Brassica napus* var. *oleifera*) está sujeita a doenças, como as manchas de alternaria (*Alternaria* spp.), que são favorecidas pela presença de material suscetível, disponibilidade do inóculo e condições climáticas adequadas. Isso pode afetar a qualidade sanitária das sementes. Quando sementes infectadas são levadas a campo pode ocorrer diminuição do vigor, redução da germinação e do estande inicial. O grafite é um lubrificante sólido usado na semeadura para minimizar o coeficiente de atrito entre sementes. Objetivou-se avaliar se híbridos e a adição de grafite em sementes de canola influencia na incidência de fungos fitopatogênicos. O ensaio foi conduzido em condições de laboratório utilizando-se um delineamento em blocos casualizados com sete híbridos de canola: Hyola 61, Hyola 433, Hyola 50, Hyola 571 e Hyola 57 (com grafite); e Hyola Capim Branco e Hyola Glória (sem grafite). As sementes (n = 200) foram dispostas sobre duas folhas Germitest® umedecidas com água destilada e acondicionadas em caixas plásticas gerbox, cada uma contendo 50 sementes. As caixas foram levadas para a incubadora por 12 horas e, em seguida, as sementes foram submetidas ao congelamento por 24 horas para inibição da germinação. Posteriormente, as sementes foram levadas a incubadora a uma temperatura de 20 °C em BOD. As contagens foram feitas aos cinco e sete dias, seguindo as regras de análise sementes (RAS). Após sete dias, foi realizada a avaliação das sementes em um microscópio de luz e, quando necessário, realizada a confirmação dos fungos através de lâminas. Foram encontrados *Aspergillus* sp., *Alternaria brassicicola*, *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. No entanto, *A. brassicicola* foi o gênero com maior incidência no híbrido Hyola 61, enquanto que *Cladosporium* sp. apresentou maior incidência nos híbridos Hyola 61 e Hyola 575. Os fungos encontrados nas sementes representam risco à germinação e essa associação de microrganismos pode afetar de maneira negativa a qualidade fisiológica das sementes. Por fim, a incidência de fungos fitopatogênicos em sementes de canola é influenciada pelo híbrido, mas não é influenciada pela adição de grafite.

Palavras-chave: Brassica napus; fungo; semeadura.

Apoio: CAPES, CNPq



Área: Patologia de Sementes

QUALIDADE SANITÁRIA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES CRIOULAS DE FEIJÃO-GUANDU

Edlânia Maria de Souza¹; Maria Lúcia Maurício da Silva²; Edna Ursulino Alves³; ⁴Maria das Graças Rodrigues do Nascimento; ⁴Mirelly Miguel Porcino.

¹Doutoranda/DAG/UFLA (edlania.maria@hotmail.com); ²Dra. em Agronomia; ³Prof^a. do Departamento de Fitotecnia e Ciências Ambientais/UFPB; ⁴Doutoranda/PPGA/UFPB.

O feijão-guandu [*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh] é uma leguminosa ainda pouco explorada comercialmente para a produção de grãos e consumo humano; sua utilização mais comum é como fonte de proteína para animais, por serem suas folhas e vagens ricas em proteínas. A boa produtividade da cultura depende inicialmente da qualidade sanitária das sementes, um dos aspectos essenciais para o bom desempenho das sementes no campo. Nas sementes podem estar presentes um grande número de microrganismos causando anormalidades nas plântulas, deterioração do tecido embrionário e afetando a germinação e o vigor, o que pode acarretar perda de produtividade. Objetivou-se, portanto, avaliar a qualidade sanitária e fisiológica de sementes crioulas de feijão-guandu. As sementes utilizadas são de diferentes variedades (precoce, rajada e manteiga) provenientes da agricultura familiar do município de Alagoa Nova, PB, safra 2016/2017, as quais estavam armazenadas em garrafas PET, em condições de ambiente natural (temperatura média de 23 °C e UR de 70%), por um período de seis meses. A qualidade fisiológica foi avaliada através do teste de germinação, utilizando-se 200 sementes distribuídas em papel toalha, umedecidas com água destilada na quantidade equivalente a 3 vezes o seu peso seco e acondicionadas em B.O.D com temperatura de 30 °C. A qualidade sanitária das sementes foi avaliada pelo método de *Blotter Test* determinando-se a incidência de fungos. Os fungos observados foram *Aspergillus* sp. e *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., *Rhizopus* sp., *Chaetomium* sp., *Botrytis* sp., *Monilia* sp., *Periconia* sp. e *Fusarium* sp. A maior incidência (44,5%) nas sementes de variedades crioulas de feijão-guandu foi do fungo *Arpergillus* sp., para os demais, a incidência ficou abaixo de 10%. As condições ambientais e o tempo de armazenamento das sementes podem ter contribuído para a maior incidência de *Arpergillus* sp., mas sua infestação não comprometeu a qualidade fisiológica das mesmas, observando-se germinação igual ou superior a 75% para as variedades Precoce e Manteiga. Pesquisas relacionadas ao levantamento fúngico de sementes crioulas são necessárias, uma vez que as mesmas advêm da agricultura familiar, as quais preservam esses genótipos em suas propriedades.

Palavras-Chave: *Cajanus cajan*; Sanidade; Germinação

Apoio: CNPq.



Área: Virologia de Plantas

GEOGRAPHIC BARRIERS TO GENETIC RECOMBINATION: IMPLICATIONS ON THE EVOLUTIONARY DYNAMICS OF BEGOMOVIRUS SUBPOPULATIONS

Ivair José de Morais Júnior¹; Matheus de Morais Santos²; Flávio Tetsuo Sasaki²; Alison Talis Martins Lima¹.

¹Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG (ivair.junior@hotmail.com);

²Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, MG;

The long-term geographic isolation amongst groups of organisms can lead to unique evolutionary patterns on a global scale. The metapopulation of begomoviruses (single-stranded DNA plant viruses) are structured into two main subpopulations that can be further subdivided into seven smaller genetically differentiated subpopulations due to geographical barriers and differences in their host ranges. Although the diversification of begomoviruses are predominantly affected by mutation, the mechanism of recombination contributes with a significant portion of the genetic polymorphisms in each virus subpopulation. Given the geographical isolation, begomovirus subpopulations could exhibit distinct recombination patterns based on sampling location. In this context, the aim of this study was to determine the genetic structure of the global metapopulation of begomoviruses based on a much larger genomic data set available on January 2019 and to compare the recombination patterns of the main subpopulations taking into account their distribution of breakpoints. A total of 5,875 DNA-A (or DNA-A like) sequences were retrieved from GenBank and subdivided into eight subpopulations using the Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC). The detection of recombinant genomes was performed using RDP4 and validated by evidence of non-bifurcated diversification using Neighbor-Net method. The begomoviruses subpopulations inferred via DAPC were: (i) east Asian, (ii) Indian subcontinent, (iii) *African cassava mosaic virus*, (iv) Mesoamerica, (v) Latin America, (vi) *Tomato yellow leaf curl virus*, (vii) sweepoviruses (sweet potato-infecting begomoviruses) and (viii) other cassava mosaic disease associated begomoviruses. The genetic structure of the metapopulation based on *cp* and *rep* gene sequences separately (both genes are physically located in the same DNA molecule) showed incongruences in terms of species/sequence composition suggesting a spurious effect of genetic recombination. In fact, a number of recombinant genomes were detected by RDP and tended to involve parental isolates from the same geographic region. Each genetically differentiated begomovirus subpopulation showed a unique breakpoint distribution pattern suggesting distinct recombination dynamics. Our results indicate that there is no a widely conserved recombination pattern amongst single-stranded DNA viruses.

Keyword: Bioinformatics; Population genomics; Virus evolution.

Support: CNPq, CAPES, UFU.

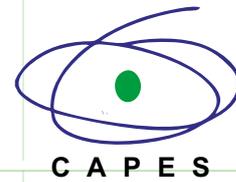
Organization



Realization



Support:



Sponsors:



Biovalens
Biotecnologia ^{TT}

VITTIA
GRUPO



VIGOR

ISBN 978-85-54882-02-0

