

2021 IMAST

III INTERNATIONAL MEETING
OF AGRARIAN SCIENCE
AND TECHNOLOGY



ATUALIDADES NAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS:
MUDANÇAS, TENDÊNCIAS E IMPACTOS





III INTERNATIONAL MEETING OF AGRARIAN SCIENCE AND TECHNOLOGY

IMAST 2021

Organizadores

Profa. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive
Profa. Dra. Elaine Mendonça Bernardes
Dr. Fábio Sampaio Rosas
Prof. Dr. Ricardo da Fonseca



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E
TECNOLOGICAS - FCAT**

Unesp - Câmpus de Dracena

Diretor

Prof. Dr. Fábio Erminio Mingatto

Vice-diretora

Profa. Dra. Sirlei Aparecida Maestá

Comissão Científica Editorial

Profa. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive

Profa. Dra. Elaine Mendonça Bernardes

Prof. Dr. Étienne Groot

Prof. Dr. Evandro Pereira Prado

Prof. Dr. Leandro Tropaldi

Prof. Dr. Paulo Renato Matos Lopes

Prof. Dr. Reges Heinrichs

Prof. Dr. Ricardo da Fonseca

Prof. Dr. Samuel Ferrari

Conselho Editorial

Profa. Dra. Maria José Vicentini Jorente

Prof. Dr. Rodrigo E. Botelho Francisco

Profa. Dra. Joana Gusmão Lemos

Profa. Dra. Dunia Llanes Padrón

Prof. Dr. Jordi Planella-Ribera

Prof. Dr. Daniel Martínez-Avila

Profa. Dra. Alice Semedo

Prof. Dr. José Antonio Frías

Profa. Dra. Rosa San Segundo

Profa. Dra. Marian Blanco Ruiz

Profa. Dra. Cristina Portugal

Prof. Dr. Edberto Ferneda

Profa. Dra. Angela Grossi

Profa. Dra. Jaima Pinheiro de Oliveira

Prof. Dr. Sean Bracken

Dra. Natalia Nakano

Dra. Mariana Cantisani Padua

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvida pela Seção Técnica de Biblioteca e Documentação

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Dracena

I319 IMAST 2021 / Organizadores: Claudia Maria Bertan Membrive, Elaine Mendonça Bernardes, Fábio Sampaio Rosas, Ricardo da Fonseca. -- Marília : Ladri ; Dracena : Unesp, 2021. 445 p. : il. ; 30 cm.

ISBN (Digital): 978-65-81171-04-9

ISBN (Impresso): 978-65-81171-05-6

Inclui bibliografia.

1. Ciências agrárias. 2. Veterinária. 3. Zootecnia. 4. Agronomia. I. Título. II. International Meeting of Agrarian Science and Technology. III. Membrive, Claudia Maria Bertan. IV. Bernardes, Elaine Mendonça. V. Rosas, Fábio Sampaio. VI. Fonseca, Ricardo da.

Bibliotecário Fábio Sampaio Rosas

CRB 8/6665



III INTERNATIONAL MEETING OF AGRARIAN SCIENCE AND TECHNOLOGY

IMAST 2021

Organizadores

Profa. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive
Profa. Dra. Elaine Mendonça Bernardes
Dr. Fábio Sampaio Rosas
Prof. Dr. Ricardo da Fonseca



Laboratório de
Design e
Recuperação da
Informação

Marília
2021

PRESIDENTE DO EVENTO

Profa. Dra. Elaine Mendonça Bernardes

VICE-PRESIDENTE DO EVENTO

Profa. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive

COMISSÃO CIENTÍFICA DO EVENTO

Profa. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive

Profa. Dra. Elaine Mendonça Bernardes

Profa. Dra. Kátia de Oliveira

Prof. Dr. Leandro Tropaldi

AVALIADORES CIENTÍFICOS DO EVENTO

Adriano Felipe Mendes (Doutorando)

Profa. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive

Profa. Dra. Elaine Mendonça Bernardes

Prof. Dr. Evandro Pereira Prado

Profa. Dra. Kátia de Oliveira

Prof. Dr. Leandro Tropaldi

Dra. Mariângela Bueno Cordeiro Maldonado

Prof. Dr. Paulo Renato Matos Lopes

Prof. Dr. Ricardo da Fonseca

DOCENTES DA COMISSÃO ORGANIZADORA DO EVENTO

Profa. Dra. Carolina dos Santos Batista Bonini

Profa. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive

Prof. Dr. Diego Cunha Zied

Profa. Dra. Elaine Mendonça Bernardes

Profa. Dra. Kátia de Oliveira

Prof. Dr. Leandro Tropaldi

Prof. Dr. Paulo Renato Matos Lopes

Prof. Dr. Ricardo Velludo Gomes de Soutello

Prof. Dr. Sérgio Bispo Ramos

DISCENTES DA COMISSÃO ORGANIZADORA DO EVENTO

Alan Bordim de Oliveira

Ana Clara Silva Tomasetti

Andressa Caroline dos Santos de Melo

Caroline Gomes Azevedo

Isabella Alves da Rocha

Lucas de Oliveira Bezerra

Thamires Mansur Duarte

Valeska de Castro Lourenço

COLABORADORA EXTERNA DA COMISSÃO ORGANIZADORA DO EVENTO

Beatriz Queiróz dos Reis

TÉCNICO-ADMINISTRATIVO DA COMISSÃO ORGANIZADORA DO EVENTO

Renan Buchini

Evandro Ferreira de Alcantara

Em 1979, o imigrante japonês Shunji Nishimura criou a Fundação Shunji Nishimura de Tecnologia (FSNT) com um profundo sentimento de gratidão ao nosso país.

Tudo o que tenho, devo ao Brasil. Eu nada seria se estivesse em outro país. O Brasil é generoso, sempre me deu mais do que o meu trabalho mereceu. Por isso, preciso devolver um pouco do muito que recebi.

Shunji Nishimura

A Fundação iniciou suas atividades com o curso técnico em agropecuária. Atualmente, oferece cursos de Ensino Fundamental, Ensino Médio, Ensino Técnico e Cursos Superiores de Tecnologia, através de escola própria e de convênios com o SENAI e o Centro Paula Souza. Em 2020, mais de 4000 alunos estudaram no Câmpus da Fundação, em Pompeia.

Desde o início das atividades, a Fundação contou com importante apoio da Unesp, através da Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA), de Botucatu. O amigo e professor Júlio Nakagawa, primeiro diretor da FCA, ajudou o Sr. Nishimura a escrever o estatuto da Fundação, tendo como referência o estatuto da Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestas (FEPAF).

Através de convênio firmado com a Unesp, professores da FCA colaboraram para restabelecer a fertilidade do solo do Câmpus da FSNT e elaborar o planejamento da utilização racional de toda a área, para fins didáticos e de produção, além de orientar a implantação do Laboratório de Solos.

Atualmente, a Fundação é parceira da FCA e outras instituições de pesquisa e ensino em projetos de inovação como o "Bioprodutos para a Agricultura Tropical (PBAT)", cuja instituição sede é o Instituto Biológico de São Paulo.

Por esse histórico de parceria e amizade, sinto-me honrado em prefaciar este livro dos professores da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT), unidade da Unesp localizada em Dracena, e de professores e pesquisadores convidados de outras instituições.

Nesta época em que muitos setores da economia apresentam redução de atividades devido à pandemia da Covid 19, o agronegócio, responsável por quase 30 por cento do PIB brasileiro, continuou crescendo e mostrando toda a sua pujança. Isso comprova a importância do lançamento deste livro e de eventos como o “III International Meeting of Agrarian Sciences and Technology (IMAST)”, organizado pela FCAT.

Este livro trata de temas muito relevantes em diversas áreas da produção agropecuária. Dividido em cinco partes (produção animal, recursos naturais e florestais, produção animal, genética e biotecnologia, ciências humanas e sociais), aborda temas práticos como a tecnologia de aplicação de herbicidas, qualidade física do solo em sistemas conservacionista e qualidade das nascentes urbanas. Temos também assuntos variados como a biologia molecular aplicada em estudos de peixe, estudo de cogumelos na produção de frangos de cortes e uso de inteligência artificial para análise de imagens em eucaliptos, além de temas na bovinocultura. Por fim, destacamos os estudos em ciências humanas e sociais, tratando questões como ciência e ideologia, e o consumidor agroalimentar.

Parabéns à direção e corpo docente da FCAT e demais instituições por esta obra com importantes conhecimentos para a nossa comunidade técnica e acadêmica.

Jiro Nishimura

Presidente

Fundação Shunji Nishimura de Tecnologia

As inovações e descobertas na área de ciências agrárias se apresentam em ritmo acelerado nos dias atuais, as quais são rapidamente incorporadas ao processo produtivo (seja na agricultura ou na pecuária), gerando consideráveis aumentos de desempenho no setor agropecuário. Especialmente no Brasil, a adoção crescente de novas tecnologias e consequentes altas produtividades no campo é o cenário que já nos está tornando lugar comum. Há tempos o agronegócio contribui fortemente para o PIB brasileiro, sendo em alguns momentos de crise, o pilar de sustentação de nossa economia. Um exemplo significativo é o desempenho do setor agropecuário durante a pandemia da COVID-19. Enquanto todos os outros setores da economia sofreram com um processo de recessão e encolhimento, a agropecuária apresentou crescimento e recordes de produção. Ao gerar lucros, graças aos elos da agropecuária com outros setores que compõem o agronegócio (insumos, processamento de alimentos e distribuição, por exemplo), teve importante papel na saúde econômica de nosso país.

Para manutenção do bom desempenho da agropecuária, é importante que continuemos trabalhando na ciência aplicada a tal setor, nos mantendo à frente das necessidades sobre as novas tecnologias e pesquisas da área, a fim de que possamos contribuir com mais avanços, convergindo nossos esforços para a resolução de problemas fundamentais e importantes. E tal trabalho precisa chegar, cada vez mais rápido e amplamente, à sociedade brasileira.

Esse livro tem como objetivo ser um compilado de pesquisas e ações que vêm sendo realizadas por pesquisadores das ciências agrárias nas suas diversas áreas, sejam elas, produção vegetal, produção animal, recursos naturais e florestas, genética e biotecnologia e ciências humanas e sociais. Mas também pode ser utilizado como uma fonte de referências básicas e fundamentais para estudo de pessoas interessadas nos temas abordados.

Na parte 1, Produção Vegetal, procuramos apresentar tecnologias disponíveis para a produção agrícola sem a especificidade de culturas nos capítulos 1, 2 e 3 (Tecnologia de aplicação de herbicidas: importância e aplicações, Tecnologias em fertilizantes para o aumento de eficiência e a sustentabilidade da produção agrícola e Tratamentos alternativo sem sementes no sistema orgânico). Os capítulos restantes se referem a culturas específicas, como é o caso do capítulo intitulado Manejo químico de plantas daninhas em pastagem. Também nessa parte, capítulos sobre atualidades e tecnologias na cultura do algodão e da cana-de-açúcar são apresentados.

Na parte 2, Recursos Naturais e Florestas, o leitor irá encontrar temas como avaliação da qualidade física do solo em sistemas conservacionista (capítulo 8), efeitos da adubação de micronutrientes em eucalipto (capítulo 10), estudo de fitopatologia em seringueiras (capítulo 12), entre outros. Essa seção também aborda um assunto que vem sendo muito discutido nos últimos anos: a integração lavoura-pecuária-floresta. O capítulo 11, Reflorestamento em áreas de cerrado e Mata Atlântica do estado de São Paulo visando exploração apícola, aborda aplicações da integração pecuária-floresta.

Temas de grande relevância para a produção animal como Biologia molecular aplicada na avaliação imunológica de peixes, controle das helmintoses em animais de produção e os efeitos da suplementação lipídica na reprodução de fêmeas bovinas são apresentados nos capítulos 14, 17 e 19, respectivamente, juntamente com outros temas de grande interesse nos capítulos 15, 16 e 18.

Na parte 4, o livro traz uma das áreas onde novas tecnologias têm surgido com grande velocidade. Os autores abordam temas como epigenética aplicada ao melhoramento vegetal, uso da inteligência artificial para predição de valores genéticos e produção e interpretação de fenótipos e a produção in vitro de embriões bovinos.

As ciências humanas e sociais são abordadas na parte 5 com uma visão sobre o conhecimento humano seguida do tema sobre o desenvolvimento do comportamento dos consumidores com o surgimento das redes sociais e outras tecnologias. Destaca-se que nessa parte do livro, somos também levados a pensar sobre a participação de cientistas reconhecidos, em democracias mais maduras.

O livro dá continuidade à ideia que já havia sido implementada nos IMASTs anteriores (2016¹ e 2018²), onde material relevante foi compilado e disponibilizado online.

Acrescentamos, à discussão final do livro que, embora a democracia brasileira não tenha demonstrado, ainda, o amadurecimento desejável que permita a inclusão rotineira de cientistas para indicar os prós e contras da implementação dos caminhos para alcançar objetivos políticos, a FCAT dá sua contribuição, neste livro, ao colocar o conhecimento gerado à disposição da sociedade.

Finalmente, nossos agradecimentos e reconhecimento a todos os autores que dedicaram bastante tempo na escrita e correções dos

1 Disponível em: <https://www.dracena.unesp.br/Home/Eventos/imast2016/livro-1-imast-final-do-final.pdf>

2 Disponível em: <http://www.culturaacademica.com.br/catalogo/imast-2018/>.

capítulos aqui apresentados e ao Laboratório de Pesquisa em Design e Recuperação da Informação (Ladri) da Faculdade de Filosofia e Ciências da Unesp no Câmpus de Marília, responsável por toda a editoração desse livro.

Esperamos que o material selecionado possa ser útil aos leitores, seja como uma fonte de informação, como material de referência ou, até mesmo, como inspiração para futuras pesquisas na área de ciências agrárias.

- 1** | **Tecnologia de aplicação de herbicidas: importância e aplicações**
 p. 16
Leandro Tropaldi, Roque de Carvalho Dias, Vitor Muller Anunciato, Paulo Vinicius da Silva, Maria Elena Silva Montanhaní e Evandro Pereira Prado
- 2** | **Tecnologias em fertilizantes para o aumento de eficiência e a sustentabilidade da produção agrícola**
 p. 30
Reges Heinrichs, Clayton Luís Baravelli de Oliveira, Juliana Bonfim Cassimiro, Natália de Lima Donato, Adônis Moreira e Carolina dos Santos Batista Bonini
- 3** | **Tratamentos alternativos em sementes no sistema orgânico**
 p. 46
Pâmela Gomes Nakada-Freitas, Antonio Ismael Inácio Cardoso, Natália de Brito Lima Lanna, Emanuele Possas de Souza, Beatriz Lívero Carvalho e Hugo Cesar Rodrigues Moreira Catão
- 4** | **Manejo químico de plantas daninhas em pastagem**
 p. 64
Leandro Tropaldi, Ivana Paula Ferraz Santos de Brito e Ana Karollyna Alves de Matos
- 5** | **Sistemas de produção e tecnologia na cultura do algodoeiro**
 p. 76
Samuel Ferrari, Enes Furlani Júnior, Luis Fernando dos Santos Cordeiro, Luís Guilherme Delovo Carara, Júlio Cesar Bogiani e Paulo Augusto Vianna Barroso
- 6** | **Aspectos fisiológicos da cana-de-açúcar relacionados ao sistema produtivo e qualidade da matéria prima**
 p. 92
Paulo Alexandre Monteiro de Figueiredo, Lucas Aparecido Manzani Lisboa, Sérgio Bispo Ramos e Ronaldo da Silva Viana
- 7** | **Estratégias de fitorremediação de solo com presença do herbicida tebuthiuron na cultura de cana-de-açúcar**
 p. 106
Yanca Araujo Frias, Munick Beato Aragão, Laura Silva Nantes, Edivaldo Wilson de Lima, Rafael Simões Tomaz, Paulo Renato Matos Lopes

- 8** **Qualidade física do solo em sistemas conservacionistas**
p. 122
Carolina dos Santos Batista Bonini, Melissa Alexandre Santos, Aline Marchetti Silva Matos, Reges Heinrichs, Alfredo Bonini Neto e Nídia Raquel Costa
- 9** **Estudo dos diferentes processos produtivos da amônia: viabilidade e perspectivas de possíveis aplicações**
p. 138
Ana Flávia Nogueira, Júlia Ellen Barros Vivas, Maria Carolina Heinrichs, Isac Almeida Bispo e João Gabriel Moreira Rocha
- 10** **Efeito da adubação com zinco e cobre no desenvolvimento inicial de plantas de *Eucalyptus sp***
p. 156
Carlos Leonardo Pereira Bogas, Vitória Costa Mingoranci, João Miguel Bacci, Yanca Araujo Frias, Rafael Simões Tomaz e Vitor Corrêa de Mattos Barretto

- 11** **Reflorestamento em áreas de cerrado e Mata Atlântica do estado de São Paulo visando exploração apícola**
p. 168
Vitor Corrêa de Mattos Barretto, Daniel Nicodemo, Cássia Regina de Avelar Gomes, Tainá Angelica de Lima Freitas, Matheus da Silva Araújo e Flávia Risse de Mattos Barretto
- 12** ***Colletotrichum* em seringueira: etiologia, comportamentos de clones e a influência do ambiente**
p. 186
Marcela Pagoti Bergamini Lopes, Izabela Ponso Magalhães, Erivaldo José Scaloppi Junior, Ivan Herman Fischer, Edson Luis Furtado e Ana Carolina Firmino
- 13** **Qualidade das nascentes urbanas de *Dracena-SP***
p. 200
Sérgio Bispo Ramos, Emanuel Bispo Ramos, Vitor Corrêa de Mattos Barretto, Fabio Sampaio Rosas, Ronaldo da Silva Viana e Lucas Aparecido Manzani Lisboa

- 14** **Biologia molecular aplicada na avaliação imunológica de peixes**
p. 220
Jaqueline Dalbello Biller, Ingrid Camardo dos Reis, Basia Schlichting Moromizato, Flaviane Lopes Fernandes, Simone Andréa de Assis Benetti e Maria Camino Fierro Castro
- 15** **Saúde intestinal: uso do butirato de sódio como aditivo na alimentação de frangos de corte**
p. 238
Valquíria Cação Cruz-Polycarpo, Bárbara Fernanda da Silva Barbosa, Gabrieli Andressa de Lima, Robert Guaracy Aparecido Cardoso Araújo, Gustavo do Valle Polycarpo e Jaqueline Dalbello Biller
- 16** **Cogumelos como promotores de crescimento e seu papel no desempenho e resposta fisiológica de frangos de corte**
p. 250
Valquíria Cação Cruz-Polycarpo, Bárbara Fernanda da Silva Barbosa, Gabrieli Andressa de Lima, Robert Guaracy Aparecido Cardoso Araújo, Gustavo do Valle Polycarpo, Diego Cunha Zied e Jaqueline Dalbello Biller
- 17** **Controle das helmintoses em animais de produção**
p. 262
Ricardo Velludo Gomes de Soutello, Giordani Mascoli de Favare, Isabela de Almeida Cipriano, Mateus Oliveira Mena, Samara Arão Camargo e Tábata Alves do Carmo
- 18** **Luteogênese e luteólise em fêmeas bovinas**
p. 280
Isabella Rio Feltrin, Mariângela Bueno Cordeiro Maldonado, Adriano Felipe Mendes e Claudia Maria Bertan Membrive
- 19** **Efeitos da suplementação lipídica na reprodução de fêmeas bovinas**
p. 302
Claudia Maria Bertan Membrive, Mariângela Bueno Cordeiro Maldonado, Adriano Felipe Mendes, Isabella Rio Feltrin e Valeska de Castro Lourenço

- 20** | **Epigenética: a ciência que está reescrevendo o conceito da genética**
p. 324

*Mariângela Bueno Cordeiro
Maldonado, Isabella Rio
Feltrin, Adriano Felipe Mendes
e Claudia Maria Bertan
Membrive*

- 21** | **Epigenética no melhoramento e produção de frutas**
p. 340

*Maria Gabriela Fontanetti
Rodrigues, Antonio Flávio
Arruda Ferreira, Laís Naiara
Honorato Monteiro e Eduarda
Sayuri Nakanishi*

- 22** | **Predição de valor genético em espécies do gênero *eucalyptus*: métodos tradicionais vs inteligência artificial**
p. 356

*Yanca Araujo Frias, Victor
Hugo Cruz, João Paulo Pereira
Chítero, Lorena Marques
Compareti, Paulo Renato
Matos Lopes e Rafael Simões
Tomaz*

- 23** | **Uso de inteligência artificial aplicada à fenotipagem por meio da análise de imagens em eucalipto**
p. 370

*Victor Hugo Cruz, Vitória
Costa Mingoranci, Yanca
Araújo Frias, Vitor Corrêa
de Mattos Barretto, Ronaldo
Cintra Lima e Rafael Simões
Tomaz*

- 24** | **Produção *in vitro* de embriões bovinos: a revolução biotecnológica na pecuária**
p. 386

*Adriano Felipe Mendes,
Mariângela Bueno Cordeiro
Maldonado, Isabella Rio
Feltrin, Lucas de Oliveira
Bezerra e Claudia Maria
Bertan Membrive*



25

**Conhecimento humano:
ciência e ideologias**

p. 408

*Fernando Curi Peres, Elaine
Mendonça Bernardes, Vania Di
Addario Guimarães e José
Roberto Fernandes Canziani*

26

**O consumidor
agroalimentar 4.0**

p. 426

Etiénne Groot

Sobre os organizadores

p. 445



Foto de Rubens Ferreira



"Growing Season (1)" by Nicholas_T is licensed under CC BY 2.0
(<https://www.flickr.com/photos/14922165@N00/7168106267/>)



PARTE 1

PRODUÇÃO VEGETAL

- 1 Tecnologia de aplicação de herbicidas: importância e aplicações
- 2 Tecnologias em fertilizantes para o aumento de eficiência e a sustentabilidade da produção agrícola
- 3 Tratamentos alternativos em sementes no sistema orgânico
- 4 Manejo químico de plantas daninhas em pastagem
- 5 Sistemas de produção e tecnologia na cultura do algodoeiro
- 6 Aspectos fisiológicos da cana-de-açúcar relacionados ao sistema produtivo e qualidade da matéria prima
- 7 Estratégias de fitorremediação de solo com presença do herbicida tebuthiuron na cultura de cana-de-açúcar

CAPÍTULO 1

TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO DE HERBICIDAS: IMPORTÂNCIA E APLICAÇÕES

Leandro Tropaldi

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Roque de Carvalho Dias

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas,
Botucatu, São Paulo, Brasil.

Vitor Muller Anunciato

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas,
Botucatu, São Paulo, Brasil

Paulo Vinicius da Silva

Universidade Federal da Grande
Dourados (UFGD), Faculdade de Ciências
Agrárias, Dourados, Mato Grosso do Sul,
Brasil.

Maria Elena Silva Montanhani

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas,
Botucatu, São Paulo, Brasil.

Evandro Pereira Prado

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Resumo

Os herbicidas são ferramentas fundamentais para o controle químico de plantas daninhas. Contudo, a eficiência dos herbicidas é dependente de diversos fatores que, quando combinados, interagem entre si. Para isso, além das características próprias da molécula herbicida, a tecnologia de aplicação empregada para o seu uso é fundamental. Desse modo, este capítulo tem por objetivo discutir alguns dos pontos relacionados à tecnologia de aplicação de herbicidas quanto à sua importância. Tais práticas como o preparo de calda, o uso de adjuvantes, as pontas de pulverização, o tamanho de gota e o manejo de deriva podem impactar o controle químico de plantas daninhas.

1 INTRODUÇÃO

Nas próximas décadas, grandes mudanças nas estruturas demográficas no mundo são esperadas, assim como o aumento considerável da demanda por alimentos (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2018). Portanto, um dos desafios da humanidade será o desenvolvimento sustentável da agricultura. Contudo, dentre os vários fatores que prejudicam a produção agrícola, o manejo de plantas daninhas é extremamente importante. Reduções da ordem de 34% da produção global de culturas foram atribuídas à interferência de plantas daninhas (OERKE, 2005). Desse modo, a adoção de ferramentas com o intuito de controlar as plantas daninhas é necessária, e o uso de herbicida é uma das ferramentas amplamente utilizadas, sobretudo nas culturas cultivadas extensivamente.

Embora os herbicidas sejam uma ferramenta útil para o controle de plantas daninhas, a molécula por si só não é suficiente para um bom resultado, necessitando, portanto, compreender a tecnologia de aplicação. O termo “tecnologia de aplicação” foi conceituado por Matuo (1990) como o emprego de todos os conhecimentos científicos que proporcionem a correta colocação do produto biologicamente ativo no alvo, em quantidade necessária, de forma econômica, com o mínimo de contaminação de outras áreas. Desse modo, a aplicação de produtos fitossanitários envolve três parâmetros básicos relacionados à qualidade, à segurança e ao custo de aplicação.

No Brasil, a eficiência das aplicações de produtos fitossanitários como os herbicidas tem melhorado de forma significativa nos últimos anos em virtude da maior facilidade na difusão do conhecimento, na evolução/melhoria nos processos, na inovação tecnológica e formação, na capacitação e qualificação da mão de obra das pessoas envolvidas com o agronegócio.

Em aplicações de herbicidas, geralmente, o alvo desejado refere-se às plantas daninhas já emergidas para aqueles com ação pós-emergente, ou o solo e/ou palhada para os pré-emergentes. Nesse cenário, este capítulo tem por objetivo discutir alguns pontos relacionados à tecnologia de aplicação de herbicidas, como o preparo de calda, o uso de adjuvantes, a escolha de pontas de pulverização e o tamanho de gotas, além do manejo de deriva.

2 PREPARO DE CALDA

Além da adequada escolha e posicionamento de produtos para um correto manejo de plantas daninhas, é necessário atentar-se para a tecnologia de aplicação. Assim como a correta calibração do pulverizador, o preparo da calda é de fundamental importância para a eficácia de aplicação. Contudo, no momento do preparo da calda, a mistura em tanque é uma prática comumente utilizada por produtores e que merece destaque, uma vez que no Brasil essa prática foi regulamentada por meio da Instrução Normativa

nº 40 de 11 de outubro de 2018 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (BRASIL, 2018).

A mistura em tanque consiste na associação de produtos fitossanitários e afins no tanque de aplicação, imediatamente antes da pulverização. Segundo Guimarães (2014), essa prática pode resultar em alguns benefícios diretos, como, por exemplo, o menor número de entradas na área, economia de combustível e água utilizada, menor exposição do trabalhador rural aos agrotóxicos e um manejo preventivo e eficiente de plantas daninhas, as quais podem ser efetivamente controladas através da utilização dessas associações.

Em um estudo de caso sobre as misturas de agrotóxicos em tanque de pulverização, Gazziero (2015) relatou que 95% das misturas incluem o uso de dois a cinco agrotóxicos diferentes, sendo que, em alguns casos, esse número pode chegar a seis. No entanto, essa prática pode representar sérios prejuízos aos produtores em decorrência de incompatibilidades entre os compostos químicos na mistura de pulverização (PETTER *et al.*, 2013). Existem pelo menos dois tipos de incompatibilidade que podem ocorrer na mistura de tanque, a saber: a incompatibilidade física, relacionada à formação de precipitados ou grânulos; e a incompatibilidade química, que ocorre quando a mistura do tanque altera a eficiência dos ingredientes ativos misturados. A incompatibilidade física pode levar ao entupimento das pontas de pulverização e filtros e, conseqüentemente, perda de eficácia do produto e dificuldades durante a aplicação, resultando em sucessivas paradas durante as aplicações.

Costa *et al.* (2020), avaliando as propriedades físico-químicas de caldas fitossanitárias nas misturas dos herbicidas glyphosate e atrazine, observaram sedimentação e formação de grumos imediatamente após o preparo das caldas com diferentes produtos comerciais. Por outro lado, casos de incompatibilidade química podem gerar um efeito de aumento de toxicidade, causando danos à cultura e diminuindo o potencial de produtividade. Além disso, podem ocasionar prejuízos relacionados à eficácia dos produtos fitossanitários pela redução da quantidade de ingrediente ativo que não é aplicada junto com as gotas pulverizadas (COSTA *et al.*, 2020). Isso ocorre, pois, a associação de herbicidas (misturas em tanques de pulverização) pode resultar em efeitos sinérgicos, aditivos ou antagônicos quando comparado às aplicações dos produtos de forma isolada (COSTA *et al.*, 2020). Logo, a associação de herbicidas, adjuvantes e outros produtos fitossanitários na calda de pulverização podem reduzir a eficiência de controle de plantas daninhas, podendo alterar a tolerância da cultura de interesse agrônomo ao herbicida, resultando em perda da seletividade e injúrias por fitotoxicidade (REZENDE *et al.*, 2012).

Nesse contexto, um dos exemplos mais conhecidos é o efeito antagônico da associação de ácido diclorofenoxiacético (2,4-D) com herbicidas inibidores da acetil CoA carboxilase (ACCase), o qual está relacionado à redução da

translocação e ao aumento do metabolismo dos herbicidas do grupo dos ariloxifenoxipropiônicos (TREZZI *et al.*, 2007). Dessa forma, a associação de herbicidas inibidores da ACCase com 2,4-D resulta em ação negativa para o controle de gramíneas, embora a possibilidade de uso desses dois mecanismos de ação em uma única aplicação representaria a diminuição de uma operação por parte dos produtores, reduzindo o custo de controle, caso não apresentasse antagonismo (PEREIRA; ZOBIOLE; ROSSI, 2018). Pereira, Zobiolo e Rossi (2018) observaram controle ineficaz de capim-amargoso na associação de haloxifope-p-metil + glyphosate, quando associado aos herbicidas dicamba ou com 2,4-D, com porcentagens de controle inferiores a 70%, em áreas com populações mistas de folhas largas e gramíneas.

É importante ressaltar que, não apenas a característica e constituição de produtos fitossanitários podem levar à incompatibilidade de caldas de pulverização, mas também a sequência em que os produtos são adicionados em uma calda de pulverização. Nesse sentido, é extremamente relevante observar a ordem de adição de herbicidas e adjuvantes. Ramos *et al.* (2019) observaram a formação de cristais na calda de pulverização, nas associações em que o adjuvante de mistura de fosfatidicolina e ácido propiônico (LEC) foram adicionados antes do herbicida.

Dessa forma, a compatibilidade entre os produtos fitossanitários utilizados em caldas de pulverização é um fator essencial para sua eficácia sobre o controle de plantas daninhas e, além dos aspectos inerentes às características físico-químicas dos produtos, fatores relacionados à sequência de inclusão dos produtos à calda também são essenciais.

3 ADJUVANTES

Para a eficácia na aplicação de produtos fitossanitários, como os herbicidas, deve-se levar em consideração atributos como o pH da calda, o tamanho de gota, o volume de calda, entre outros, sendo necessário, em alguns casos, fazer uso de ferramentas complementares como adjuvantes. Um adjuvante é qualquer substância ou composto sem propriedades fitossanitárias, exceto a água, que é acrescido a uma preparação de produto fitossanitário para facilitar a aplicação, aumentar a eficiência de controle ou diminuir os riscos de contaminação (KISSMANN, 1998).

De acordo com Vargas e Roman (2006), existem diferentes tipos de adjuvantes, sendo eles divididos em dois grandes grupos, os modificadores das propriedades de superfície dos líquidos e os aditivos que afetam a absorção devido à ação direta sobre a cutícula. No primeiro grupo, tem-se os surfactantes: espalhante, umectante, detergentes, dispersantes e aderentes, entre outros; já no segundo grupo tem-se os óleos mineral ou vegetal, o sulfato de amônio e ureia, entre outros (VARGAS; ROMAN, 2006).

Cada adjuvante apresenta suas características de uso e particularidades,

podendo ser utilizados com o intuito do aumento da eficiência de aplicação até a redução de deriva. Os surfactantes representam uma das classes de adjuvantes mais utilizadas, pois, além de estarem frequentemente presentes nas misturas em tanque, fazem parte de muitas formulações de produtos. Os surfactantes são compostos orgânicos que possuem parte de sua molécula polar ou hidrofílica, e outra parte apolar ou lipofílica. Essa característica possibilita o aumento na retenção da pulverização em superfícies foliares e a penetração em decorrência do aumento da área de contato com a folha através do maior espalhamento da gota (RAETANO; CHECHETTO, 2019). Já os aditivos, especialmente os óleos, que podem ser de origem mineral (fração da destilação do petróleo) ou de origem vegetal (sementes de oleaginosas), atuam como adesivos, formando um filme protetor para os ingredientes ativos. Os óleos agem dissolvendo as gorduras componentes da cutícula e membranas celulares, eliminando as barreiras que diminuem a absorção dos herbicidas e provocam o extravasamento do conteúdo da célula, aumentando a absorção do herbicida (RAETANO; CHECHETTO, 2019).

Vale destacar ainda que, em condições adversas ou inadequadas para a aplicação de herbicidas, o uso de adjuvantes pode ser extremamente benéfico para evitar perdas de produto. Da mesma forma, para condições de curta janela de aplicação ou previsões de chuva, visto que os adjuvantes tendem a aumentar a taxa de penetração do produto, evitam maiores perdas do herbicida e, conseqüentemente, a diminuição na eficácia de controle (BUENO *et al.*, 2013).

Assim, o uso de adjuvantes objetiva aumentar a eficácia da aplicação e atingir o alvo biológico, facilitando a absorção do ingrediente ativo e, conseqüentemente, o controle das plantas daninhas. Diversos estudos observaram eficácia no controle do capim-amargoso (*Digitaria insularis* (L.) Fedde) (CASSOL *et al.*, 2019; RODRIGUES NETO *et al.*, 2019) e buva (*Conyza sumatrensis* (Retz.) e. Walker) (CASTRO *et al.*, 2018; PALMA-BAUTISTA *et al.*, 2020), consideradas, atualmente, duas das principais plantas daninhas de áreas agrícolas no Brasil, quando os herbicidas foram associados aos adjuvantes. Além dessas espécies, outros trabalhos demonstraram eficácia de controle de plantas daninhas quando em mistura aos adjuvantes, por exemplo, arroz-vermelho (*Oriza sativa* L.) (FOLONI; RODRIGUES; ONO, 1997); capim-colonião (*Panicum maximum* (Jacq.) (DURIGAN, 1992); capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.), capim-colchão (*Digitaria horizontalis* Willd), malva (*Malva verticillata* L.) (PERESSIN; VICTÓRIA FILHO; PERECIN, 1997); e tiririca (*Cyperus rotundus* L.) (PROCÓPIO *et al.*, 2002).

Como já citado anteriormente, a adição de adjuvantes à calda de pulverização pode aumentar a eficiência e/ou cobertura do alvo e ajudar na absorção do ingrediente ativo, no entanto, essa eficácia não depende apenas da quantidade de ativo, mas também do tamanho e da densidade das gotas, das perdas para o solo e por deriva, do equipamento, do volume de pulverização, das pontas de pulverização e das condições climáticas (SOUZA;

CUNHA; PAVANIN, 2012), bem como da regularidade e da distribuição sobre a superfície do alvo (TERRA *et al.*, 2014). Carvalho *et al.* (2021) destacaram que os efeitos dos adjuvantes em mistura de calda com herbicidas no controle de plantas daninhas podem variar de acordo com a espécie, a idade, a composição celular, a cutícula e a cerosidade na folha, entre outros. Nesse sentido, Salvalaggio *et al.* (2018) observaram que a interação adjuvante/herbicida/planta daninha é altamente específica, assim, para cada situação se faz necessário analisar de maneira particular, levando em consideração os principais fatores nessa interação para a correta utilização no controle de plantas daninhas.

4 PONTAS DE PULVERIZAÇÃO, TAMANHO DE GOTAS E VOLUME DE APLICAÇÃO

A escolha da ponta de pulverização, o tamanho de gotas e o volume de aplicação são aspectos fundamentais para uma adequada deposição da calda e penetração na copa dos alvos (KRUGER; VIEIRA, 2017). Aumentar o volume de aplicação geralmente resulta no aumento da taxa de cobertura do alvo, podendo, em alguns casos, maximizar a eficácia do herbicida, contudo, o efeito é variável em função do herbicida, da planta daninha ou da cultura, por exemplo (KRUGER; VIEIRA, 2017).

A escolha da ponta de pulverização é um dos fatores que precisa ser levado em consideração, uma vez que a ponta deve ser utilizada de acordo com as condições ambientais, o herbicida e o alvo a ser atingido na aplicação, refletindo diretamente no tamanho de gota necessário para uma melhor eficiência na aplicação.

As pontas de pulverização fazem parte do equipamento utilizado no processo de pulverização e são responsáveis por realizar a pulverização propriamente dita, através da quebra da calda de pulverização em pequenas partículas, formando as gotas, e realizando assim, o processo de pulverização. Várias pontas de pulverização estão disponíveis no mercado, sendo as mais comuns as do tipo jato plano e cônico. A ponta de jato plano é caracterizada por produzir um jato em um só plano, e a ponta cone tem a formação do conjunto de gotas em um formato cônico. Por sua vez, cone cheio é quando as gotas são distribuídas em todo jato, diferentemente da ponta cone vazio, em que a deposição de gotas fica concentrada na periferia (SHIRATSUCHI; FONTES, 2002).

Além das pontas tradicionais, essas pontas podem ter indução de ar, que são caracterizadas com a mistura de ar na calda, produzindo gotas maiores, ajudando a diminuir a deriva. Alves, Kruger e Cunha (2018) compararam a aplicação do herbicida dicamba com pontas com e sem indução de ar e verificaram que as pontas com indução de ar reduzem a deriva devido à menor produção de gotas favoráveis à deriva. Godinho Júnior *et al.* (2018) estudaram

a aplicação do herbicida 2,4-D com diferentes pontas de pulverização com indução de ar e obtiveram redução de deriva da calda.

As pontas de pulverização, além de serem classificadas de acordo com o formato que elas pulverizam as gotas, também são classificadas de acordo com o tamanho de gotas que produzem. Porém, ela não produz apenas um tamanho de gota, a classificação é realizada através do diâmetro da gota que divide o volume pulverizado em duas partes iguais, denominado Diâmetro Mediano Volumétrico (DMV) (BAESSO *et al.*, 2014).

O tamanho de gota influencia diretamente na cobertura de aplicação no alvo, ou seja, quanto menor o tamanho de gota, maior a cobertura no alvo (capacidade de molhamento), assim como também é maior o potencial de deriva. Gota maior, por sua vez, possui menor cobertura (menor molhamento) da planta alvo e menor potencial de deriva, porém, a possibilidade de perda através do escoamento da calda é maior antes mesmo da planta absorver o herbicida, afetando também a eficiência de aplicação e posterior controle. Segundo Baesso *et al.* (2014), a escolha do tamanho de gota para a pulverização deve ser feita de acordo com as condições climáticas e tipo de alvo, garantindo assim, uma eficiência adequada.

Sendo assim, a recomendação do tamanho de gota de acordo com a finalidade do herbicida é fundamental. Para herbicidas de pré-emergência, é recomendada a aplicação com gotas de tamanho muito ou extremamente grossas para o sistema de plantio direto e sistema de plantio convencional, respectivamente. Já para herbicidas pós-emergentes, são recomendadas gotas finas para uma melhor cobertura do alvo, mas não depende apenas desse fator, a escolha pode variar de acordo com a cultura, o alvo (planta daninha) e o estágio de desenvolvimento de ambas, além das condições ambientais no momento da aplicação (SANTOS, 2006), principalmente a presença de ventos acima de 10 km h^{-1} .

Contiero *et al.* (2012) verificaram que na deposição de herbicida pré-emergente em uma área com cobertura vegetal de aveia-preta (*Avena strigosa* Schreb.), o tamanho de gotas de pulverização médias demonstrou ter maior eficiência de transposição do que gotas muito finas ou muito grossas. Ruas *et al.* (2011) concluíram que, para a aplicação de herbicidas pós-emergente em capim-braquiária (*Urochloa decumbens* (Stapf) R.D.Webster), as gotas com menor DMV, ou seja, menores tamanhos de gotas, proporcionaram um melhor controle da planta daninhas.

5 CONDIÇÕES CLIMÁTICAS

Condições climáticas como a velocidade e a direção do vento, inversão térmica, orvalho, temperatura e umidade relativa do ar são aspectos extremamente importantes no momento da aplicação de herbicidas. A velocidade de vento e a direção afetam o movimento das gotas para fora

do alvo desejado, fenômeno conhecido com exoderiva. Já a temperatura e umidade relativa do ar influenciam consideravelmente na evaporação das gotas antes ou após serem depositadas no alvo, reduzindo a penetração e a taxa de deposição no alvo. Com isso, esses fatores podem afetar diretamente a eficácia dos herbicidas (KRUGER; VIEIRA, 2017), além de proporcionar contaminações de áreas não alvos

6 MANEJO DE DERIVA

As aplicações de herbicidas apresentam o maior risco econômico para o produtor devido ao deslocamento dos herbicidas da área tratada para as áreas não alvo, deslocamento popularmente conhecido como deriva. Além dos dados relacionados ao efeito dos herbicidas em plantas sensíveis de interesse comercial ou não, a deriva também pode resultar em menor efetividade do tratamento da área e menor controle das plantas daninhas. Para entender como reduzir os riscos de deriva associados às pulverizações de herbicidas, inicialmente, precisam-se compreender quais os tipos de deriva a que os herbicidas estão sujeitos.

O primeiro tipo é a deriva de gotícula, causada pelo transporte das gotas produzidas na pulverização; as gotas mais suscetíveis a esse tipo de deriva são as gotas finas (145-225 μm) (ASABE S-572.1). O segundo tipo de deriva é a de partículas. Ocorre quando a água e outros carreadores da calda de pulverização evaporam rapidamente devido à alta temperatura e baixa umidade relativa do ar, deixando assim minúsculas partículas de herbicida concentrado em suspensão. Essas partículas de herbicidas podem viajar longas distâncias, podendo atingir plantas sensíveis até 30 km de distância da área pulverizada. O último tipo de deriva que pode ocorrer é a deriva de vapor, associada aos herbicidas mais voláteis. Os mimetizadores de auxinas, dicamba e o 2,4-D são os principais herbicidas afetados por esse tipo de deriva, mesmo as formulações que apresentam adjuvantes e estrutura químicas para diminuir a sua volatilização, associado a essa característica dessas herbicidas, a crescente adoção das culturas resistentes a 2,4-D ou dicamba, aumentam o potencial de danos causados por esse tipo de deriva quando não utilizado de forma correta (EGAN; BARLOW; MORTENSEN, 2014).

Minimizar o risco de deriva é uma tarefa bastante desafiadora, ainda mais quando se preza por respeitar as condições ambientais para pulverização, que são: a umidade relativa do ar acima de 55%, a velocidade do vento entre 3 a 10 km por hora e a temperatura abaixo de 30° C. Também é desafiador encontrar um intermediário funcional entre controlar a deriva e não sacrificar a cobertura e a eficácia do herbicida. Qualquer alteração que seja feita no sistema de pulverização, por exemplo, seleção de pontas, velocidade de pulverização, pressão, diferentes formulações, adjuvantes etc., irá, em última análise, impactar o tamanho das gotas, a deriva potencial e possivelmente a eficácia. Em algumas situações, alterações para reduzir a

deriva podem aumentar custos e tempo para realizar a pulverização. Abaixo seguem algumas boas práticas que podem auxiliar nessa tarefa (ALVES *et al.*, 2017).

- Se possível, reduza a pressão de trabalho da pulverização. Pressões mais baixas permitem tamanhos maiores de gota. Esteja ciente de que as pontas de pulverização podem produzir diferentes tamanhos de gotas em diferentes pressões. Assim, uma ponta pode produzir gotas médias em baixa pressão, e gotas finas em pressões mais altas. Algumas pontas mais novas, projetadas para trabalhar em pressões mais altas para uma melhor cobertura de pulverização, produzem menos deriva do que outros tipos de pontas.
- Aumente os volumes/taxas de aplicação da pulverização. Essa estratégia, por mais que reduza a eficiência operacional da pulverização, pode garantir maior cobertura e menor deriva.
- Selecione as pontas de pulverização adequadas, que produzam menos gotas suscetíveis à deriva (<200 µm).
- Utilize menores alturas de barra, uma vez que podem contribuir para a redução da distância percorrida da gota até o alvo e, conseqüentemente, reduzir os riscos à deriva (VIANA *et al.*, 2007). Lembrando que o ajuste da angulação das pontas deve ser feito com o espaçamento entre elas.
- Reduza a velocidade do pulverizador para menos de 15 km por hora, dependendo do relevo da área a ser pulverizada. Velocidades mais rápidas farão com que a barra salte, projetando as gotas para fora da área tratadas.
- Use adjuvantes redutores de deriva quando necessário. Esses geralmente trabalham aumentando o tamanho de gotas pela alteração da viscosidade da calda de pulverização.
- Considere incluir zonas tampão se existirem campos de cultivos com culturas sensíveis adjacentes. Geralmente, são utilizados 50 metros entre a área tratada e a área de cultivo da cultura suscetível, sendo que cada caso deve ser estudado de forma separada.

Além disso, os riscos da deriva, mesmo dentro da área de cultivo, podem ser um grande problema, uma vez que a exposição à deriva de herbicida leva à redução da sensibilidade ao herbicida em *Amaranthus* spp. (VIEIRA *et al.*, 2020). Portanto, a mitigação dos riscos de deriva são um conjunto de boas práticas que devem ser adotadas em conjunto com o conhecimento das plantas daninhas presentes na área, estágio de desenvolvimento das mesmas, tipos de herbicidas a serem utilizados e adjuvantes na mistura de calda (RAMSDALE; MESSERSNITH, 2001). Algumas alterações são mais simples de serem implementadas como o aumento do volume de calda, e outras são mais complexas como a aquisição de novos equipamentos,

devendo-se sempre consultar um técnico especializado para que cada caso a ser considerado durante o manejo de plantas daninhas na área seja mais bem compreendido.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção agrícola continuará a exigir maior eficiência e atenção aos detalhes por parte dos produtores e técnicos. Os desafios para o manejo de plantas daninhas nos sistemas produtivos são muitos, e sempre surgem novos, como a seleção de espécies mais adaptadas, por exemplo. Portanto, as ferramentas disponíveis, como os herbicidas, precisam ser utilizadas de tal forma que se alcance o máximo de eficiência possível em termos de controle, o máximo de segurança ao ambiente, a um custo adequado, viabilizando a operação. Por isso, aspectos relacionados à tecnologia de aplicação estarão cada vez mais presentes dentro o rol de atividades estratégicas, necessitando de entendimento e constantes ajustes para os diferentes sistemas de produção e tecnologias disponíveis.

REFERÊNCIAS

- ALVES, G. S.; KRUGER, G. R.; CUNHA, J. P. A. R. Spray drift and droplet spectrum from dicamba sprayed alone or mixed with adjuvants using air-induction nozzles. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 53, n. 6, p. 693-702, 2018.
- ALVES, G. S.; KRUGER, G. R.; CUNHA, J. P. A.; SANTANA, D. G.; PINTO, L. A. T.; GUIMARÃES, F.; ZARIC, M. Dicamba spray drift as influenced by wind speed and nozzle type. **Weed Technology**, Cambridge, v. 31, n. 5, p. 724-731, 2017.
- BAESSO, M. M.; TEIXEIRA, M. M.; RUAS, R. A. A.; BAESSO, R. C. E. Tecnologias de aplicação de agrotóxicos. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. sup., p. 780-785, 2014.
- BUENO, M. R.; ALVES, G. S.; PAULA, A. D. M.; CUNHA, J. P. A. R. Volumes de calda e adjuvantes no controle de plantas daninhas com glyphosate. **Planta Daninhas**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 705-713, 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 40, de 11 de outubro de 2018. **Diário Oficial da União**: Poder Executivo, Brasília, DF, n. 198, Seção 1, pag. 3, 15 out. 2018.
- CARVALHO, S. J. P.; OLIVEIRA, V. G.; VILELA, M. E. P.; MENDES, A. C. Efficacy and interaction of dicamba-haloxyfop tank mixtures. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 20, n. 1, p. 1-9, 2021.
- CASSOL, M.; MATTIUZZI, M. D.; ALBRECHT, A. J. P.; ALBRECHT, L. P.; BACCIN, L. C.; SOUZA, C. N. Z. Efficiency of isolated and associated herbicides to control glyphosate-resistant sourgrass. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 37, e019190671, p. 1-8, 2019.
- CASTRO, E. B.; CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D.; GOMES, G. L. G. C.; BELAPART, D. Influence of adjuvants on the surface tension, deposition and effectiveness of herbicides on fleabane plants. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 36, e018166251, p. 1-9,

2018.

CONTIERO, R. L.; FRANCISCHINI, A. C.; SANTOS, G.; ITA, A. G.; RUVER, A.; BUCKER, E. G. Deposição efetiva do produto pulverizado sobre cobertura vegetal de aveia-preta por diferentes pontas de pulverização. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 30, n. 4, p. 891-897, 2012.

COSTA, L. L.; SANTOS, T. C. M.; ALMEIDA, D. P.; FERREIRA, M. C.; LEÃO-ARAÚJO, É. F.; TIMOSSI, P. C. Compatibilidade físico-química de diferentes doses e misturas de herbicidas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 19, n. 3, p. 1-8, 2020.

DURIGAN, J. C. Efeito de adjuvantes na calda e do estágio de desenvolvimento das plantas, no controle do capim-colonião (*Panicum maximum*) com glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 10, n. 1-2, p. 39-44, 1992.

EGAN, J. F.; BARLOW, K. M.; MORTENSEN, D. A. A meta-analysis on the effects of 2, 4-D and dicamba drift on soybean and cotton. **Weed Science**, Cambridge, v. 62, n. 1, p. 193-206, 2014.

FOLONI, L. L.; RODRIGUES, J. D.; ONO, E. O. Controle do arroz vermelho através do herbicida sulfosate isolado e em mistura com adjuvantes. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 15, n. 1, p. 39-45, 1997.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **The future of food and agriculture: alternative pathways to 2050**. Rome: FAO, 2018.

GAZZIERO, D. L. P. Misturas de agrotóxicos em tanques nas propriedades agrícolas do Brasil. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 33, n. 1, p. 83-92, 2015.

GODINHO JÚNIOR, J. D.; RUAS, R. A. A.; REIS, M. R.; CARVALHO FILHO, A. FARIA, V. R. Reduction in the spray drift of 2,4-D in tomato using hydraulic nozzles with air induction and LI-700 adjuvant. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 48, n. 2, p. 134-139, 2018.

GUIMARÃES, G. L. Principais fatores comerciais condicionantes da disponibilidade de produtos isolados e em misturas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 29., 2014, Gramado. **Palestra** [...]. Gramado: 2014. CD ROM.

KISSMANN, K. G. Adjuvantes para caldas de produtos fitossanitários. In: GUEDES, J. V. C.; DORNELLES, S. B. (org.). **Tecnologia e segurança na aplicação de agrotóxicos: novas tecnologias**. Santa Maria: Departamento de defesa fitossanitária : Sociedade de Agronomia de Santa Maria, 1998. P. 39-51. Disponível em: <http://w3.ufsm.br/herb/Adjuvantes%20para%20caldas%20de%20produtos%20fitossanitarios%20-%20Kissmann.pdf>. Acesso em: 12 mar. 2021.

KRUGER, G.; VIEIRA, B. C. Herbicide application technology. In: THOMAS, B.; MURRAY, B. G.; MURPHY, D. J. **Encyclopedia of applied plant sciences**. 2. ed. Elsevier: Oxford, v. 1, 2017, p. 450-454.

MATUO, T. **Fundamentos da tecnologia de aplicação de agrotóxicos**. Jaboticabal: FUnesp, 1990. 139 p.

OERKE, E. Crop losses to pests. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 144, n. 1, p. 31-43, 2005.

PALMA-BAUTISTA, C.; TATARIDAS, A.; KANATAS, P.; TRAVLOS, I. S.; BASTIDA,

F.; DOMÍNGUEZ-VALENZUELA, J. A.; DE PRADO, R. Can control of glyphosate susceptible and resistant *Conyza sumatrensis* populations be dependent on the herbicide formulation or adjuvants? **Agronomy**, [s. l.], v. 10, n. 10, p. 1-12, 2020.

PEREIRA, G. R.; ZOBIOLE, L. H. S.; ROSSI, C. V. S. Resposta no controle de capim-amargoso a mistura de tanque de glyphosate e haloxifope com auxinas sintéticas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 17, n. 2, p. 1-7, 2018.

PERESSIN, V. A.; VICTÓRIA FILHO, R.; PERECIN, D. Misturas de herbicidas: efeitos de adjuvantes no controle de plantas infestantes na cultura da soja. **Bragantia**, Campinas, v. 56, n. 1, p. 103-116, 1997.

PETTER, F. A.; SEGATE, D.; ALMEIDA, F. A.; ALCÂNTARA NETO, F.; PACHECO, L. P. Incompatibilidade física de misturas entre herbicidas e inseticidas. **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v. 4, n. 2, p. 129-138, 2013.

PROCÓPIO, S. O.; GONTIJO NETO, M. M.; SIQUEIRA, J. G.; SILVA, A. A.; FERREIRA, L. R.; FERREIRA, F. A.; SANTOS, J. B. Efeitos do volume de calda de aplicação e adição de surfatantes organossiliconados na eficiência do MSMA no controle de tiririca. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 20, n. 1, p. 141-146, 2002.

RAETANO, C. G.; CHECHETTO, R. G. Adjuvantes e formulações. In: ANTUNIASSI, U. R.; BOLLER, W. (org.). **Tecnologia de aplicação para culturas anuais**. 2. ed. Passo Fundo: Aldeia Norte; Botucatu: FEPAF, 2019. p. 29-40.

RAMOS, M. F. T.; SANTOS, R. T.; GRIESANG, F.; ALMEIDA, D. P.; FERREIRA, M. C. Does the sequence of addition of herbicide and adjuvants to the spray solution influence sicklepod control? **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 86, p. 1-7, 2019.

RAMSDALE, B. K.; MESSERSMITH, C. G. Drift-Reducing Nozzle Effects on Herbicide Performance. **Weed Technology**, Cambridge, v. 15, n. 3, p. 453-460, 2001.

REZENDE, B. P. M.; TAVARES, C. J.; MARANGONI, R. E.; CUNHA, P. C. R.; JAKELAITIS, A. Efeito do fomesafen + fluazifop-p-butil associados com inseticidas no controle das plantas daninhas na cultura da soja. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 7, n. 4, p. 608-613, 2012.

RODRIGUES NETO, A. D. R.; ALMEIDA, M. S.; PRADO, E. P.; TROPALDI, L.; FIRMINO, A. C.; BONINI, C. D. S. B.; VIANA, R. S.; LIMA, R. C. Otimização da atividade de herbicidas com diferentes adjuvantes na fitotoxicidade de *Digitaria insularis* no estágio de florescimento. **Colloquium Agrariae**, [s. l.], v. 15, n. 5, p. 120-126, 2019.

RUAS, R. A. A.; TEIXEIRA, M. M.; DA SILVA, A. A.; FERNANDES, H. C.; VIEIRA, R. F. Estimativa de parâmetros técnicos da tecnologia de aplicação do glyphosate no controle de *Brachiaria decumbens*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n. 3, p. 299-304, 2011.

SALVALAGGIO, A. C.; COSTA, N. V.; CAZZO, V. N.; CONRADI JUNIOR, E.; ECKERT, A. F. Espalhamento e tensão superficial de gotas de soluções com herbicidas e adjuvantes em folhas de *Digitaria insularis*. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 5, n. 3, p. 60-64, 2018.

SANTOS, J. M. F. Princípios básicos da aplicação de agrotóxicos. **Visão Agrícola**, Piracicaba, n. 6, p. 59-63, 2006.

SHIRATSUCHI, L. S.; FONTES, J. R. A. **Tecnologia de aplicação de herbicidas**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2002. p. 30, doc. 78.

SOUZA, L. A. D.; CUNHA, J. P. A. R. D.; PAVANIN, L. A. Deposição do herbicida 2, 4-D Amina com diferentes volumes e pontas de pulverização em plantas infestantes. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 1, p. 78-85, 2012.

TERRA, M. A.; MARTINS, D.; COSTA, N. V.; MARCHI, S. R. Avaliação de pontas e taxas de aplicação na deposição de calda no milho e em plantas daninhas. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 6, p. 1661-1670, 2014.

TREZZI, M. M.; MATTEI, D.; VIDAL, R. A.; KRUSE, N. D.; GUSTMAN, M. S.; VIOLA, R. Antagonismo das associações de clodinafop-propargyl com metsulfuron-methyl e 2,4-D no controle de azevém (*Lolium multiflorum*). **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 4, p. 839-847, 2007.

VARGAS, L.; ROMAN, E. S. **Conceitos e aplicações dos adjuvantes**. Embrapa: Trigo, Passo Fundo, n. 56, 2006. Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do56.pdf. Acesso em: 12 mar. 2021.

VIANA, R. G.; FERREIRA, L. R.; TEIXEIRA, M. M.; CECON, P. R.; FREITAS, F. C. L.; QUIRINO, A. L. S.; SANTOS, M. V. Características técnicas de pontas de pulverização LA-1JC e SR-1. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 1, p. 211-218, 2007.

VIEIRA, B. C.; LUCK, J. D.; AMUNDSEN, K. L.; WERLE, R.; GAINES, T. A.; KRUGER, G. R. Herbicide drift exposure leads to reduced herbicide sensitivity in *Amaranthus* spp. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 2146, p. 1-11, 2020.

CAPÍTULO 2

TECNOLOGIAS EM FERTILIZANTES PARA O AUMENTO DE EFICIÊNCIA E A SUSTENTABILIDADE DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA

Reges Heinrichs

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Clayton Luís Baravelli de Oliveira

Universidade do Oeste Paulista
(Unoeste), Presidente Prudente, São
Paulo, Brasil.

Juliana Bonfim Cassimiro

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Natália de Lima Donato

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Adônis Moreira

Embrapa Soja, Departamento de
microbiologia e fertilidade do solo,
Londrina, Paraná, Brasil.

Carolina dos Santos Batista Bonini

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Resumo

A utilização de fertilizantes na agricultura faz parte do processo para atender à demanda por alimentos no mundo. Fertilizantes minerais apresentam alta concentração de nutrientes, facilitando a utilização em grandes áreas e viabilizando o deslocamento para grandes distâncias. No entanto, para maximizar o aproveitamento dos nutrientes pelas plantas, é importante o sincronismo na solubilidade dos fertilizantes e a demanda nutricional das culturas. A partir dessas premissas, foi constatada a necessidade de tecnologias para aumentar a eficiência dos fertilizantes e avançar na sustentabilidade da produção agrícola. As fontes de fertilizantes minerais nitrogenadas e fosfatadas são as mais estudadas para inserir tecnologias para o aumento de eficiência. Isso pode ser atribuído ao grande volume utilizado na produção agrícola, aos grandes danos que podem ocorrer no ambiente pelo excesso na aplicação ou pelo aumento da produção de matéria prima no processo industrial, bem como elevar os custos de produção pela falta de eficiência do sistema. Os principais meios utilizados para aumentar a eficiência dos fertilizantes minerais são a incorporação de estabilizadores e a liberação lenta ou controlada de nutrientes. As características das tecnologias serão apresentadas e discutidas no desenvolvimento do tema, com resultados já obtidos pelas pesquisas, especialmente, com distintas condições de solo e espécies vegetais.

1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento acelerado da população mundial, questiona-se como a agricultura conseguirá atender à crescente demanda pelo alimento. Entretanto, expandir a produtividade das culturas para aumentar a oferta de alimentos é um sistema complexo, pois além das questões econômicas e sociais, envolve aspectos agronômicos como fatores genéticos, climáticos, disponibilidade de água, manejo das culturas, entre outros. No contexto da necessidade de aumentar a produção de alimentos, o uso de fertilizantes vem se mostrando como uma opção para elevar a oferta de alimentos em todo mundo. Estima-se que, atualmente, mais de 48% das 7 bilhões de pessoas vivem graças ao aumento da produção das culturas obtido pela aplicação de fertilizantes nitrogenados. Por exemplo, a agricultura brasileira é responsável por 7% do consumo global de fertilizantes, situando-se atrás somente da China, Índia e Estados Unidos. Contudo, o país se encontra na quarta posição do consumo de nitrogênio e na terceira de fósforo, além de ocupar o segundo posto no consumo de potássio (ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS - ANDA, 2018).

A utilização de fertilizantes minerais na agricultura ultrapassa um século, marcado na história com a aplicação da ciência, tecnologia e inovação, quando, em 1918, Haber Bosch viabilizou a produção industrial do fertilizante amoniacal. Ao longo do tempo, novos desafios são estabelecidos, entre os quais está a busca, por meio da pesquisa, por fertilizantes com eficiência aumentada, associando produtos para aumentar o aproveitamento e a recuperação dos nutrientes, com foco na sustentabilidade da produção agrícola e na segurança alimentar do planeta.

Os fertilizantes minerais de eficiência aumentada têm como objetivo aumentar a eficiência de uso dos nutrientes, reduzindo perdas por volatilização, lixiviação, fixação e emissão de óxido nitroso [dependendo da fonte nitrogênio (N), fósforo (P) ou potássio (K)], além de aumentar a absorção pelas plantas por meio do fornecimento gradual, de acordo com a demanda da planta.

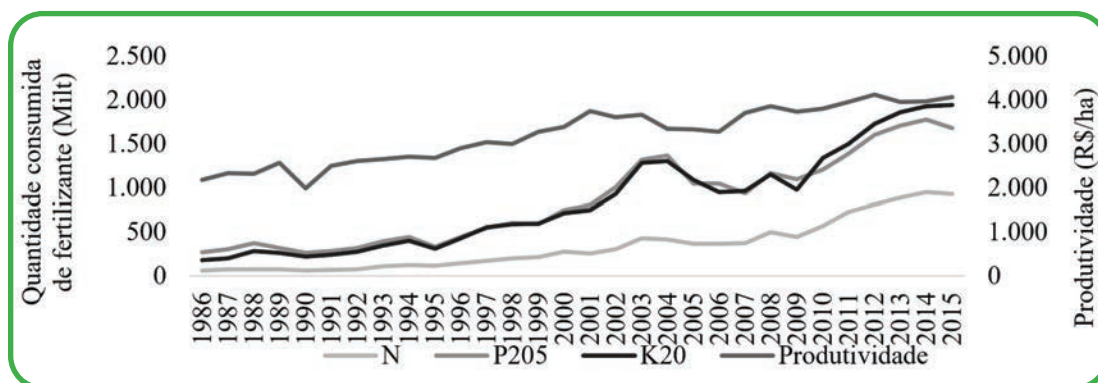
2 IMPORTÂNCIA DOS FERTILIZANTES NO AUMENTO DA PRODUTIVIDADE AGRÍCOLA

O uso de fertilizantes proporciona a possibilidade de produzir mais, utilizando a mesma quantidade de área, devido à rápida resposta das plantas. O uso adequado de fertilizantes é hoje um dos principais fatores que contribuem para a segurança alimentar global, gerando produção de alimentos e contribuindo para a preservação de florestas, e, em consequência, para a preservação da fauna e da flora dos diversos biomas. Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (*Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO)), cada tonelada de

fertilizante mineral aplicado em um hectare, equivale à produção de quatro hectares sem adubação (LOPES, 2007). Sendo assim, é indissociável a relação entre a fertilidade do solo, o uso de fertilizantes e a produtividade agrícola (Figura 1).

O desenvolvimento de fertilizantes que possuem eficiência aumentada é de extrema importância para o plantio agrícola. Esses podem ser divididos em fertilizantes com inibidores de reações bioquímicas (inibidores de enzimas de reações químicas-biológicas) e fertilizantes de liberação lenta ou controlada, que são grânulos revestidos com substâncias orgânicas (resinas, borracha) ou inorgânicas (polímeros sintéticos, enxofre ou minerais) (ALMEIDA, 2016).

Figura 1. Evolução da produtividade junto à trajetória da quantidade consumida de fertilizantes nitrogenados, fosfatados e potássicos.



Fonte: Ogino *et al.* (2020).

3 FERTILIZANTES NITROGENADOS DE EFICIÊNCIA AUMENTADA

O nitrogênio (N) é um nutriente essencial necessário em grandes quantidades, fazendo parte da composição de proteínas, de ácidos nucleicos e de outros componentes celulares. A proteína é responsável por 60% ou mais do N das plantas e células microbianas (VIEIRA, 2017).

A ureia é o fertilizante nitrogenado mais utilizado na agricultura brasileira, especialmente devido à fácil fabricação, alto teor de nutrientes e menor custo. Estudos têm demonstrado que, quando a ureia é aplicada na superfície do solo, o N será perdido por volatilização da amônia (NH_3). A intensidade da volatilização é alterável e pode ser maior ou menor, dependendo das variações climáticas como temperatura, umidade, matéria orgânica, pH, etc. (LI *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2020). Ainda faltam estudos relacionados às fontes de fertilizantes nitrogenados relacionados aos inibidores de ureia. São necessários estudos mais detalhados sobre o seu desempenho na disponibilidade de nitrogênio para as plantas relacionada com o sistema de manejo das culturas e seus efeitos nas características morfológicas e fisiológicas das plantas (NUNES *et al.*, 2020).

As inovações tecnológicas e práticas apropriadas realizadas pelos produtores rurais estão diretamente relacionadas ao acréscimo da produção brasileira nas últimas décadas. O grande desafio da indústria produtora de fertilizante nitrogenado é melhorar as características químicas, físicas e físico-químicas dos produtos e a eficiência no uso dos nutrientes. A melhoria da eficiência do uso de fertilizantes nitrogenados parece ser uma boa maneira de lidar com a degradação ambiental, mudanças climáticas e segurança alimentar (ZHANG *et al.*, 2015).

Os mecanismos de redução de perda de nitrogênio ocorrem basicamente por meio de dois processos: (a) controle de conversão, que visa reduzir a conversão de produtos em formas passíveis de perda, e (b) proteção física das formas solúveis, que visa evitar os efeitos das perdas do produto. As principais formas de perda são: (a) lixiviação; (b) emissões na forma de óxido nitroso (desnitrificação), e (c) volatilização. Dentre os fertilizantes nitrogenados, possuímos algumas classificações (HEINRICHS *et al.*, 2014; GUELF, 2017):

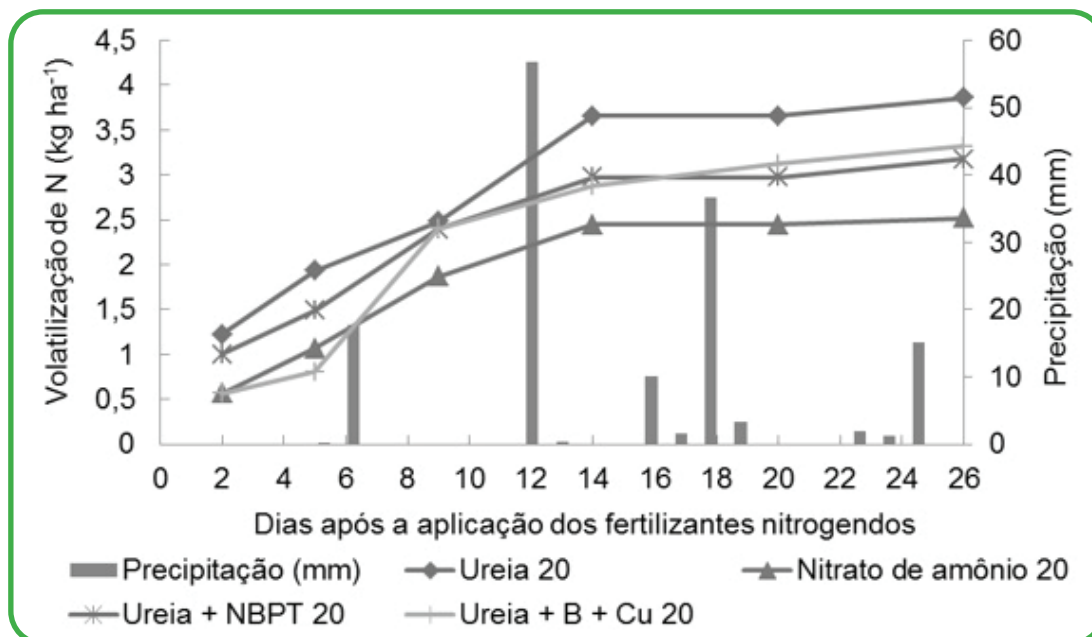
1. Fertilizantes nitrogenados convencionas: ureia, nitrato de amônio, sulfato de amônio, nitrato de cálcio, fosfato monoamônico e fosfato diamônico;
2. Fertilizantes nitrogenados estabilizados: são produtos que podem reduzir a perda de nitrogênio, atrasando a conversão da forma original de fertilizante em uma forma propensa a perdas. O tempo de proteção varia de dias a semanas, e o efeito se manifestará se houver condições reais para as perdas. A utilização de um inibidor da urease atrasa a hidrólise da ureia e aumenta o tempo disponível para que a ureia aplicada à superfície se mova para o solo [NBPT, nitropirina e o N-nitrosfere] (BLAYLOCK, 2007), reduzindo assim o potencial de perdas de NH_3 e melhorando a eficiência da utilização de N;
3. Fertilizantes nitrogenados de liberação lenta ou quimicamente modificados: apresentaram seus primeiros estudos em 1924, na Europa e nos Estados Unidos, sendo patenteados por volta de 1947 e 1955 (YAMAMOTO *et al.*, 2016). São produtos de condensação de ureia com aldeídos, apesar de os mais utilizados serem ureia-formaldeído (UF- 38% de N), ureia metileno (UM), isobutilideno-diureia (IBDU 32% de N) e crotonilideno-diureia (CDU 32,5% de N). Os fertilizantes de liberação lenta são quimicamente modificados, de modo a estender sua disponibilidade à planta por mais tempo em relação aos fertilizantes convencionais, mas sem controle do tempo de disponibilização do N (TRENKEL, 2010);
4. Fertilizantes nitrogenados de liberação controlada: são produtos com a forma tradicional do N, mas são revestidos para fornecer uma barreira física à exposição dos nutrientes. Eles são, basicamente,

divididos em dois tipos de revestimentos (enxofre ou polímeros). No caso de uma camada de enxofre, a disponibilização de nutrientes ocorrerá por meio da destruição da camada de cobertura, que depende, basicamente, da espessura da camada e das condições ambientais. Na utilização de polímeros poliuretanos e poliolefinas, a liberação ocorre por difusão através da camada de cobertura, dependendo das propriedades químicas do polímero, da espessura, do processo de cobertura e da temperatura do meio. O polímero fornece condições controladas e pode ser produzido de acordo com as necessidades de nutrientes das plantas ao longo do ciclo da cultura para sincronizar a liberação de N (BLAYLOCK, 2007);

O agente de liberação controlada possui a mais avançada tecnologia em fertilizantes para melhorar a eficiência (TRENKEL, 2010; TIMILSENA *et al.*, 2015). São fertilizantes solúveis convencionais, que podem ser aplicados rapidamente ao solo, como a ureia, revestidos ou envolvido por materiais, orgânicos ou inorgânicos, que podem controlar a liberação de nitrogênio na hora, e ajustar a quantidade de nitrogênio liberado de acordo com a necessidade da cultura. No entanto, esses fertilizantes têm um custo maior por unidade de N, principalmente por tornarem o uso dessas tecnologias inviáveis a agricultores em grande escala (TRENKEL, 2010).

Na avaliação da viabilidade do uso de fontes nitrogenadas convencionais e com eficiência aumentada na adubação de capim decumbens (*Urochloa decumbens*), verificou-se que a volatilização de amônia atingiu valores muito próximos ao máximo aos 14º dia após a adubação para todas as fontes avaliadas. No entanto, as fontes de ureia revestida proporcionaram menores perdas em relação à ureia sem revestimento. Observa-se que a precipitação de aproximadamente 18 mm, seis dias após a adubação não foi suficiente para zerar a volatilização de amônia e somente com a chuva ocorrida no 12º dia cessou volatilização para todas as fontes, podendo ser atribuído à solubilização e infiltração dos fertilizantes no solo (Figura 2).

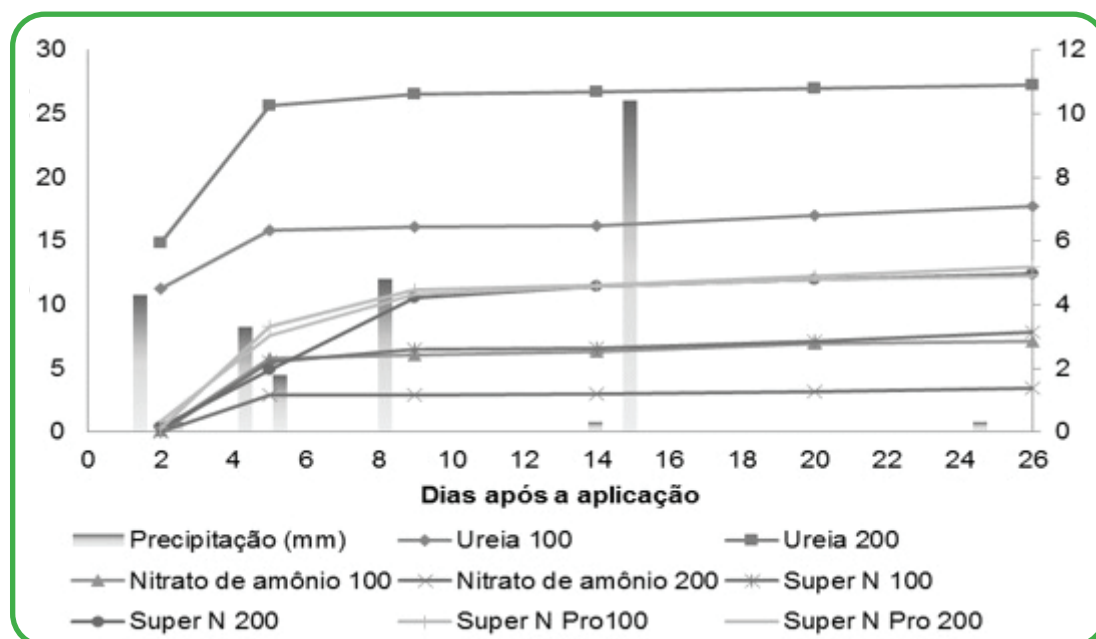
Figura 2. Fontes de fertilizantes, volatilização de amônia e precipitação após aplicação de 20 kg ha⁻¹ de N em pastagem (*Urochloa decumbens*).



Fonte: Meirelles (2017).

Na Figura 3, estão apresentados os resultados de volatilização de amônia em pastagem de *Urochloa brizantha* cv. Marandu encontrados por Cassimiro (2020). Os valores de volatilização equivalem a doses de 25 e 50 kg ha⁻¹ de N, com as fontes ureia, nitrato de amônio, ureia+NBPT e ureia+Duromide, incluindo a precipitação ocorrida durante o período avaliado. Nas avaliações, foi possível observar que a ureia, em ambas as doses, foi a fonte que apresentou maior volatilização de amônia. Por sua vez, a ureia com o inibidor de urease NBPT ou Duromide na composição apresentou eficiência na redução da volatilização de amônia, atingindo valores semelhantes ao nitrato de amônio. A intensidade na volatilização da amônia, após a aplicação superficial de ureia ao solo é muito variável, relacionada às doses, fontes e condições climáticas predominantes durante o período avaliado.

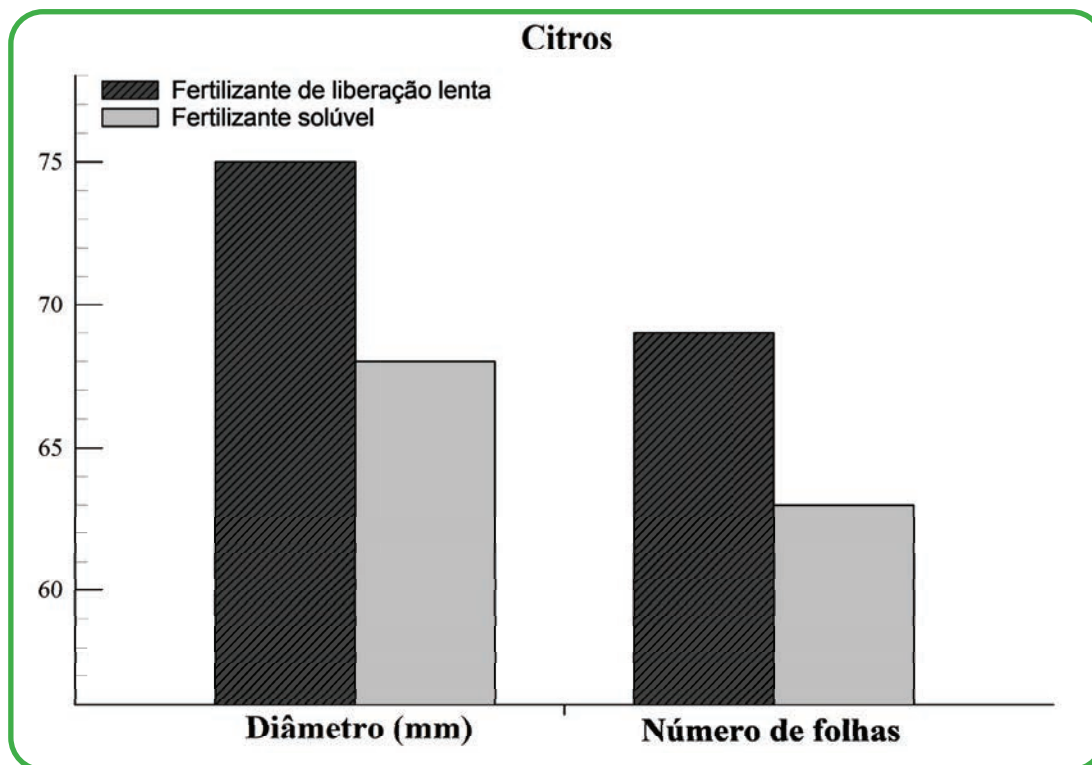
Figura 3. Fontes e doses de nitrogênio, volatilização de amônia e precipitação em pastagem capim marandu. Doses de 25 e 50 kg ha⁻¹, representando, respectivamente, um quarto da dose de 100 e 200 kg ha⁻¹ de N.



Fonte: Cassimiro (2020).

Estudos que avaliam o crescimento e a disponibilidade de nutrientes para dois porta-enxertos de citros adubados com fertilizante de liberação lenta e com fertilizantes convencionais, em fase posterior ao transplante de tubetes para vasos, indicam que o fertilizante de liberação lenta proporcionou maior crescimento em diâmetro de caule e número de folhas para os dois porta-enxertos, com diferenças significativas nas médias obtidas aos 180 dias após o transplante (Figura 4). Os autores destacam que o fertilizante de liberação lenta, quando comparado ao fertilizante convencional, resultou em crescimento mais rápido do diâmetro do caule e do número de folhas dos porta-enxertos limoeiro 'Cravo' e tangerineira 'Sunki' e proporcionou maiores teores médios de P nas folhas, assim como maior disponibilidade de P e K no substrato (ALMEIDA *et al.*, 2012).

Figura 4. Diâmetro e altura de porta enxerto de limoeiro em função da adubação com fertilizante de liberação lenta e convencional.



Fonte: adaptado de Almeida *et al.* (2012).

4 FERTILIZANTES FOSFATADOS DE EFICIÊNCIA AUMENTADA

O fósforo é o elemento com forte reatividade química, por isso não é encontrado na forma pura na natureza, sempre quimicamente combinado com outros elementos. A maior parte do fósforo no solo vem do intemperismo da apatita, um mineral que contém fósforo e cálcio. Quando a apatita se decompõe e libera fósforo para o solo, vários compostos de fósforo são formados, incluindo dois ortofosfatos (H_2PO_4^- e HPO_4^{2-}), que são absorvidos pelas raízes das plantas. O fósforo no solo sofre os efeitos de adsorção e fixação, principalmente pela ligação com óxidos de Fe e Al, que são intensificados em condições de solos ácidos, reduzindo os aproveitados pelas plantas (SCHONINGER; GATIBONI; ERNANI, 2013).

Em condições de clima tropical, os solos são altamente intemperizados, geralmente apresentando carência generalizada de fósforo, com alta complexidade do elemento com a fase coloidal, ocorrendo redução na disponibilidade para as culturas. O aproveitamento do nutriente pelas culturas gera em torno de 15 a 25% do P aplicado via fertilizante (SANDERS *et al.*, 2012; ZANÃO JR *et al.*, 2020). Trabalhos vem sendo realizados, buscando melhorar a eficiência do uso de P com práticas culturais, manejo do solo, sistemas de adubação, fertilizantes com pacote tecnológico para melhorar o aproveitamento com menores doses de fertilizantes (FERREIRA *et al.*, 2021),

com resultados em longo prazo.

Nos primórdios da utilização de fertilizantes minerais na agricultura buscava-se, apenas, a solubilidade das fontes, objetivando-se a liberação imediata para as culturas. No entanto, com o avanço do conhecimento e da compreensão dos fatores que envolvem o sistema solo-planta, associados à necessidade de aumentar a produtividade das culturas, a tecnologia em fertilizantes com eficiência agrônômica diferenciada tornou-se uma das metas no século XXI.

Devido às características dos solos e, para manter a disponibilidade do nutriente, grandes quantidades de P são aplicadas, sendo esse um dos investimentos mais altos para a prática da agricultura, principalmente quando utilizado fosfatos acidulados de alta solubilidade.

Uma alternativa para melhorar o uso de fósforo é melhorar a qualidade dos fertilizantes fosfatados. Na agricultura brasileira, predomina o uso dos fertilizantes fosfatados oriundos do tratamento com ácidos em rochas fosfáticas, como o superfosfato triplo (SST) e o superfosfato simples (SFS), o fosfato monoamônico (MAP) e o fosfato diamônico (DAP) (FONTOURA *et al.*, 2010; NASCIMENTO, 2016). Além destas fontes, há os fosfatos naturais (FN), que são resultado da moagem das rochas naturais.

As inovações tecnológicas ligadas aos adubos fosfatados estão relacionadas ao uso de fertilizantes de eficiência aumentada (EEFs), tradução do inglês *Enhanced Efficiency Fertilizers*, com o objetivo de reduzir perda de nutrientes para o meio ambiente e aumentar a disponibilidade de nutrientes para as plantas. Os EEFs podem ser divididos em dois grupos: (a) de liberação lenta ou controlada, e (b) estabilizados.

De acordo com a *Association American Plant Food Control Officials* (1997) (AAPFCO), fertilizantes de liberação lenta ou controlada são aqueles que contêm nutrientes de uma forma que: a) retarda a disponibilidade para absorção e uso pelas plantas após a aplicação, ou b) cuja disponibilidade para as plantas é maior que a existente para "fertilizantes com alta disponibilidade de nutrientes".

Na legislação oficial do Brasil, não há definição ou diferenciação de fertilizantes de liberação lenta e de liberação controlada. No entanto, de forma prática, há a tendência de diferenciar os produtos a partir dos seguintes conceitos:

1. Fertilizantes de liberação lenta: produtos que possuem a propriedade de ser dissolvido mais lentamente no solo e estão relacionados à atividade microbiana para decomposição de polímeros associados ao fertilizante. Dessa maneira, as condições ambientais e solo (precipitação, umidade, temperatura, argila, pH) afetam a velocidade de liberação do nutriente;
2. Fertilizantes de liberação controlada: produtos revestidos que

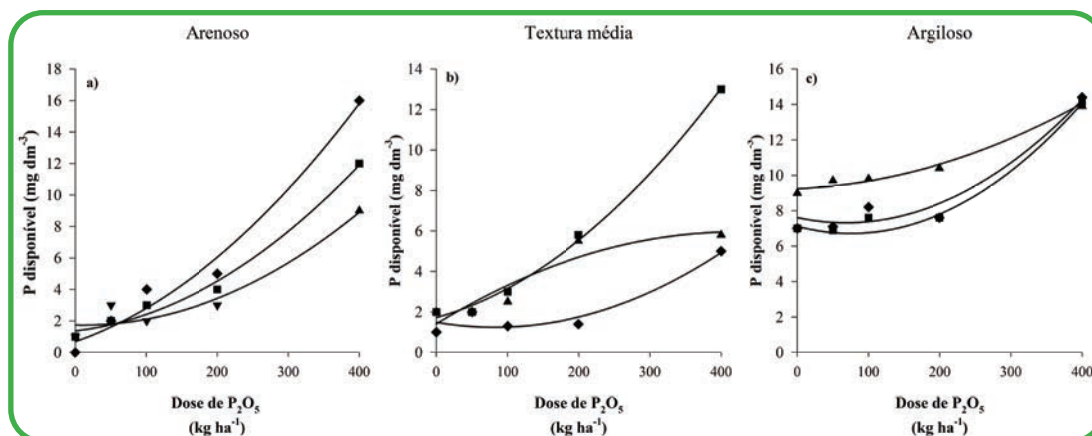
controlam a penetração de água, a taxa de dissolução do fertilizante e a liberação do nutriente, que ocorre com a hidratação da camada de revestimento e a passagem do nutriente pelos microporos formados no processo. Como resultado, o fósforo está menos sujeito a reações de fixação com ferro alumínio e argilas, favorecendo a absorção radicular de forma mais equilibrada ao longo do ciclo de crescimento das plantas.

Novas tecnologias estão sendo desenvolvidas para o aumento da eficiência de fertilizantes. Fertilizantes fosfatados são revestidos com polímeros. Pela saturação de cargas, os polímeros são atraídos com maior facilidade pelo ferro e alumínio, deixando o fósforo livre na solução do solo para o seu aproveitamento pelas plantas (CHAGAS *et al.*, 2015; OLIVEIRA, 2019).

4.1 Fertilizantes fosfatados com eficiência aumentada na produção agrícola

A textura do solo está diretamente relacionada com a fração coloidal do solo e por sua vez, afeta o complexo de cargas do solo. Machado e Souza (2012) avaliaram a presença do revestimento com polímero em fertilizante fosfatado e observaram o efeito na disponibilidade de fósforo no solo em condições de textura média e argilosa. Por sua vez, a fonte de P de liberação lenta aumentou a disponibilidade do nutriente ao longo do tempo, com efeito mais pronunciado em solos argilosos, seguido pelo de textura média e arenosa (Figura 5).

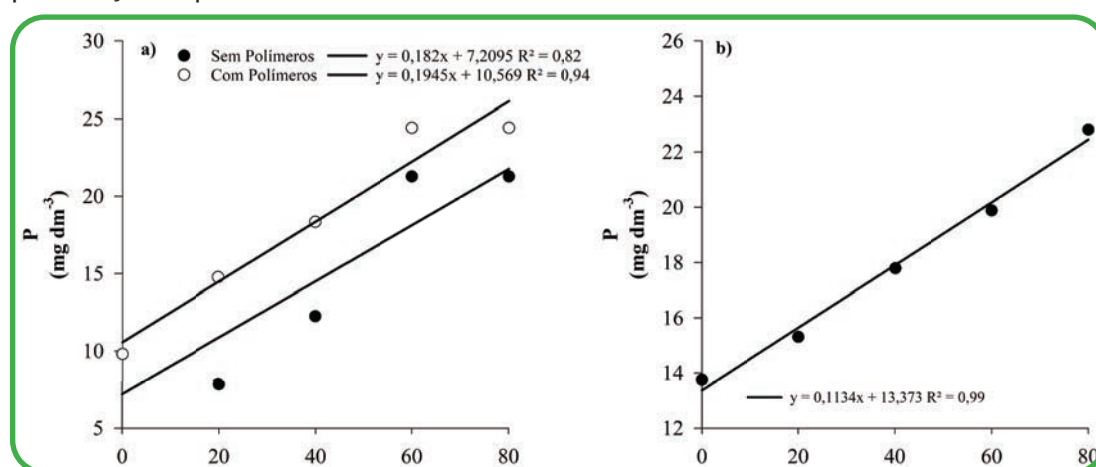
Figura 5. Teor de fósforo em Mehlich-1 em solo de textura arenosa (a) média (b) e argilosa (c), após 30 (A1), 60 (A2) e 90 (A3) dias da aplicação do fertilizante fosfato monoamônico de liberação lenta.



Fonte: Machado e Souza (2012).

O estudo realizado com adubação em superfície na cana-de-açúcar, por Oliveira (2019), verificou maior disponibilidade de fósforo no solo na aplicação de fosfato monoamônico com a presença do polímero por meio do extrator Resina (Figura 6a), enquanto pelo extrator Mehlich 1 essa diferença não foi observada (Figura 6b). A diferença entre os extratores pode ser explicada pelo fato do método Resina extrair o P que está em equilíbrio com a solução do solo e o Mehlich 1 extrair o P ligado principalmente ao Ca (BORTOLON; GIANELLO, 2010).

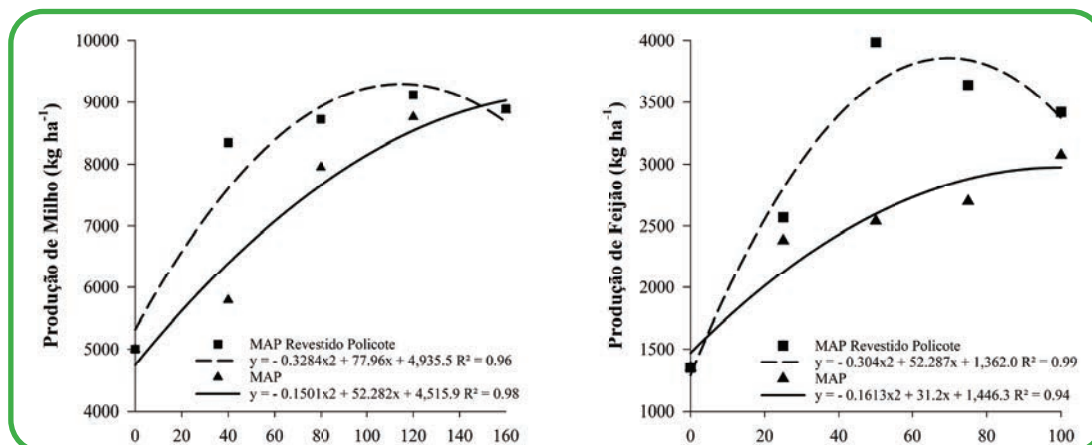
Figura 6. Teor de fósforo no solo, na camada de 0 – 0,10 m, pelo extrator Resina (a) e Mehlich 1 (b) adubado com fosfato monoamônico com e sem a presença de polímeros.



Fonte: adaptado de Oliveira (2019).

A ação da tecnologia se reflete, principalmente, na produtividade das culturas. Souza et al. (2020) avaliou os efeitos do MAP comum e do MAP revestido com Policote na resposta em culturas de milho e de feijão comum. Em ambas as culturas, verificou-se que o revestimento com Policote aumentou a produtividade em relação à ausência do polímero no revestimento. No milho, com a dose de 120 kg ha^{-1} , a diferença foi +10% e no feijoeiro +22,3 % com a dose de 90 kg ha^{-1} , em relação à produtividade nas áreas adubadas com o fertilizante sem revestimento (Figura 7).

Figura 7. Produção de milho (a) e feijão (b) em resposta a doses e fontes de fertilizantes fosfatados sem e com revestimento.



Fonte: adaptado de Souza *et al.* (2020).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Fertilizantes de eficiência aumentada são uma realidade na agricultura e melhoram o aproveitamento dos nutrientes pelas culturas, proporcionando retornos na forma de maior produtividade. A amplitude dos resultados pode variar em função das condições específicas da tecnologia inserida no processo industrial do fertilizante, das condições climáticas e do solo, da aplicação do fertilizante, do sistema de cultivo, da rotação de culturas e das exigências das culturas. No entanto, todas as tecnologias devem ser comprovadas no campo por meio de pesquisas que sustentem os benefícios no sistema de produção agrícola.

REFERÊNCIAS

- AAPFCO. **Association of American Plant Food Control Officials (AAPFCO)**. 1997. Disponível em: <http://www.aapfco.org/publications.html>. Acesso em: 18 fev. 2021.
- ALMEIDA, L. V. B.; MARINHO, C. S.; MUNIZ, R. A.; CARVALHO, A. J. C. Nutrient availability and growth of citrus rootstock fertilized with conventional and slow release fertilizers. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 289-296, 2012.
- ALMEIDA, R. E. M. **Fertilizantes de eficiência aumentada**: uso de ureia de liberação controlada ou com inibidores em sistemas agrícolas sustentáveis. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2016.
- ANDA. **Associação Nacional para Difusão de Adubos**. 2018. Disponível em: <http://anda.org.br/>. Acesso em: 16 fev. 2021.
- BLAYLOCK, A. Novos fertilizantes nitrogenados: o futuro dos fertilizantes nitrogenados de liberação controlada. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 120, 2007.

BORTOLON, L.; GIANELLO, C. Simultaneous multielement extraction with the Mehlich-1 solution for Southern Brazilian soils determined by ICP-OES and the effects on the nutrients recommendations to crops. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 1, p. 125-132, 2010.

CASSIMIRO, J. B. **Volatilização, nitrogênio no solo e produção de capim marandu com a aplicação de doses e fontes nitrogenadas com eficiência aumentada**. 2020. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista, Dracena, 2020. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/204645/cassimiro_jb_me_bdr.pdf?sequence=3. Acesso em: 3 abr. 2021.

CHAGAS, W. F. T.; EMRICH, E. B.; GUELF, D. R.; CAPUTO, A. L. C.; FAQUIN, V. Productive characteristics, nutrition and agronomic efficiency of polymer-coated MAP in lettuce crops. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 46, n. 2, p. 266-276, 2015.

FERREIRA, B. S.; SANTANA, M. V.; CABRAL, R. S.; MATIELLO, E.; REIS JR, R. A. Soybean and Corn crop response to enhanced efficiency phosphate fertilizer. **International Journal of Horticulture, Agriculture and Food science**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 1-9, 2021.

FONTOURA, S. M. V.; VIEIRA, R. C. B.; BAYER, C.; ERNANI, P. R.; MORAES, R. P. Eficiência técnica de fertilizantes fosfatados em Latossolo sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 6, p. 1907-1914, 2010.

GUELF, D. Fertilizantes nitrogenados estabilizados, de liberação lenta ou controlada. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, v. 157, p. 1-14, 2017.

HEINRICHS, R.; REBONATTI, M. D.; LISBOA, L. A. M.; SOARES FILHO, C. V. Fertilizantes nitrogenados estabilizados e de liberação lenta ou controlada em pastagens. In: HEINRICHS, R.; SOARES FILHO, C. V. **Adubação e manejo de pastagens**. Birigui: Boreal, 2014. p. 71-86.

LI, Q.; YANG, A.; WANG, Z.; ROELCKE, M.; CHEN, X.; ZHANG, F.; PASDA, G.; ZERULLA, W.; WISSEMEIER, A. H.; LIU, X. Effect of a new urease inhibitor on ammonia volatilization and nitrogen utilization in wheat in north and northwest China. **Field Crops Research**, [s. l.], v. 175, p. 96-105, 2015.

LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G. **Fertilidade do solo e produtividade agrícola**. Departamento de Ciência do Solo. SBCS, Viçosa, 2007. Fertilidade do Solo, 1017p.

MACHADO, V. J.; SOUZA, C. H. E. Disponibilidade de fósforo em solos com diferentes texturas após aplicação de doses crescentes de fosfato monoamônico de liberação lenta. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, supl. 1, p. 1-7, 2012.

MEIRELLES, G. C. **Volatilização de amônia de fontes nitrogenadas com eficiência aumentada em condições de pastagem**. 2017. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista, Dracena, 2017. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/152648>. Acesso em: 17 fev. 2021.

NASCIMENTO, C. A. C. **Frações de fósforo no solo e aproveitamento de fosfatos pela cana-de-açúcar**. 2016. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de

São Paulo, Piracicaba, 2016. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11140/tde-28042016-132512/>. Acesso em: 3 mar. 2021.

NUNES, B. H. D. N.; LUZ, J. H. S.; RIBEIRO, E. A.; OLIVEIRA, H. P.; SILVA, L. P.; BESERRA, J. P. S.; OLIVEIRA, S. S.; SILVA, H. D.; CARDEAL, I. R. P.; DIAS, J. S.; SILVA, R. R.; FREITAS, G. A. Morfofisiologia do capim mombaça em função de fertilizantes nitrogenados estabilizados. In: SILVA-MATOS, R. R. S.; ALBANO-MACHADO, F. G.; OLIVEIRA, M. M. T. **Desenvolvimento tecnológico em ciência do solo**. Ponta Grossa: Atena, 2020. p. 138-147.

OGINO, C. M.; COSTA JUNIOR, G.; POPOVA, N. D.; MARTINES FILHO, J. G. Poder de compra, preço e consumo de fertilizantes minerais: uma análise para o centro-oeste brasileiro. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Brasília, v. 59, n. 1, p. 1-19, 2020.

OLIVEIRA, C. L. B. **Adubação fosfatada com polímeros em soqueira de cana-de-açúcar**: efeito da labilidade de fósforo no solo e na produtividade. 2019. 76 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista, Dracena, 2019.

SANDERS, J. L.; MURPHY, L. S.; NOBLE, A.; MELGAR, R. J.; PERKINS, J. Improving Phosphorus use Efficiency with Polymer Technology. **Procedia Engineering**, [s. l.], v. 46, p. 178-184, 2012.

SANTOS, C. F.; PINTO, S. I. C.; SILVA, K. P. E.; LEITE, P. D. C.; VITOR, V. A. Ammonia volatilization from Nitrogen topdressing fertilization in second-crop corn cultivated under two management systems. **Revista Agrogeoambiental**, Pouso Alegre, v. 11, n. 4, p. 132-142, 2020.

SCHONINGER, E. L.; GATIBONI, L. C.; ERNANI, P. R. Fertilização com fosfato natural e cinética de absorção de fósforo de soja e plantas de cobertura do cerrado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 95-106, 2013.

SOUZA, C. H. E.; REIS JR, R. A.; RIBEIRO, V. G. S.; MACHADO, M. M.; MARTINS NETO, M.; SOARES, P. H. Enhanced-Efficiency phosphorous fertilizer impacts on corn and common bean. **Crops and Soil Phosphorus Diffusion**, [s. l.], v. 12, n. 7, 2020.

TIMILSENA, Y. P.; ADHIKARI, R.; CASEY, P.; MUSTER, T.; GILL, H.; ADHIKARI, B. Enhanced efficiency fertilizers: a review of formulation and nutrient release patterns. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 95, n. 6, p. 1131-1142, 2015.

TRENKEL, M. E. **Slow- and controlled-release and stabilized fertilizers**: an option for enhancing nutrient use efficiency in agriculture. 2. ed. Paris: International fertilizer industry association (IFA), 2010. p. 163.

VIEIRA, R. F. **Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas**. 21. ed. Brasília, DF: Embrapa Meio Ambiente, 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1090589/ciclo-do-nitrogenio-em-sistemas-agricolas>. Acesso em: 1 fev. 2021.

YAMAMOTO, C. F.; PEREIRA, E. I.; MATTOSO, L. H. C.; MATSUNAKA, T.; RIBEIRO, C. Slow release fertilizers based on urea/urea-formaldehyde polymer nanocomposites. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 287, p. 390-397, 2016.

ZANÃO JR, L. A.; ARF, O.; REIS JR, R. A.; PEREIRA, N. Phosphorus fertilization with

enhanced efficiency in soybean and corn crops. **Australian Journal of Crop Science**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 78-84, 2020.

ZHANG, X.; DAVIDSON, E. A.; MAUZERALL, D. L.; SEARCHINGER, T. D.; DUMAS, P.; SHEN, Y. Managing nitrogen for sustainable development. **Nature**, [s. l.], v. 528, n. 7580, p. 51-59, 2015.

CAPÍTULO 3

TRATAMENTOS ALTERNATIVOS EM SEMENTES NO SISTEMA ORGÂNICO

Pâmela Gomes Nakada-Freitas

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Antonio Ismael Inácio Cardoso

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas,
Botucatu, São Paulo, Brasil.

Natália de Brito Lima Lanna

Associação Biodinâmica, Botucatu, São
Paulo, Brasil.

Emanuele Possas de Souza

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas,
Botucatu, São Paulo, Brasil.

Beatriz Lívero Carvalho

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas,
Botucatu, São Paulo, Brasil.

Hugo Cesar Rodrigues Moreira Catão

Universidade Federal de Uberlândia,
Minas Gerais, Brasil.

Resumo

O sistema orgânico de produção ainda permite o uso de sementes de origem no sistema convencional, mas que, preferencialmente, não sejam tratadas com agroquímicos. Porém, se não houver outra disponibilidade, a certificadora pode autorizar a sua utilização pelo produtor. De acordo com a Instrução Normativa nº 46 de 2011, Artigo 100, foi estabelecido o prazo de obrigatoriedade do uso de sementes orgânicas até 19 de dezembro de 2013, porém, como não surgiram sementes suficientes no mercado, a norma foi postergada até os dias de hoje e, portanto, ainda é permitido o uso de sementes tratadas com agroquímicos convencionais. Assim, torna-se de elevada importância o desenvolvimento de estudos para a criação de produtos alternativos sustentáveis, sobretudo porque o tratamento de sementes é uma prática de baixo custo no sistema convencional, o que provavelmente ocorrerá com o desenvolvimento de produtos alternativos, pois conferem proteção e elevada qualidade sanitária às sementes, permitindo a formação de um estande uniforme, se atender a outras qualidades genéticas, físicas e fisiológicas, e consequentemente, resultando em alta produtividade.

1 INTRODUÇÃO

A qualidade da semente, caracterizada pelos aspectos genéticos, físicos, sanitários e fisiológicos, é de fundamental importância para a obtenção de um estande completo, uniforme e sadio e, conseqüentemente, maior potencial produtivo. Vários são os fatores que afetam a qualidade das sementes, dentre eles, merece destaque a associação com microrganismos.

Nem sempre é possível a obtenção de lotes de sementes sem a presença de microrganismos indesejáveis. Por isso, na maioria das vezes, é recomendável o tratamento das sementes (CARDOSO *et al.*, 2015). No sistema de produção orgânico não é permitido o uso de agroquímicos, nem na fase de produção no campo nem no tratamento de sementes. Com isso, surge a necessidade de estudos sobre métodos de controle alternativos de patógenos transmitidos por sementes, para conter a transmissão desses, preservando a sanidade das sementes, mas que não prejudiquem a qualidade fisiológica do lote.

No sistema convencional para o tratamento de sementes, já existem diversos produtos registrados no mercado (AGROFIT, 2021), diferentemente de produto alternativo para o sistema de produção orgânica, por isso a importância de novos estudos de produtos, sobretudo de plantas medicinais que possuem diversos constituintes metabólitos complexos que podem comprometer o desenvolvimento dos fitopatógenos (SANTOS; SANTOS; MARISCO, 2017), bem como o uso da termoterapia (SCHNEIDER *et al.*, 2015), tanto a seco (LAZAROTTO *et al.*, 2013) quanto a úmido (OLIVEIRA *et al.*, 2011), desnaturando suas membranas celulares, logicamente, desde que não afete a qualidade fisiológica das sementes.

Estudos devem ser mais aprofundados, pois o uso de um produto alternativo pode variar conforme a cultivar, a procedência do produto natural, a exemplo dos óleos essenciais e os extratos de plantas que variam conforme o seu local de produção ou tratamentos culturais. Outro exemplo é o própolis, que varia conforme a origem de onde as abelhas realizam a visita às flores para coleta do néctar, e das plantas das quais são extraídas (SALATINO *et al.*, 2005). Diferentemente da termoterapia, embora não se possa aplicar a mesma temperatura e sob mesmo tempo na mesma cultivar, pois depende da qualidade inicial do lote das sementes.

Outro aspecto importante que o produtor deve considerar é a importância de se realizar a prática do tratamento de sementes, que, no sistema convencional, a atividade costuma representar em torno de 0,5 a 1,0% do custo total da produção (PARISI; MEDINA, 2013). Porém, como os estudos para os produtos alternativos são incipientes, ainda não se sabem os custos para essa prática, mas, provavelmente, o custo/benefício deve ser ótimo, assim como no sistema convencional.

2 OBJETIVO

Assim, o objetivo deste capítulo é apresentar alguns resultados de trabalhos de produtos naturais e técnica alternativa com potencial antimicrobiano que possa ser destinado ao sistema orgânico de tratamento de sementes.

3 QUALIDADE SANITÁRIA EM SEMENTES

Nas últimas décadas, as sementes produzidas alcançaram alto valor agregado devido ao melhoramento genético das cultivares, sendo cada vez mais produtivas e com tecnologias que auxiliam no manejo das plantas. Entretanto, a produção de sementes não é uma das tarefas mais fáceis, pois uma série de fatores podem comprometer a sua qualidade.

A qualidade sanitária das sementes é um dos principais aspectos a ser observado, uma vez que os microrganismos associados a elas podem interferir na germinação e no estabelecimento de plântulas no campo (PEREIRA *et al.*, 2005). Os microrganismos como nematoides, bactérias, vírus e fungos estão entre os de maior preocupação, e podem estar aderidos à superfície da semente ou no seu interior, associadas ao embrião. As chances de transmissão são muito maiores quando a estrutura do patógeno se encontra localizada no interior da semente.

A associação desses microrganismos às sementes pode comprometer a qualidade, reduzindo o potencial de germinação, o vigor e causando a perda de estande e, ainda, tornando as plantas emergentes mais susceptíveis a estresses em geral. Isso ocorre em virtude da transmissão de doenças para a parte aérea e para sistema radicular da plântula, podendo até mesmo causar a sua morte (MACHADO, 2000).

A presença de patógenos após o ponto de maturidade fisiológica ou no armazenamento se torna uma séria ameaça à qualidade das sementes (MUNIZ; GONÇALVES; GARCIA, 2004). No nível de produção de sementes, os principais efeitos são: formação de sementes anormais, redução no peso de sementes (produções menores) e, no caso de patógenos presentes nessas sementes quando comercializadas, a disseminação para longas distâncias, permitindo a perpetuação da doença em outras regiões. Além disso, ocasionam novos focos de inóculos nas áreas de produção, podendo levar à ressemeadura. Outra consequência é o aumento no uso de defensivos químicos para o controle das doenças introduzidas nas áreas de plantio, uma vez que são necessárias aplicações mais precocemente, tendo impacto diretamente no custo de produção da lavoura.

As sementes contaminadas podem afetar todo o sistema de produção, pois caso os patógenos encontrem condições favoráveis para o seu desenvolvimento podem estabelecer novas epidemias, pois pequenas quantidades de inóculo na semente podem ter uma grande significância

epidemiológica (PESKE; BARROS, 2006). Umidade e temperatura elevadas favorecem o crescimento e desenvolvimento de patógenos, tornando as sementes de regiões tropicais vulneráveis ao seu ataque.

As sementes apresentam elevados teores de proteínas, carboidratos, lipídeos e minerais, o que facilita a colonização dos tecidos e a manutenção da viabilidade dos patógenos, estendendo-se até os primeiros estádios de desenvolvimento das plântulas. O inóculo pode atingir também as flores, os frutos, e outras partes da planta ou até mesmo o solo. Podem se disseminar pelo vento, pela água, por insetos ou pela própria semente, durante a colheita e o beneficiamento.

Em relação ao beneficiamento, o patógeno pode estar presente em mistura com a semente em alguma fração impura do lote, havendo a possibilidade de contaminação de máquinas durante o processamento. No armazenamento, podem depreciar a qualidade das sementes por causarem a colonização do embrião, descoloração e apodrecimento, com reflexos tanto na viabilidade como no valor comercial e nutritivo, aumento da taxa de ácidos graxos, aquecimento da massa de sementes, gerando aumento da taxa respiratória e a aceleração da deterioração (MACHADO, 1988). Outro ponto a ser mencionado é que, no caso de sementes armazenadas, há a possibilidade da disseminação pelo tempo, perpetuando doenças entre gerações, situação na qual a sobrevivência do patógeno na semente pode durar por vários anos.

A questão sanitária ainda tem muito a ser desenvolvida. Atualmente, existe pouca legislação sobre patologia de sementes. A comercialização com laudos não é obrigatória, pois ainda não existem padrões máximos de incidência de patógenos definidos. Para conter ou combater os problemas relatados, algumas ferramentas podem ser adotadas, pois o uso de sementes de qualidade é fundamental. Sua produção tem início no manejo produtivo envolvendo a fase de campo, pós-colheita, armazenamento até a comercialização. Assim, uma forma de conter a presença de patógenos é realizando o tratamento das sementes por meio de produtos que levem à sua erradicação. O uso de sementes certificadas são a garantia de que esses processos foram realizados, e dá ao produtor rural a certeza de um lote de sementes de qualidade.

As sementes certificadas e fiscalizadas conferem segurança do uso de sementes com qualidade no quesito qualidade física, fisiológica, genética e sanitária. No entanto, os produtores do sistema convencional, antes de realizar o plantio, realizam o tratamento das sementes com agroquímicos convencionais, visto que existe uma ampla gama registrada no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), por outro lado, ainda não existe produto ou processo alternativo registrado para o tratamento de sementes para os produtores do sistema orgânico de produção.

4 TERMOTERAPIA NO TRATAMENTO DE SEMENTES

Dentre os métodos de tratamento de sementes permitidos no sistema de produção orgânica, existe a termoterapia, um método físico de tratamento que consiste na exposição das sementes à ação do calor (úmido ou seco) em combinação com o período do tratamento (binômio temperatura/tempo), visando o controle de organismos fitopatogênicos (BRAGA *et al.*, 2010). O princípio do tratamento baseia-se na diferença dos pontos térmicos letais, ou seja, a temperatura deve ser superior à temperatura letal para o patógeno, sem prejudicar as sementes. Se o tratamento não for realizado com rigor, as sementes podem ser danificadas pelo tratamento inadequado e/ou o patógeno pode não ser completamente eliminado pelo tratamento. Para o sucesso desse sistema, faz-se necessário o conhecimento da combinação adequada de temperatura e período de exposição, que podem variar de acordo com a espécie, a cultivar, o lote, o vigor inicial, dentre outros fatores (SORIANO, 2016; CARDOSO *et al.*, 2020).

O tratamento térmico a seco consiste em colocar as sementes em estufa de circulação de ar em temperatura que pode variar de 60 a 70°C, por período de 1h até 15 dias, dependendo da espécie e do lote. O tratamento térmico a úmido consiste em colocar as sementes imersas em água quente. Grondeau e Samson (1994) descrevem que a termoterapia a úmido deve ser aplicada com temperaturas entre 45 e 60°C por período máximo de 60 minutos, dependendo da espécie. No entanto, Spadaro *et al.* (2017) recomendam temperaturas entre 50 e 55°C, sendo que alguns autores (BRAGA *et al.*, 2010; CARDOSO *et al.*, 2020) demonstraram que temperaturas superiores a 55°C podem reduzir a germinação e o vigor das sementes, não devendo ser recomendadas, exceto para lotes novos com elevado vigor.

O tratamento por termoterapia com água quente é considerado mais eficiente em comparação ao tratamento em via seca, pois a água em seu estado líquido proporciona maior condutividade de calor em relação aos demais veículos (GRONDEAU; SAMSON, 1994). A água quente pode penetrar na semente suficientemente para erradicar infecções no seu interior. Entretanto, o tratamento com água quente pode causar desnaturação dos tecidos externos e/ou rompimento do tegumento das sementes, deteriorando-as mais rapidamente em comparação às sementes não tratadas por termoterapia, além de não conferir proteção residual.

Muitas pesquisas com sementes de diferentes espécies de plantas em que se estudaram o tratamento térmico visando o controle de patógenos em sementes são encontradas na literatura. Com termoterapia a seco, Kubota, Hagiwara e Shirakawa (2012) relataram completa desinfecção de sementes de melão, de pepino (*Cucumis sativus*) e de abóbora infestadas pela bactéria *Acidovorax citrulli*, com tratamento até 85°C por 3 a 5 dias, sem prejuízo à germinação, exceto em algumas abóboras que apresentavam sementes maiores. Shi *et al.* (2016) relataram desinfecção, apenas superficial, de

algumas espécies fúngicas (*Cladosporium cucumerinum*, *Ascochyta citrullina*, e *Colletotrichum orbiculare*) em sementes de pepino tratadas a 70°C por 90 minutos. Gama *et al.* (2014) relataram controle do fungo *Alternaria* sp. em sementes de erva doce tratadas a 70°C, sem redução na qualidade, mesmo com 15 dias de tratamento. No entanto, Cardoso *et al.* (2020) observaram que o tratamento com a mesma temperatura (70°C) foi letal às sementes de couve de um lote com baixo vigor inicial, mesmo no menor tempo de tratamento (24h).

O tratamento por termoterapia úmida também tem sido um método eficiente em diferentes espécies. Silva, Freitas e Nascimento (2018) comprovaram a eficiência em 100% do tratamento termoterápico a 60°C com água quente no controle do fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*, em sementes de cebola. Cardoso *et al.* (2020) relataram controle do fungo *Alternaria brassicicola* em sementes de couve tratadas a 55°C por 15 minutos, sem redução na germinação e no vigor das sementes (Tabela 1). Soriano (2016) observou resultados semelhantes no controle da bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* em sementes de couve com termoterapia a 50°C por 20 e 40 minutos. No entanto, em nenhum dos trabalhos foi obtida erradicação total do fitopatógeno nas sementes.

Esses resultados confirmam a eficiência da termoterapia no controle de diferentes espécies de fitopatógenos em sementes, embora nem sempre com erradicação ou sem efeito na qualidade fisiológica das sementes tratadas. As sementes mais velhas ou de má qualidade podem ser mais facilmente prejudicadas pelo tratamento. Portanto, recomenda-se que uma amostra do lote seja tratada e testada para avaliar a germinação e o vigor após o tratamento antes de tratar todo o lote de sementes. Além disso, recomenda-se que o tratamento seja realizado pouco tempo antes da utilização das sementes, tendo em vista que o tratamento térmico pode prejudicar a longevidade do lote de sementes no armazenamento, por exemplo. Quanto maior a temperatura e o tempo de tratamento, maior a probabilidade de erradicar os patógenos nas sementes, mas também de reduzir a germinação e o vigor do lote de sementes tratado.

Tabela 1. Incidência de *Alternaria brassicicola*, germinação, primeira contagem no teste de germinação (PC) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de couve após diferentes tratamentos.

Tratamento	Incidência de <i>A. brassicicola</i> (%)	Germinação (%)	PC (%)	IVG
Controle sem inoculação	0,8 a*	89,2 a	44,4 a	8,25 a
Controle com inoculação	92,0 c	53,2 b	16,8 b	6,61 c
Termoterapia (50°C/60 min)	0,8 a	74,4 a	17,2 b	6,09 bc
Termoterapia (55°C/15 min)	0,8 a	85,6 a	46,8 a	8,30 a
Própolis (1%, sem lavagem)	43,2 b	84,4 a	42,0 a	8,28 a
Própolis (1%, com lavagem)	88,0 c	80,2 a	37,0 a	7,60 ab
CV (%)	23,5	7,2	16,0	7,6

Fonte: Cardoso *et al.* (2020).

Nota: *Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5 ÓLEOS ESSENCIAIS NOS TRATAMENTOS DE SEMENTES

Os óleos essenciais (OE) são usados desde o início da história da humanidade para diversos fins. Suas propriedades benéficas podem ser aplicadas nos campos da ciência, da indústria, da medicina e da agricultura, e, nesse caso, representando uma alternativa potencial aos compostos sintéticos, principalmente pela resistência que vem sendo desenvolvida pelos microrganismos patogênicos (WIŃSKA *et al.*, 2019). As vantagens do uso dos OE para o controle de doenças nas lavouras são muitas, pois são ecologicamente corretas, não são tóxicas para o homem e são biodegradáveis (ARSHAD *et al.*, 2014). Nesse sentido, muitas investigações têm sido projetadas visando explorar a eficácia dos compostos naturais para o tratamento contra fungos e bactérias transmitidos via semente (ORZALI *et al.*, 2020).

No que diz respeito a grandes culturas, resultados positivos foram encontrados no tratamento de sementes de milho, em que a fumigação das sementes com óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*) inibiu a produção de aflatoxina e controlou o crescimento de fungos (NERILO *et al.*, 2020). De forma semelhante, óleos essenciais de vatica (*Vatica diospyroides*) e de cravo-da-índia também podem ser aplicados para prevenir *Aspergillus flavus* durante o armazenamento do milho. A atividade antifúngica demonstrada pelo óleo de vatica e cravo pode ser atribuída à presença de acetato de benzila e eugenol, respectivamente (BOUKAEW; PRASERTSAN; SATTAYASAMITSATHIT, 2017).

Pesquisas indicam que o eugenol é potencialmente útil para a desinfecção de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) contra *Xanthomonas campestris*, entretanto, mais estudos sobre os efeitos na vitalidade das

sementes e na formulação de óleos essenciais são necessários, já que após 72 h, os tratamentos com 2, 4 e 8 mg mL⁻¹ de eugenol causaram redução da germinação de 3%, 7% e 16%, respectivamente. Nenhum efeito sobre a germinação foi observado com o tratamento com emulsão de eugenol a 1 mg mL⁻¹ (CANTORE; SHANMUGAIAH; IACOBELLIS, 2009).

Dados como esses realçam a importância da verificação dos óleos essenciais na qualidade fisiológica das sementes, observando seus efeitos em diferentes famílias e nas mais variadas concentrações. Gomes *et al.* (2016) observaram a máxima redução de *Aspergillus* spp. em sementes de feijão-fava (*Vicia faba*) nas concentrações de 1,24 e 1,22 mL L⁻¹, respectivamente, para os óleos de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) e manjerição (*Ocimum basilicum*); e o óleo de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) apresentou efeito positivo na redução do fitopatógeno na concentração máxima utilizada de 2 mL L⁻¹, entretanto, nesse caso, ocorrendo redução da qualidade fisiológica das sementes. Quanto à incidência de *Cladosporium* sp., os autores verificaram sua máxima redução a partir da concentração de 1,53 mL L⁻¹ para os óleos essenciais de cravo-da-índia e manjerição, e de 1,21 mL L⁻¹ para o óleo de copaíba. Por sua vez, em gramínea, Monteiro *et al.* (2014) constataram que o óleo de mostarda (*Brassica nigra* (L.)) a 1,0% reduziu a população do nematoide *Aphelenchoides besseyi* em sementes de *Urochloa brizantha* 'Marandu' sem prejudicar significativamente a sua germinação, o que não aconteceu para os óleos de verbena (*Verbena officinalis*) e canela (*Cinnamomum verum*).

Os tratamentos alternativos também manifestam grande eficácia no tratamento de sementes hortícolas como o tomate (*Solanum lycopersicum*), em que, diante dos efeitos negativos das bactérias *Clavibacter michiganensis* e *Ralstonia solanacearum* para o cultivo, e da sua possível transmissão por sementes, Orzali *et al.* (2020) verificaram que os óleos essenciais de alho, de manjerição, de orégano (*Origanum vulgare*) e de tomilho (*Thymus vulgaris*) não afetaram a germinação de sementes, podendo ser considerados não fitotóxicos até a concentração de 0,4%. O único caso de fitotoxicidade foi encontrado com o óleo de cravo-da-índia na concentração máxima testada (0,4%). O óleo de canela também afetou negativamente a germinação das sementes em 0,4%, mas tal redução foi tão exígua que pode ser considerada insignificante.

Analisando de forma mais completa os óleos essenciais de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), tomilho e cravo-da-índia no tratamento de sementes de ervilha contra a ferrugem de ascochyta, Riccioni *et al.* (2019) testaram métodos diferentes de aplicação. Os óleos foram aplicados nas sementes infectadas através de submersão ou tratamento por spray, esse último adicionando pinoleno, que é um politerpeno extraído de planta, como um revestimento de filme natural. Os resultados laboratoriais indicaram atividade significativa dos óleos na redução da infecção fúngica nas sementes, sendo que o tratamento de submersão mostrou eficácia mais consistente do que a aplicação por pulverização. O tratamento por pulverização, por sua vez,

apresentou melhores resultados em testes de campo em termos de plantas estabelecidas em comparação com o tratamento por submersão, já que esse pode ter causado danos no revestimento da semente por embebição excessiva. Nessa pesquisa, o pinoleno foi uma adição viável para aumentar a eficácia da aplicação de óleo em tratamentos de pulverização (RICCIONI *et al.*, 2019).

Logo, é possível validar o uso dos óleos essenciais no tratamento das sementes como uma forma viável de controle contra patógenos, sabendo que as divergências entre os resultados se devem principalmente a diferenças na composição dos óleos essenciais estudados. Dessa forma, ressalta-se a relevância da caracterização fitoquímica dos óleos essenciais e a identificação dos compostos responsáveis por sua ação benéfica, a fim da correta interpretação das respostas obtidas (MORAIS, 2009; SHOKOUHIAN; HABIBI; AGAHI, 2016).

6 EXTRATOS DE PLANTAS MEDICINAIS NO TRATAMENTO DE SEMENTES

As plantas medicinais têm sido utilizadas desde os primórdios da civilização pelo ser humano na prevenção e/ou na cura de doenças, sendo o hábito culturalmente difundido de geração para geração (FEIJÓ *et al.*, 2012). Os compostos advindos das plantas medicinais capazes de inibir o crescimento de patógenos ou exterminá-los, além de apresentar toxicidade mínima para as células hospedeiras, são considerados candidatos para o desenvolvimento de novos antimicrobianos (ASKARI *et al.*, 2012).

A utilização de produtos agroquímicos convencionais no controle de doenças de plantas acarretam alguns problemas frequentes associados a falhas no controle, devido à aquisição de resistência por parte dos fitopatógenos, contaminação ambiental, entre outros (HILLEN *et al.*, 2012). E no sistema orgânico de produção, é proibido o uso de fungicidas para o tratamento de sementes, sendo necessário o conhecimento de outros métodos ou técnicas de controle.

Por conta dessas preocupações, pesquisadores e produtores buscam novos caminhos para o controle de doenças nas mais diferentes culturas (VENZON; PAULA JÚNIOR, PALLINI, 2006). Sabendo-se que óleos essenciais, extratos brutos e tinturas provenientes das plantas medicinais apresentam compostos que podem ser antifúngicos ou antibactericidas (MATOS, 1997), esses estão sendo amplamente estudados e testados no controle *in vitro* e *in vivo* em fitopatógenos e utilizados no tratamento de sementes (MÉDICE *et al.*, 2007).

Sabe-se que uma semente contendo patógenos, independentemente se é transmissível ou não, pode afetar o vigor, além de prejudicar também o rendimento das culturas no campo (LUZ, 2003).

A presença de vários princípios ativos presentes nos extratos vegetais resultantes das vias metabólicas vegetais, bem como de alguns metabólitos secundários com funções complementares na defesa contra pragas, permitem diminuir a resistência exercida pelos organismos patogênicos a alguns fármacos.

Dessa forma, nos últimos anos, pesquisas com a utilização de extratos de plantas que possuem esses produtos com atividade de inibição ou erradicação dos fungos tem aumentado, pois constituem uma importante alternativa para os produtores orgânicos, visto que eles não podem utilizar agroquímicos em seu cultivo.

O nim (*Azadirachta indica*) é um exemplo de planta que possui compostos que podem ter efeito antifúngico, devido à azadiractina, seu principal componente, além de terpenos e flavonoides (CASTRO *et al.*, 2004). Em eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hook (Myrtaceae)), já foram relatadas a presença de polifenóis, flavonoides, terpenos como o citronelal, g-terpineol, além do óleo essencial dessa planta possuir elevado teor de eucaliptol (MEKONNEN *et al.*, 2016). Outra planta com elevados ativos como flavonoides, compostos fenólicos e polifenóis, terpenoides e alcaloides contendo compostos de nitrogênio e de sulfureto é a marcela (*Achyrocline satureioides* Lam. DC. (Asteraceae)) (RODRIGUEZ-MATEOS *et al.*, 2014), enquanto a losna (*Artemisia absinthium* L.(Asteraceae)) possui mirceno, cânfora, mirtenol, linalol e outros compostos secundários (BAILEN *et al.*, 2013).

A atividade direta de extratos vegetais contra fungos patogênicos tem sido demonstrada para *Sclerotinia sclerotiorum* (GARCIA *et al.*, 2012); *Rhizopus* sp. (SALEM; YOUSSEF; SANZANI, 2016); *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp., *Botrytis* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp., *Penicillium* sp. e *Pythium* sp. (RAMIREZ-MARES; HERNANDEZ-CARLOS, 2015; LUVHENGU *et al.*, 2018), entre outros.

Baseggio *et al.* (2019) constataram que extratos vegetais aquosos de eucalipto e marcela, na concentração 20%, são eficientes no controle dos patógenos *Alternaria* sp. e *Cladosporium* sp. em sementes de trigo (*Triticum aestivum*) 'Mirante'.

Com isso, extratos vegetais podem ser uma alternativa para os produtores orgânicos, porém, são necessárias mais pesquisas que comprovem a eficiência na sanidade das sementes, além do desenvolvimento das plântulas a campo.

7 PRÓPOLIS NO TRATAMENTO DE SEMENTES

O própolis é uma substância extraída das plantas pelas abelhas e pode ser utilizada como proteção contra predadores, parasitas, e para a assepsia da colmeia (GALVÃO *et al.*, 2007), pois tem uma rica composição química, possuindo mais de 200 compostos e, por isso, apresenta diversas propriedades benéficas como antibacteriana e antifúngica, além de inúmeras

outras atividades biológicas (VIEIRA *et al.*, 2010).

Por conta das diversas propriedades e por ser um produto de origem vegetal, o própolis é apontado como uma alternativa ecológica para utilização no controle fitossanitário, isso porque a utilização de agroquímicos convencionais ainda é muito elevada na agricultura e, além de ter alto custo, causam prejuízos ao meio ambiente (CESCHINI, 2011).

Em sua composição, são encontrados resinas e bálsamos aromáticos, ceras, óleos essenciais, grãos de pólen, minerais, vitaminas, além de compostos fenólicos, em sua grande maioria, o flavonoide. Os compostos presentes no própolis vêm sendo estudados e provados como principal responsável pela ação antibiótica do produto (HAVSTEEN, 1983; MARCUCCI, 1996; MENEZES, 2005).

Os estudos relacionados à sua ação antibiótica vêm mostrando resultados principalmente nas áreas agrícola, médica e veterinária, já que, nesses estudos, o própolis tem se mostrado eficiente no combate de diversos gêneros de bactérias e fungos. Essa resposta positiva à atividade antimicrobiana pode estar relacionada ao alto teor de flavonoide presente no própolis (RUFINO, 2015).

Apesar de apresentar diversas vantagens, a utilização de altas concentrações de extrato de própolis pode causar efeitos contrários na semente, como já apresentado por Weis *et al.* (2010), visto em sementes de soja que não apresentaram respostas positivas quanto à aplicação do própolis a 40 e 60%. Outro fator para esse resultado pode ser o pouco tempo de exposição da semente ao própolis. Já em trabalho realizado por Galvão *et al.* (2007), o própolis se mostrou parcialmente eficiente no tratamento de sementes de feijão, em que o controle só aconteceu para alguns grupos de bactérias e fungos. Com resultados promissores, estudos realizados por Pereira, Matte e Venâncio (2016) mostraram a redução da ferrugem do café em concentrações de 20% do extrato de própolis, tendo redução na incidência do fungo em quase 50%.

Em sementes de feijão, em trabalho realizado por Vieira *et al.* (2010), os fungos *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Coletotrichum* spp. e bactérias tiveram redução no crescimento ao serem expostos ao extrato de própolis, além de não ter interferido no desenvolvimento fisiológico das sementes.

A utilização de extrato de própolis no controle de *Penicillium* spp. em sementes de couve-flor, em estudo realizado por Souza *et al.* (2017a) mostrou que quanto maior a concentração de própolis, menor o crescimento micelial, sendo a concentração de 20% a que apresentou melhor resposta. Em trabalho também realizado por Souza *et al.* (2017b), mas em sementes de pepino, o extrato de própolis mostrou eficiência na inibição de proliferação do fungo *Aspergillus* sp em concentração de 25%, além de não afetar a qualidade

fisiológica da semente. Já a utilização do extrato alcoólico de própolis por 96 minutos em frutos de manga, estudo realizado por Machado, Vieira e Machado (2015), não apresentou resultados positivos quanto ao controle no crescimento de fungos.

Com relação aos efeitos do extrato de própolis *in vitro*, esse apresentou resultados positivos na inibição de *Colletotrichum gloeosporioides* em goiabeira (MACHADO *et al.*, 2016). Em resultados *in vivo* apresentados por Pereira *et al.* (2008), aplicando concentrações de extrato de própolis em mudas e plantas adultas de café, ambas tiveram diminuição na incidência de cercosporiose com o aumento da concentração.

Alguns desses trabalhos podem ter apresentado diferentes resultados devido à variação na composição comercial de cada produto utilizado, uma vez que o efeito do própolis depende de diversos fatores como a vegetação da região, a época de coleta, a técnica utilizada, além do fator mais importante que é a espécie de abelha que produziu o própolis, pois esse fator define as propriedades físicas, químicas e biológicas (PEREIRA *et al.*, 2002).

Apesar dos resultados ainda contraditórios, torna-se possível a utilização do própolis em concentrações ideais como uma forma de tratamento alternativo em sementes no controle de patógenos, já que esses apresentam, em sua grande maioria, resultados positivos na substituição de produtos sintéticos, tendo em vista a importância de se conhecer todo o processo de obtenção do própolis para que a sua composição química apresente eficiência no controle de fitopatógenos, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos (LYON; REGLINSKI; NEWTON, 1995). Além disso, a utilização de produtos de origem vegetal auxilia na preservação do meio ambiente, causando menor impacto no meio ambiente e na saúde da população.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme apresentado, notam-se as amplas possibilidades para o surgimento de técnicas e produtos alternativos que podem ser promissores e patenteados para o tratamento de sementes para o sistema orgânico de produção, garantindo sustentabilidade ao meio ambiente, ao trabalhador rural e ao consumidor final.

REFERÊNCIAS

AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento, 2021. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 9 mar. 2021.

ARSHAD, Z.; HANIF, M. A.; QADRI, R. W. K.; KHAN, M. Role of essential oils in plant diseases protection: a review. **International Journal of Chemical and Biological Sciences**, Dschang, v. 6, p. 11-17, 2014.

- ASKARI, G. A.; KAHOUADJI, A.; KHEDID, K.; MOUSADDAK, M.; OUAFFAK, L.; CHAROF, R.; MENNANE, Z. Evaluation of antimicrobial activity of aqueous and ethanolic extracts of leaves of *Vitis vinifera* collected from different regions in Morocco. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**. v. 12, n. 1, p. 85-90, 2012.
- BAILLEN, M.; JULIO, L. F.; DIAZ, C. E.; SANZ, J.; MARTÍNEZ-DÍAZ, R. A.; CABRERA, R.; BURILLO, J.; GONZALEZ-COLOMA, A. Chemical composition and biological effects of essential oils from *Artemisia absinthium* L. cultivated under different environmental conditions. **Industrial crops and products**, [s. l.], v. 49, p. 102-107, 2013.
- BASEGGIO, E. R.; REIK, G. G.; PIOVESAN, B.; MILANESI, P. M. Atividade antifúngica de extratos vegetais no controle de patógenos e tratamento de sementes de trigo. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 21, n. 1, p. 22-33, 2019.
- BOUKAEW, S.; PRASERTSAN, P.; SATTAYASAMITSATHIT, S. Evaluation of antifungal activity of essential oils against aflatoxigenic *Aspergillus flavus* and their allelopathic activity from fumigation to protect maize seeds during storage. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 97, p. 558-566, 2017.
- BRAGA, M. P.; OLINDA, R. A.; HOMMA, S. R.; DIAS, C. T. S. Relationships between thermal treatment, germination, vigor and health of tomato seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 101-110, 2010.
- CANTORE, P. L.; SHANMUGAIAH, V.; IACOBELLIS, N. S. Antibacterial activity of essential oil components and their potential use in seed disinfection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 57, n. 20, p. 9454-9461, 2009.
- CARDOSO, A. I. I.; LANNA, N. B. L.; SILVA, P. N. L.; NAKADA-FREITAS, P. G.; SANTOS, P. L.; PIEROZZI, C. G.; KRONKA, A. Z. Germination, vigor and pathogen incidence in broccoli seed treated with Carboxin + Thiram. **African Journal of Agricultural Research**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 1-5, 2015.
- CARDOSO, A. I. I.; PIACENTI, L. Z.; LINO, P. R.; PADOVAN, I. M.; KRONKA, A. Z. Control of *Alternaria brassicicola* in kale seeds with thermotherapy and propolis and effect on the physiological quality of the seeds. **Horticultura Brasileira**, Recife, v. 38, n. 4, p. 363-369, 2020.
- CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2004.
- CESCHINI, V. C. **Potencial antifúngico de extratos de folhas de *Eucalyptus staigeriana* F. Muell. sobre *Aspergillus flavus***. 2011. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.
- FEIJÓ, A. M.; BUENO, M. E. N.; CEOLIN, T.; LINCK, C. L.; SCHWARTZ, E.; LANGE, C.; MEINCKE, S. M. K.; HECK, R. M.; BARBIEIR, R. L.; HEIDEN, G. Plantas medicinais utilizadas por idosos com diagnóstico de Diabetes mellitus no tratamento dos sintomas da doença. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 14, n. 1, p. 50-56, 2012.
- GALVÃO, J.; ABREU, J. A.; CRUZ, T.; MACHADO, G. A. S.; NIRALDO, P.; DAUGSCH, A.; MORAES, C. S.; FORT, P.; PARK, Y. K. Biological therapy using propolis as nutritional

supplement in cancer treatment. **International Journal of Cancer Research**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 43-53, 2007.

GAMA, J. S. N.; ARAUJO NETO, A. C.; BRUNO, R. L. A.; PEREIRA JUNIOR, L. R.; MEDEIROS, J. G. F. Thermotherapy in treating fennel seeds (*Foeniculum vulgare* Mill.): effects on health and physiological quality. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, p. 842-849, 2014.

GARCIA, R. A.; JULIATTI, F. C.; BARBOSA, K. A. G.; CASSEMIRO, T. A. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 1, p. 48-57, 2012.

GOMES, R. S. S.; NUNES, M. C.; NASCIMENTO, L. C.; SOUZA, J. O.; PORCINO, M. M. Eficiência de óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica em sementes de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 279-287, 2016.

GRONDEAU, C.; SAMSON, R. A review of thermotherapy to free plant materials from pathogens, especially seeds from bacteria. **Critical Reviews in Plant Sciences**, [s. l.], v. 13, p. 57-75, 1994.

HAVSTEN, B. Flavonoids, A class of natural products of high pharmacological potency. **Biological Pharmaceutical**, Grã-Bretanha, v. 32, n. 7, p. 1141-1148, 1983.

HILLEN, T.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; MESQUINI, R. M.; CRUZ, M. E. S.; STANGARLIN, J. R.; NOZAKI, M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos in vitro e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 439-445, 2012.

KUBOTA, M.; HAGIWARA, N.; SHIRAKAWA, T. Disinfection of seeds of cucurbit crops infested with *Acidovorax citrulli* with dry heat treatment. **Journal of Phytopathology**, Alemanha, v. 160, n. 7-8, p. 364-368, 2012.

LAZAROTTO, M.; MUNIZ, M. F. B.; BELTRAME, R.; SANTOS, A. F.; MEZZOMO, R.; PIVETA, G.; BLUME, E. Qualidade fisiológica e tratamentos de sementes de *Cedrela fissilis* procedentes do sul do Brasil. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 37, n. 2, p. 201-210, 2013.

LUVHENG, M.; AMOO, S. O.; ADELEKE, R. A.; BEZUIDENHOUT, C. Antifungal activity of selected medicinal plant extracts against two *Fusarium* species. **South African Journal of Botany**, Makhanda, v. 115, p. 293, 2018.

LUZ, W. C. Combinação de tratamentos biológico e químico de sementes de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 37-40, 2003.

LYON, G. D.; REGLINSKI, T.; NEWTON, A. C. Novel disease control compounds: the potential to "immunize" plants against infection. **Plant Pathology**, Bangor, v. 44, p. 407-427, 1995.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes**: fundamentos e aplicações. Brasília: MEC-ESAL-FAEPE, 1988.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000.

MACHADO, P. P.; VIEIRA, G. H. C.; MACHADO, R. A. Uso da própolis e óleo de nim

no controle dos fungos *Lasiodiplodia theobromae* e *Colletotrichum gloeosporioides*: principais patógenos que acometem os frutos da manga. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 2, n. 4, p. 31-37, 2015.

MACHADO, J. J.; LOURENÇO, Y. S.; GIACOMINI, G. X.; LIMA, D. L.; WOLFF, L. F.; NACHTIGAL, G. F. **Efeito Inibitório de extrato de própolis sobre *Colletotrichum gloeosporioides***. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E PÓS GRADUAÇÃO DA EMBRAPA CLIMA TEMPERADO, 6., Pelotas, 2016. **Anais [...]**. Pelotas: Embrapa, 2016. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/158819/1/Glaucia-ANAIS-CIC-EMBRAPA-2016.pdf>. Acesso em: 17 fev. 2021.

MARCUCCI, M. D. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, São Paulo, v. 19, n. 5, p. 529-535, 1996.

MATOS, F. J. A. **As plantas da farmácia viva**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceara, 1997.

MÉDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T.; MAGNO JUNIOR, R. G.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.

MEKONNEN, A.; YITAYEW, B.; TESEMA, A.; TADDESE, S. *In vitro* antimicrobial activity of essential oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. **International Journal of Microbiology**, [s. l.], v. 2016, p. 1-8, 2016.

MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 405-441, 2005.

MONTEIRO, T. S. A.; NASU, E. G. C.; GUIMARÃES, C. P.; NEVES, W. S.; MIZOBUTSI, E. H.; FREITAS, L. G. Redução de inóculo de *Aphelenchoides besseyi* em sementes de *Brachiaria brizantha* tratadas com óleos essenciais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 7, p. 1149-1154, 2014.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, Recife, v. 27, n. 2, p. 4050-4063, 2009.

MUNIZ, M. F. B.; GONÇALVES, N.; GARCIA, D. C. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de melão (*Cucumis melo*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 951-953, 2004.

NERILO, S. B.; ROMOLI, J. C. Z.; NAKASUGI, L. P.; ZAMPIERI, N. S.; MOSSINI, S. A. G.; ROCHA, G. H. O.; GLORIA, E. M.; ABREU FILHO, B. A.; MACHINSKI JUNIOR, M. Antifungal activity and inhibition of aflatoxins production by *Zingiber officinale* Roscoe essential oil against *Aspergillus flavus* in stored maize grains. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 50, n. 6, p.1-10, 2020.

OLIVEIRA, M. D.; NASCIMENTO, L. C.; ALVES, E. U.; GOLÇALVES, E. P.; GUEDES, R. S.; SILVA NETO, J. J. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de *Amburana cearensis* A.C. Smith submetidas à termoterapia e tratamento químico. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 33, n. 1, p. 45-50, 2011.

ORZALI, L.; VALENTE, M. T.; SCALA, V.; LORETI, S.; PUCCI, N. Antibacterial activity of essential oils and *Trametes versicolor* extract against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and *Ralstonia solanacearum* for seed treatment and

development of a rapid in vivo assay. **Antibiotics**, Basel, v. 9, n. 9, p. 1-15, 2020.

PARISI, J. J. D.; MEDINA, P. F. **Tratamento de dementes**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2013. p. 1-7.

PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; AQUINO NETO, F. R. Própolis: 100 anos de pesquisas e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002.

PEREIRA, R. S.; MUNIZ, M. F. B.; NASCIMENTO, W. M. Aspectos relacionados à qualidade de sementes de coentro. **Horticultura Brasileira**, Recife, v. 23, n. 3, p. 703-706, 2005.

PEREIRA, S. C.; GUIMARÃES, R. J.; POZZA, A.; SILVA, E. A. Controle da cercosporiose e da ferrugem do cafeeiro com extrato etanólico de própolis. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 55, n. 5, p. 369-376, 2008.

PEREIRA, C. S.; MATTE, W.D.; VENÂNCIO, P. H. B. Aplicação de extrato de própolis na agricultura. **Revista de Ciências Agroambientais**, Alta Floresta, v. 14, n. 1, p. 143-156, 2016.

PESKE, S. T.; BARROS, A. C. S. A. Produção de Sementes *In*: PESKE, S. T.; LUCCA FILHO, O. A.; BARROS, A. C. S. A. (ed.) **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 2. ed. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2006. p. 15-98.

RAMIREZ-MARES, M. V.; HERNANDEZ-CARLOS, B. Plant-derived natural products from the American continent for the control of phytopathogenic fungi: a review. **Journal of Global Innovation in Agricultural and Social Sciences**, Faisalabad, v. 3, n. 4, p. 96-118, 2015.

RICCIONI, L.; ORZALI, L.; ROMANI, M.; ANNICCHIARICO, P.; PECETTI, L. Organic seed treatments with essential oils to control ascochyta blight in pea. **European Journal of Plant Pathology**, [s. l.], v. 155, n. 3, p. 831-840, 2019.

RODRIGUEZ-MATEOS, A.; VAUZOUR, D.; KRUEGER, C. G.; SHANMUGANAYAGAM, D.; REED, J.; CALANI, L.; MENA, P.; DEL RIO, D.; CROZIER, A. Bioavailability, bioactivity and impact on health of dietary flavonoids and related compounds: an update. **Archives of Toxicology**, [s. l.], v. 88, n. 10, p. 1803-1853, 2014.

RUFINO, C. A. **Uso de quitosana, própolis e nanopata no tratamento de sementes de arroz**. 2015. 45 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

SALATINO, A.; TEIXEIRA, E. W.; NEGRI, G.; MESSAGE, D. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 33-38, 2005.

SALEM, E. A.; YOUSSEF, K.; SANZANI, S. M. Evaluation of alternative means to control postharvest Rhizopus rot of peaches. **Scientia horticultrae**, [s. l.], v. 198, p. 86-90, 2016.

SANTOS, R.; SANTOS, R.; MARISCO, G. Avaliação da atividade genotóxica, citotóxica e antimicrobiana da infusão das folhas de *Spondias purpurea* L. **Scientia Plena**, [s. l.], v. 13, n. 3, p. 1-9, 2017.

SCHNEIDER, C. F.; GUSATTO, F. C.; MALAVASI, M. M.; STANGARLIN, J. R.; MALAVASI, U. C. Termoterapia na qualidade fisiológica e sanitária de sementes armazenadas

de pinhão-manso. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 1, p. 47-56, 2015.

SHI, Y.; MENG, S.; XIE, X.; CHAI, A.; LI, B. Dry heat treatments reduces the occurrence of *Cladosporium cucumerinum*, *Ascochyta citrullina*, and *Colletotrichum orbiculare* on the surface and interior of cucumber seeds. **Horticultural Plant Journal**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 35-40, 2016.

SHOKOUHIAN, A.; HABIBI, H.; AGAHI, K. Allelopathic effects of some medicinal plant essential oils on plant seeds germination. **Journal of BioScience and Biotechnology**, v. 5, n. 1, p.13-17, 2016.

SILVA, P. P.; FREITAS, R. A.; NASCIMENTO, W. M. Recovery of onion seeds treated by thermotherapy and submitted to osmoconditioning. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SEED, TRANSPLANT AND STAND ESTABLISHMENT OF HORTICULTURAL CROPS, 7., [s. l.], 2016. **Anais [...]**. [S.l.]: ISHS Acta Horticulturae, v. 1204, 2018. p. 133-138.

SORIANO, F. **Avaliação da termoterapia no controle de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* em sementes orgânicas de couve 'Manteiga'**. 2016. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.

SOUZA, E. P.; PERINO, F. H. B.; MOSCATO, B. S.; FREITAS, P. G. N.; BLUMER, S.; CARDOSO, A. I. I.; BONINI, C. S. B.; BONINI NETO, A. Extrato de própolis no controle do *Penicillium* sp. e na qualidade de sementes de couve-flor. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, Tupã, v. 11, n. 2, p. 135- 141, 2017a.

SOUZA, E. P.; MOSCATO, B. S.; PERINO, F. H. B.; NAKADA-FREITAS, P. G.; BLUMER, S.; CARDOSO, A. I. I.; BONINI, C. S. B. Doses de extrato de própolis no controle do fungo *Aspergillus* sp. e no tratamento de sementes de pepino. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, Tupã, v. 11, n. 4, p. 360-364, 2017b.

SPADARO, D.; HERFORTH-RAHMÉ, J.; WOLF, J. Organic seed treatments of vegetables to prevent seedborne diseases. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ORGANIC GREENHOUSE HORTICULTURE, 3., Izmir, 2016. **Proceedings [...]**. [S. l.]: ISHS Acta Horticulturae, v. 1164, 2017. p. 23-31.

VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG, 2006.

VIEIRA, G. H. C.; DARDANI, P.; ANDRADE, W. P.; BARBOSA, C. A.F. Efeitos do extrato de própolis sobre a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de feijão. In: SEMINÁRIO DE AGROECOLOGIA DE MATO GROSSO DO SUL, 3., Corumbá, 2010. **Resumos [...]**. [S. l.]: Cadernos de Agroecologia, v. 5, n. 1, 2010. p. 1-4. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/cad/article/view/10170/6843>. Acesso em: 27 fev. 2021.

WEIS, L. H.; MUELLER, C.; VOGT, S.; MULLER, T.; BALBINOT, M.; BASSANI, M. T. Avaliação da eficácia da própolis no tratamento de sementes de soja contaminadas por *Aspergillus* e *Penicillium* spp. In: AGROTEC: SIMPÓSIO DE AGRONOMIA E TECNOLOGIA EM ALIMENTOS, 5., Itapiranga, 2018. **Anais [...]**. Itapiranga: Agrotec, 2018. p. 1-4. Disponível em: https://eventos.uceff.edu.br/eventosfai_dados/artigos/agrotec2018/933.pdf. Acesso em: 02 fev. 2021.

WIŃSKA, K.; MAĆZKA, W.; ŁYCZKO, J.; GRABARCZYK, M.; CZUBASZEK, A.; SZUMNY, A. Essential oils as antimicrobial agents: myth or real alternative? **Molecules**, [s. l.], v. 24, n. 11, p. 1-21, 2019.

CAPÍTULO 4

MANEJO QUÍMICO DE PLANTAS DANINHAS EM PASTAGEM

Leandro Tropaldi

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Ivana Paula Ferraz Santos de Brito

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas,
Botucatu, São Paulo, Brasil.

Ana Karollyna Alves de Matos

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas,
Botucatu, São Paulo, Brasil.

Resumo

No Brasil, as áreas ocupadas com pastagem são a maior ocupação de uso da agricultura. Como acontece com qualquer sistema de produção agrícola, as plantas daninhas são uma ameaça à produção eficiente e sustentável de pastagens no país. Portanto, o uso de ferramentas para o manejo químico das plantas daninhas é uma das estratégias disponíveis. Por isso, esse capítulo tem por objetivo discutir os principais aspectos relacionados ao manejo químico das plantas daninhas, destacando a problemática e o uso dos principais herbicidas em áreas de pastagem.

1 INTRODUÇÃO

Há muito tempo o agronegócio desempenha um papel fundamental no cenário econômico do Brasil, abastecendo o mercado interno e, especialmente, o mercado externo com seus produtos e, ainda, fornece matérias-primas para as agroindústrias e gera diversos postos de trabalho. O setor acumulou, entre 2011 e 2020, uma participação de 24,5% no Produto Interno Bruto (PIB) (CONFEDERAÇÃO NACIONAL DE AGRICULTURA - CNA, 2021a), sendo que a atividade agropecuária representa 8% do PIB. A produção de carne sozinha representou 17,8% do valor bruto da produção da agropecuária em 2020, atingindo 987,12 bilhões de reais (CNA, 2021b). Além disso, o país é o maior exportador e possui o maior rebanho comercial do mundo com aproximadamente 214,9 milhões de cabeças de bovinos criados em atividades com diferentes níveis de tecnologia, distribuídos em vasta extensão territorial (CNA, 2021a).

A maior parte do rebanho bovino brasileiro é criado exclusivamente a pasto, que é a forma mais prática e econômica de fornecimento de alimento para os animais, conferindo grande vantagem competitiva aos produtos agropecuários oferecidos com baixo custo e boa qualidade em relação aos sistemas de produção em confinamento. As pastagens ocupam aproximadamente 20% no território nacional e 70% da área agrícola, dispendo de 180,3 milhões de hectares que se subdividem em 68,02 milhões de hectares com pastagens nativas e cerca de 112,24 milhões de hectares com pastagens plantas (EMBRAPA, 2018). Apesar da grande ocupação territorial, uma parcela significativa dessas pastagens apresenta algum nível de degradação ou precisa de recuperação, o que impacta na disponibilidade e na qualidade do alimento ofertado aos animais.

A sustentabilidade da pecuária brasileira está diretamente relacionada à manutenção das pastagens em boas condições, uma vez que mantém 90% de todo o rebanho brasileiro. Dentre os fatores bióticos, a interferência causada pelas plantas daninhas se destaca como um dos componentes do agroecossistema da pecuária que mais influenciam, diretamente ou indiretamente, o desenvolvimento, a qualidade, a capacidade de suporte e recuperação do pasto, além disso, aceleram o processo de degradação, em geral devido ao manejo inadequado.

As plantas daninhas têm alta capacidade de adaptação e disseminação nos diferentes sistemas de produção, o que favorece a sua instalação tanto em pastagens bem formadas, quanto em áreas com pastagem mal-formada ou manejadas inadequadamente, porém, nessas condições, o nível de infestação, em geral, é maior e exige maior cuidado na elaboração de programas de controle. As invasoras interferem no estabelecimento da forrageira por meio da competição por água, luz e nutrientes, liberação de compostos alelopáticos, além disso, algumas espécies acumulam compostos químicos com ação tóxica nos animais, enquanto outras possuem estruturas

(espinhos e acúleos) que dificultam o acesso à forrageira e provocam ferimentos (GHANIZADEH; HARRINGTON, 2019).

Para alcançar a eficiência desejada no controle de plantas daninhas devem ser considerados todos os requisitos do manejo integrado, a começar por um bom planejamento, levando em consideração o histórico de infestação da área. Nesse sistema ocorre a integração dos vários métodos de controle disponíveis, de modo a reduzir a dependência de apenas um deles, com o objetivo de manter as populações alvo abaixo do nível de dano econômico, o que, para as plantas daninhas, está associado à quantidade de biomassa acumulada por unidade de área e não ao número de indivíduos.

Outro fator que não pode ser negligenciado é que o principal método de controle é sempre a própria cultura, e, dessa forma, todas as medidas que favoreçam o crescimento e o desenvolvimento, como a escolha adequada do material genético em função das características edafo-climáticas do local de plantio, a qualidade das sementes, o preparo do solo, a disponibilidade hídrica, a adubação, o controle de pragas, entre outros, irão favorecer também o controle das plantas daninhas, permitindo uma cobertura rápida e efetiva do solo pela forrageira, reduzindo drasticamente a ocorrência de quase todas as espécies invasoras.

O controle químico com a utilização de herbicidas é uma ferramenta importante no manejo de plantas daninhas em pastagens, porém, não deve ser visto como um procedimento isolado ou substituto aos demais. Fatores como as extensas áreas de produção, a praticidade e o alto rendimento na aplicação, a baixa necessidade de mão-de-obra, a eficácia elevada, a uniformidade e o efeito residual fazem do uso de herbicidas um dos principais métodos de controle. A eficiência na supressão das plantas daninhas obtida com o uso de herbicidas auxilia na manutenção de alta produtividade de forrageira de qualidade, na sanidade e longevidade dos pastos, sendo essencial para a produção agropecuária, garantindo as futuras demandas da sociedade (WESTWOOD *et al.*, 2018).

2 PRINCIPAIS PLANTAS DANINHAS

A ocorrência e a frequência das plantas daninhas em pastagens podem ser bastante variáveis, sendo muitas vezes específicas de cada região e/ou do próprio manejo adotado na propriedade. No território brasileiro estão presentes cinco biomas diferentes, o que contribui com parte da diversidade de espécies daninhas de pastagem, ou seja, aquelas que ocorrem interferindo nas atividades do homem, uma vez que podem ser espécies nativas ou então, naturalizadas. A Tabela 1 apresenta uma relação com algumas das espécies mais comuns em pastagens brasileiras, de modo geral, são constituídas por plantas arbustivas e arbóreas, mas algumas gramíneas não desejadas também podem necessitar um manejo adequado por apresentarem características

semelhantes às espécies usadas como forrageiras.

A identificação das espécies daninhas presentes nas áreas com pastagem é o primeiro passo para a elaboração de estratégias de manejo, do mesmo modo, também é essencial o conhecimento de características dessas plantas, tais como, o ciclo de vida, a forma de reprodução, a dispersão de sementes ou propágulos.

Vale destacar que, muitas dessas espécies são consideradas plantas pioneiras e, portanto, reúnem uma série de características que as possibilitam colonizar áreas que sofreram interferência, ou seja, fazem parte do processo natural de sucessão secundária da vegetação. Portanto, as intervenções antrópicas, como as práticas de manejo que visam o controle de plantas daninhas e a manutenção exclusiva das espécies de interesse direto na alimentação animal tem o objetivo de desacelerar o processo natural de sucessão. Desse modo, vale destacar que a ocorrência de plantas daninhas em pastagem é considerada como uma consequência da degradação das pastagens e não a causa (DIAS-FILHO, 2015). Além disso, a pressão competitiva exercida pelas plantas daninhas provoca uma diminuição gradativa da capacidade de suporte da pastagem (DIAS-FILHO, 2015).

Tabela 1. Principais plantas daninhas em pastagens brasileiras. (continua)

Nome popular	Nome científico
Acácia-de-espinho, arranha-gato, unha-de-gato	<i>Acacia plumose</i> Lowe
Angiquinho, topete-de-cardeal	<i>Calliandra parviflora</i> Benth
Angiquinho, aromita	<i>Acacia farnesiana</i> Willd
Aroeira	<i>Myrarodruon urundeuva</i> Fr. All.
Assa-peixe	<i>Vernonia polyanthes</i> Less.
Assa-peixe-roxo	<i>Vernonia westiniana</i> Less.
Babaçu	<i>Attalea speciose</i> Mart ex Spreng
Barbatimão	<i>Stryphnodendron</i> spp.
Botão-de-ouro, fazendeiro	<i>Galinsoga quadriradiata</i> Ruiz & Pav.
Buva	<i>Conyza</i> spp.
Cansação, urtiga	<i>Cnidoscolus urens</i> (L.) Arthur
Capim-amargoso	<i>Digitaria insularis</i> (L.) Mez ex Ekman
Capim-navalha	<i>Paspalum scrobiculatum</i> L.
Casadinha	<i>Eupatorium squalidum</i> DC
Cheirosa	<i>Hyptis suaveolens</i> (L.) Poit
Chumbinho, camará, cambará	<i>Lantana</i> spp.
Cipó-cambira	<i>Pyrostegia dichotoma</i> Miers
Cipó-de-são-joão	<i>Pyrostegia venusta</i> (Ker) Miers
Cipó-preto, cipó vermelho	<i>Tetrapteryx multiglandulosa</i> e <i>Tetrapteryx acutifolia</i>

Nome popular	Nome científico
Ciganinha-das-pastagem	<i>Adenocalymma peregrinum</i> (Miers) L.G.Lohmann
Coerana-pimenteira, dama-da-noite, baúna	<i>Cestrum laevigatum</i> Schlecht
Erva-de-rato, erva-café, roxa, roxinha	<i>Palicourea marcgravii</i> A. St. Hill
Esporão-de-galo	<i>Celtis pubescens</i> HBK
Falsa-ciganinha	<i>Riedeliella graciliflora</i> Harms
Falso-cipó-prata	<i>Trigonía nivea</i> Cambess
Gervão-branco	<i>Croton glandulosus</i> L.
Guanxuma, vassoura, malva	<i>Sida</i> spp.
Malva, malvisco, guanxuma	<i>Sidastrum micranthum</i> (A. St. Hill)
Mata-pasto, cambará	<i>Eupatorium maximilianii</i> Schrad.
Mamona	<i>Ricinus communis</i> L.
Timbó, corona, cipó-prata	<i>Mascagnia pubiflora</i> (A. Juss.) Griseb.
Tingui, salsa-rosa, péla-bucho	<i>Amorimia rigida</i> (A.Juss.) WRAnderson
Rabo-de-tatu	<i>Mascagnia divaricata</i> (Kunth) Nied.
Unha-de-gato, sensitiva, dormideira, malícia	<i>Mimosa invisa</i> Mart e <i>Mimosa pigra</i> L.
Vassourinha, malvastro	<i>Malvastrum coromandelianum</i> (L.) Garcke

Fonte: adaptado de Oliveira e Wendling (2013) e Pott, Pott e Souza (2006).

3 PRINCIPAIS HERBICIDAS PARA USO EM PASTAGEM

O controle químico de plantas daninhas em pastagem ganhou bastante expressão nas últimas décadas devido à menor disponibilidade de mão de obra associada à necessidade de minimizar os efeitos indesejados da interferência das plantas daninhas. Para tanto, é imprescindível que o herbicida seja seletivo à forrageira, permitindo o desenvolvimento fenológico normal, sem efeitos fitotóxicos que comprometam o seu rendimento.

No Brasil, atualmente, existem 12 moléculas herbicidas com registro para pastagem (Tabela 2), distribuídas entre os mecanismos de ação: mimetizadores de auxina (5), inibidores de acetolactato sintase (3), inibidor da 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato (1), inibidores da porfobilinogênio oxidase (2) e, inibidor do fotossistema II (1) (BRASIL, 2021). Diversos produtos comerciais estão disponíveis no mercado apesar do registro de poucas moléculas para áreas com pastagem, alguns são constituídos por apenas um ingrediente ativo, enquanto muitos outros são compostos por dois ou mais. As misturas comerciais têm ocupado cada vez mais espaço no mercado, essa expansão está relacionada aos vários benefícios obtidos pelo seu uso, como o incremento do espectro de controle, o aumento do efeito residual, a maior eficácia e a diminuição nos custos de produção, pois reduz o número de aplicações.

Em pastagens, os herbicidas devem ser utilizados para o controle de

plantas daninhas durante a formação ou reforma, assim como na manutenção ou recuperação das pastagens (GUIMARÃES *et al.*, 2018), sendo em sua maioria aplicados em pós-emergência das plantas e absorvidos pela parte aérea, com ação sistêmica ou de contato.

Tabela 2. Relação do mecanismo de ação, ingrediente ativo, grupo químico, número de produtos comerciais registrados, modo de aplicação e espectro de ação.

Mecanismo de ação	Ingrediente ativo e grupo químico	Número produtos registrados	Forma de aplicação
Mimetizadores de auxina	2,4-D (ácido ariloxialcanóico)	34 (17*)	Aplicação foliar
	Aminopyralid (ácido piridinocarboxílico)	18 (18*)	Aplicação foliar
	Fluroxypyr (ácido piridiniloxialcanóico)	20 (18*)	Aplicação foliar
	Picloram (ácido piridinocarboxílico)	56 (44*)	Aplicação foliar, no tronco e/ou basal
	Triclopyr (ácido piridiniloxialcanóico)	20 (7*)	Aplicação foliar, no tronco e/ou basal
Inibidores da ALS	Imazapic (imidazolinona)	1 (1*)	Aplicação foliar
	Imazapyr (imidazolinona)	1 (1*)	Aplicação foliar
	Metsulfuron-methyl (sulfonilureia)	7 (1*)	Aplicação foliar
Inibidor da EPSPs	Glyphosate (glicina)	38	Aplicação foliar
Inibidores da PPO	Carfentrazone (triazolona)	1	Aplicação foliar
	Saflufenacil (pirimidinadiona)	1	Aplicação foliar
Inibidores do FSII	Tebuthiuron (ureia)	1	Aplicação no solo

Fonte: Brasil (2021).

Nota: *Número de produtos formulados comercialmente com misturas de dois ou mais ingredientes ativos.

O modo de aplicação pode variar de acordo com a espécie, estágio de desenvolvimento e a densidade de infestação. Em geral, são praticadas quatro modalidades: aplicação foliar; aplicação no toco de plantas lenhosas imediatamente após o corte; aplicação basal também indicada para o controle de plantas lenhosas, mas sem corte; e aplicação no solo (VICTÓRIA FILHO *et al.*, 2014).

Aplicação foliar: Esta modalidade pode ser dividida em localizada (jato

dirigido) e em área total, sendo que a tomada de decisão sobre a forma de aplicação dependerá das características e da incidência da flora infestante. Assim, as aplicações foliares são mais comumente realizadas nas condições de altas infestações de planta daninhas (>40% de infestação), ao passo que nos casos de infestações inferiores a 40% recomenda-se a aplicação de forma dirigida (OLIVEIRA; WENDLING, 2013).

Aplicação no toco: quando o objetivo é eliminar plantas daninhas de difícil controle, como as espécies lenhosas, arbustivas e arbóreas, cuja aplicação convencional via foliar não é eficiente, possibilitando a aplicação no toco. O herbicida é aplicado diretamente no toco das plantas logo após o corte rente ao solo. Vale destacar que o corte pode ser feito com foice ou enxada, e a aplicação pode ser realizada com pulverizador costal ou pincel. Muitas vezes, utiliza-se corante (azul de metileno ou violeta genciana) para marcar as plantas tratadas. (OLIVEIRA; WENDLING, 2013).

Aplicação basal: utilizada para as plantas que não são controladas com aplicações foliares, como para as plantas lenhosas ou arbustos de grande porte, com diâmetro de tronco maior que 10 cm, difíceis de serem tratados no toco (VICTÓRIA FILHO *et al.*, 2014). O herbicida é aplicado no caule, sem roçada, com pulverizador manual ou pincelamento basal, até 30 a 40 cm de altura (GUIMARÃES *et al.*, 2018). Algumas vezes, é indicado que o produto seja diluído em óleo diesel, visando proporcionar maior aderência a casca das plantas (BRASIL, 2021).

Aplicação no solo: consiste em distribuir o produto (granulado) no solo, ao redor da planta (GUIMARÃES *et al.*, 2018), contudo, essa prática é pouco utilizada por apresentar apenas um produto registro na cultura no Brasil (BRASIL, 2021).

3.1 Herbicidas mimetizadores de auxina

As auxinas são substâncias denominadas de fitohormônios que desempenham funções essenciais em muitos ciclos e processos de crescimento nas plantas, como na divisão celular, no alongamento e nos processos de desenvolvimento, que incluem tecido vascular e diferenciação do meristema floral, iniciação da folha, filotaxia, senescência, dominância apical e formação da raiz (DO-THANH *et al.*, 2016). Assim, os herbicidas mimetizadores de auxinas, quando utilizados, provocam uma série de anormalidades no metabolismo vegetal, afetando a divisão e a expansão celular, provocando até a morte de plantas sensíveis (GROSSMANN, 2000; DO-THANH *et al.*, 2016).

Os sintomas desse mecanismo de ação envolvem o crescimento anormal, epinastia (curvamento do caule) e encarquilhamento das espécies sensíveis e, posteriormente, evoluem para clorose, necrose e morte, usualmente em 3 a 5 semanas (VICTÓRIA FILHO *et al.*, 2014). Esses herbicidas são amplamente

conhecidos por controlarem seletivamente muitas espécies indesejáveis de folha larga sem prejudicar as gramíneas, entre os herbicidas disponíveis, os formulados à base de 2,4-D e o picloram são os mais conhecidos e utilizados no país para essa finalidade (MACIEL *et al.*, 2008). Atualmente, cinco moléculas pertencentes a esse mecanismo de ação possuem registro para uso em pastagem no Brasil, são elas: 2,4-D, picloram, aminopyralid, fluroxypyr e triclopyr, sendo que muitas delas são utilizadas em misturas comerciais (BRASIL, 2021). Esses produtos são indicados para o controle de plantas daninhas de porte arbóreo, arbustivo e subarbustivo, podendo ser aplicados via foliar ou no toco, imediatamente após o corte, em qualquer época do ano.

3.2 Herbicidas inibidores de ALS

A acetolactato sintase (ALS), também conhecida como acetohidroxiácido sintase (AHAS), é a primeira enzima que catalisa duas reações na via de biossíntese de aminoácidos de cadeia ramificada - leucina, valina e isoleucina (ZHOU *et al.*, 2007). Desse modo, os herbicidas inibidores da ALS interrompem a síntese proteica, que, conseqüentemente, interfere na síntese de DNA e no crescimento celular, levando as plantas sensíveis à morte em até duas semanas (VICTÓRIA FILHO *et al.*, 2014).

Os produtos compostos por moléculas desse mecanismo de ação com registro no Brasil são compostos por metsulfuron-methyl e pela mistura comercial de imazapic+imazapyr (BRASIL, 2021). Esses herbicidas apresentam ação sistêmica, sendo absorvidos pelas folhas e raízes, com translocação por toda a planta. Recomenda-se a aplicação em pós-emergência das plantas daninhas em pastagens, sendo em área total quando em altas infestações ou em jato dirigido nas áreas com infestação desuniforme em manchas ou reboleiras.

O metsulfuron-methyl controla espécies herbáceas como as guanxumas (*Sida* spp.) e o gervão-branco (*Croton glandulosos* L.), ao passo que a mistura de imazapic+imazapyr é indicada para o controle de capim-navalha (*Paspalum virgatum* L.) ainda em estágio inicial de desenvolvimento, ou seja, até a emissão da folha bandeira.

3.3 Herbicida inibidor da EPSPs

A 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) é a sexta enzima na via do shiquimato, pelo qual as plantas sintetizam os aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano e outros compostos usados em processos do metabolismo secundário de algas, plantas, bactérias e fungos (BENTLEY, 1990). O glyphosate é o único herbicida inibidor dessa enzima, sendo não seletivo, que é ocasionalmente utilizado em pastagens em jato dirigido para manutenção ou recuperação; ou em área total para a dessecação antes da

reforma das áreas.

Existem diversas formulações comerciais disponíveis no mercado (BRASIL, 2021) e seu uso tem papel de destaque nas áreas de reforma de pastagem, principalmente àquelas infestadas com gramão (*Paspalum notatum* Flüggé) (VICTÓRIA FILHO *et al.*, 2014). No momento da reforma da pastagem, o glyphosate representa uma estratégia fundamental, uma vez que provoca a morte das plantas mesmo nos períodos com maior umidade no solo (época chuvosa do ano). Portanto, o seu uso se configura como um complemento importante ao controle mecânico (gradagem), a única estratégia utilizada para o controle dessa espécie no passado, mas, que nas épocas de maior umidade apresentava baixa eficiência, por ser um processo demorado e oneroso.

3.4 Herbicidas inibidores da PPO

A protoporfirogenese oxidase (PPO) é uma enzima comum na via biossintética da clorofila. Portanto, os herbicidas potentes inibidor da PPO interrompem a capacidade de síntese de clorofila em plantas sensíveis, e contribuem para a peroxidação lipídica das membranas e, consequente morte celular (HAO *et al.*, 2011). Para pastagem, há o registro de duas moléculas, o carfentrazone e o saflufenacil, com ação sistêmica e seletividade condicional de contato, indicadas para o controle em pós-emergência de plantas herbáceas de folha larga (BRASIL, 2021).

O carfentrazone pertence ao grupo químico das triazolonas, sendo recomendado para o controle de guanxuma (*Commelina benghalensis* L.) e corriola (*Ipomoea cairica* (L.) Sweet), na dose de 30 a 50 g i. a. ha⁻¹, a ser aplicado em área total durante o período de desenvolvimento vegetativo mais intenso das espécies infestantes. Em cultura proveniente da semeadura implantação e/ou reforma da pastagem recomenda-se a aplicação de 30 a 60 dias após o plantio, sendo que as daninhas precisam estar no início do processo de desenvolvimento, 2 a 4 pares de folhas (BRASIL, 2021). Enquanto o saflufenacil, pertencente ao grupo químico das pirimidinadiona (uracila), é utilizado para o controle de plantas daninhas como a guanxuma (*Sida rhombifolia* L.) e a buva (*Conyza bonariensis* (L.) Cronquist), aplicado nas doses de 49 a 70 g i.a. ha⁻¹ nas plantas com 2 a 8 folhas.

3.5 Herbicida inibidor do fotossistema II

O tebuthiuron é um herbicida de ação sistêmica, pertencente ao grupo químico dos derivados da ureia, que atua inibindo o transporte de elétrons no fotossistema II. É um produto seletivo que possui amplo espectro de controle de diversas espécies, sendo utilizado em pré e/ou pós-emergência. Para o controle de plantas de porte arbustivo ou semi-arbustivo sob intenso processo de desenvolvimento, a sua aplicação é realizada diretamente no

solo, distribuindo-se o produto granulado uniformemente ao redor das plantas (BRASIL, 2021).

4 RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS EM PASTAGEM

No Brasil, em áreas de pastagem, apesar de não se ter relato da evolução de plantas daninhas com resistência a herbicidas, em culturas de grãos existem muitos casos confirmados (HEAP, 2021). Uma vez que as principais causas de plantas daninhas resistentes podem ser atribuídas a utilização constante de herbicidas com um mesmo mecanismo de ação, impondo alta pressão de seleção com o uso repetitivo do mesmo herbicida, mudanças na flora de uma região podem ser esperadas.

Todavia, os relatos de plantas daninhas comuns em culturais anuais têm aumentado, como a buva e o capim-amargoso infestando áreas de pastagem e necessitando de controle. Essa questão pode ser importante em áreas próximas às estradas e áreas problemáticas de fonte de produção e disseminação de diásporos ou, por exemplo, quando se utilizar uma molécula específica que a população possa ter resistentes. Dessa forma, o conhecimento do histórico da área é fundamental para a elaboração das estratégias de manejo de plantas daninhas, principalmente na escolha dos herbicidas que serão utilizados.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento da demanda por alimentos e as exigências impostas pela sociedade exigem que os diferentes sistemas produtivos se tornem cada vez mais sustentáveis. Nesse sentido, para manter as áreas de pastagem bem formadas, produzindo alimento para os animais em quantidade e qualidade, a adoção de estratégias de manejo de plantas daninhas com a integração dos diversos métodos, incluindo o controle químico com o uso racional de herbicidas, se torna um processo importante para a manutenção do setor, haja vista a sua importância para o cenário agrícola brasileiro tanto pela extensão de área ocupada quanto pela sua participação na economia.

REFERÊNCIAS

BENTLEY, R. The shikimate pathway: a metabolic tree with many branches. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, Londres, v. 25, n. 5, p. 307-384, 1990.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT)**. 2021. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 18 mar. 2021.

CNA. Balança comercial do agronegócio brasileiro. **CNA Brasil**, [s. l.], janeiro 2021a. https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/boletins/Balanca-Comercial_

- janeiro2021.pdf. Acesso em: 10 mar. 2021.
- CNA. **PIB Brasil 2020**. [S. l.]: CNA Brasil, 2021b. (Comunicado Técnico, n. 5). Disponível em: https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/boletins/Comunicado-Tecnico-CNA-ed-05_2021.pdf. Acesso em: 10 mar. 2021.
- DIAS-FILHO, M. B. Sistemas integrados na recuperação de pastagens degradadas na amazônia. In: IKEDA, F. S.; INOUE, M. H. **Manejo sustentável de plantas daninhas em sistemas de produção tropical**. Brasília: Embrapa, 2015. p. 33-49.
- DO-THANH, C.; VARGAS, J. J.; THOMAS, J. W.; ARMEL, G. R.; BEST, M. B. Design, synthesis, and evaluation of novel auxin mimic herbicides. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 64, n. 18, p. 3533-3537, 2016.
- EMBRAPA. **Síntese ocupação e uso das terras no Brasil**. Brasília: Embrapa Agricultura e Preservação Ambiental, 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/car/sintese>. Acesso em: 15 fev. 2020.
- GHANIZADEH, H; HARRINGTON, K. C. Weed Management in New Zealand Pastures. **Agronomy**, [s. l.], v. 9, n. 8, p. 448, 2019.
- GROSSMANN, K. Mode of action of auxin herbicides: a new ending to a long, drawn out story. **Trends in Plant Scienc**, Oxford, v. 5, n. 12, p. 506-508, 2000.
- GUIMARÃES, A. C. D.; INOUE, M. H.; SANTOS, A. W.; VICTÓRIA FILHO, R.; NETO, A. L. Desafios no manejo sustentável de plantas daninhas em pastagens. In: GUIMARÃES, A. C. D.; INOUE, M. H.; IKEDA, F. S. (org.). **Estratégias de manejo de plantas daninhas para novas fronteiras agrícolas**. Mato Grosso: Unemat, 2018. p. 8-33.
- HAO, G.; ZUO, Y.; YANG, S.; YANG, G. Protoporphyrinogen oxidase inibidor: an ideal target for herbicide discovery. **Chimia**, Zurique, v. 65, n. 12, p. 961-969, 2011.
- HEAP, I. **The international herbicide-resistant weed database**. 2021. Acesso: 18/03/2021. www.weedscience.org. Acesso em: 30 jun. 2021.
- MACIEL, C. D.; NOGUEIRA, I. F.; ALVES, E.; ALVES, L. S. Misturas em tanque de 2,4-D+picloram e reguladores vegetais em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. MG-5. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 7, n. 2, p. 43-52, 2008.
- OLIVEIRA, M. F.; WENDLING, I. J. **Uso e manejo de herbicidas em pastagens**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2013. 27 p. (Embrapa Milho e Sorgo, n. 165).
- POTT, A.; POTT, V. J.; SOUZA, T. W. **Plantas daninhas de pastagem na região de Cerrados**. Campo Grande: Embrapa, 2006. 336 p.
- VICTÓRIA FILHO, R.; NETO, A. L.; PELISSARI, A.; REIS, F. C.; DALTRO, F. P. Manejo sustentável de plantas daninhas em pastagens. In: MONQUEIRO, P. A. **Manejo de plantas daninhas nas culturas agrícolas**. São Carlos: RiMa, 2014. p. 179-207.
- WESTWOOD, J.; CHARUDATTAN, R.; DUKE, S.; FENNIMORE, S.; MARRONE, P.; SLAUGHTER, D.; ZOLLINGER, R. Weed Management in 2050: perspectives on the Future of Weed Science. **Weed Science**, [s. l.], v. 66, n. 3, p. 275-285, 2018.
- ZHOU, Q.; LIU, W.; ZHANG, Y.; LIU, K. K. Action mechanisms of acetolactate synthase-inhibiting herbicides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, [s. l.], v. 89, n. 2, p. 89-96, 2007.

CAPÍTULO 5

SISTEMAS DE PRODUÇÃO E TECNOLOGIA NA CULTURA DO ALGODOEIRO

Samuel Ferrari

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Enes Furlani Júnior

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Ilha Solteira,
São Paulo, Brasil.

Luís Fernando dos Santos Cordeiro

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Luís Guilherme Delovo Carara

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Júlio Cesar Bogiani

Embrapa Territorial, Campinas, São
Paulo, Brasil.

Paulo Augusto Vianna Barroso

Embrapa Territorial, Campinas, São
Paulo, Brasil.

Resumo

A cultura do algodoeiro destaca-se entre os agricultores brasileiros, pois apresenta grande estrutura de produção e logística, tendo a fibra nacional grande valor nas exportações para os exigentes centros de comercialização. As informações geradas pelo projeto "Monitora Oeste" são muito demandadas pelos produtores durante o período de condução de suas lavouras, principalmente durante o período de maior suscetibilidade de ocorrência de doenças. Elas, estando disponibilizadas de forma rápida, de fácil acesso e especializada em mapas, ajudará o produtor na tomada de decisão. O manejo nutricional do algodoeiro requer atenção dos produtores, pois a cultura apresenta um ciclo que pode chegar a 200 dias, uso de cultivares modernos e cultivo crescente em solo arenoso. Dessa forma, a utilização de fontes e doses de boro e silício apresentam-se com estratégias seguras para o sistema de produção atual.

1 INTRODUÇÃO

O algodoeiro é uma planta eudicotiledônia e pertence ao gênero *Gossypium*, sendo um arbusto lenhoso de ciclo perene, no entanto, o seu cultivo é realizado em um ciclo anual (NOREEN *et al.*, 2020). Os maiores países produtores de pluma de algodão são Índia, China, Paquistão, Estados Unidos e Brasil, estando os Estados Unidos e o Brasil entre os maiores exportadores (KHAN *et al.*, 2020). O preço da pluma é cotado com base na bolsa de Chicago, e a comercialização realizada em centavos de Dólar por libra-peso. Um alto retorno financeiro ao produtor do algodão é obtido quando a pluma apresenta boa qualidade de fibra, sendo ela mensurada pelo comprimento, uniformidade, índice micronaire, maturidade, finura, tenacidade, alongamento e calorimetria (RESENDE *et al.*, 2014).

Devido à grande importância do cultivo de algodoeiro no cenário nacional e internacional, torna-se importante o desenvolvimento de meios e tecnologias que favoreçam seu sistema produtivo como o monitoramento agrometeorológico e fitossanitário, além de adubação com boro e silício.

2 MONITORAMENTO AGROMETEOROLÓGICO E FITOSSANITÁRIO

Atualmente, o êxito de qualquer empreendimento depende de informações, que devem ter elevada qualidade e serem disponibilizadas em tempo hábil para a análise, a tomada de decisão e a realização rápidas das ações necessárias.

São inúmeras as informações importantes que podem ser levantadas através de monitoramentos a fim de serem correlacionadas ou trabalhadas para gerar produtos/informações elaboradas que proporcionem subsídios ao produtor nas tomadas de decisões, porém, as que estão relacionadas à agrometeorologia, em especial ao clima e à fitossanidade, estão entre as mais demandadas.

Dentre os conhecimentos associados ao clima, pode-se destacar as informações passadas (dados históricos), as que estão acontecendo em tempo real, as previsões de tempo (próximos dias) e o clima (próximos meses) e o conhecimento de parâmetros importantes quanto às condições hídricas da planta e do solo. Esses fatores climáticos e sua relação com o desenvolvimento da cultura precisam ser adequadamente quantificados e monitorados. Os dados provenientes desse monitoramento auxiliam no planejamento estratégico e no acompanhamento diário da unidade de produção, assim como favorecem para, entre outros aspectos, a melhoria das previsões do tempo e do clima e a melhoria da previsão de safra. As informações climatológicas trabalhadas em modelos matemáticos para predizerem a favorabilidade de ocorrência de doenças é um exemplo de produto gerado dentro deste contexto que pode auxiliar o produtor na tomada de decisão do momento mais adequado para realizar as práticas

de manejo demandadas para controlá-las com eficiência. Além disso, são importantes para compreensão de variabilidades da produtividade da safra que acontecem ao longo dos anos.

Dentre os conhecimentos associados às questões fitossanitárias, pode-se destacar algumas como as relacionadas ao monitoramento de ocorrência das doenças dentro de cada lavoura, da localização georreferenciada dessas ocorrências e a sua dispersão. Esse monitoramento também pode ser feito para pragas e plantas daninhas, principalmente para aquelas resistentes a herbicidas e as de difícil controle.

Adicionalmente, um banco de dados formado pelo armazenamento de todas as informações levantadas ao longo do tempo possibilita a realização de trabalhos com o cruzamento de informações históricas a fim de buscar explicações de casos, geração de novos produtos, direcionamento de ações, pesquisas, dentre outras infinidades de possibilidades. Embora avanços significativos tenham sido obtidos na geração de informações de qualidade nessas áreas nos últimos anos, ainda há necessidade de avanços no que diz respeito à qualidade, à automação dos processos e à agilidade de acesso à informação.

Um projeto nessa temática está sendo executado através de uma parceria firmada entre a Embrapa Territorial e a Associação Baiana dos Produtores de Algodão (ABAPA) na região do Extremo Oeste Baiano, considerada uma das mais importantes produtoras agrícolas do país e polo de produção de grãos e fibras. Suas condições climáticas são menos favoráveis que em outras regiões dos cerrados e tornam mais desafiadoras as condições de produção. As ocorrências de veranicos prolongados comprometem bastante as lavouras e, quando somados aos problemas causados pelas doenças, pragas e plantas daninhas, prejudicam bastante a produtividade final das culturas.

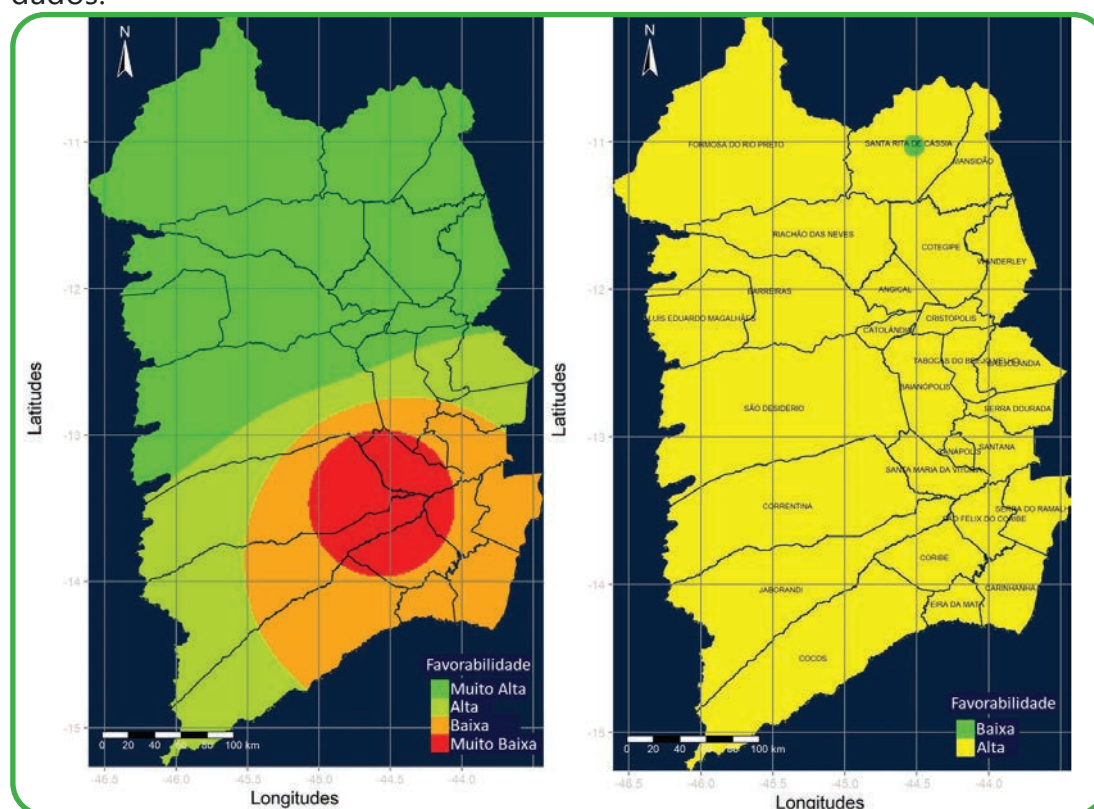
O projeto intitulado “Monitara Oeste: Monitoramento Agrícola e Fitossanitário do Oeste Baiano” tem como propósito o monitoramento para levantamento de dados sobre o clima e a ocorrência de doenças, dentre elas a mancha de ramulária no algodoeiro, causada pelo fungo *Ramularia areola* (Atk.) que é, atualmente, a principal doença da cultura no Brasil. Conforme Suassuna e Coutinho (2011), as perdas de produtividade no cerrado podem chegar a 30% quando medidas de controle não são adotadas e as condições edafoclimáticas são favoráveis, enquanto que Cia e Fuzatto (1998) relatam que, em cultivares mais suscetíveis, a redução na produtividade pode alcançar 75% nas condições mais favoráveis de cerrado.

De início, foram realizados trabalhos para a construção de um banco de dados com informações climatológicas. Um levantamento das estações meteorológicas (todas georreferenciadas) realizado na região possibilitou a construção de uma rede para alimentação do banco de dados de forma automatizada. Todos os dados coletados do clima são processados e armazenados (dados atuais e históricos) para serem usados em atividades de

monitoramento e na elaboração de produtos agrometeorológicos.

Em seguida, foram trabalhados os produtos agrometeorológicos. A predição da ocorrência da mancha de ramulária foi uma delas. Foram levantados dados históricos de severidade da doença ao longo de todo o ciclo da cultura, bem como os respectivos dados climáticos correspondentes ao mesmo período de leitura da severidade e ao mesmo local de ocorrência. Essas informações foram usadas no ajuste de modelos matemáticos para estimar a favorabilidade climática de ocorrência e desenvolvimento da mancha de ramulária no algodoeiro. As informações de clima do banco de dados são aplicadas ao modelo de melhor correlação para geração das condições de favorabilidade. Como as informações de clima (armazenadas no banco de dados) são de estações distribuídas na região, e elas são georreferenciadas, mapas de favorabilidade climática são construídos para a ocorrência e o desenvolvimento da mancha de ramulária no algodoeiro (Figura 1) instantaneamente à chegada das informações de clima no banco de dados. Além disso, informações de previsão climática (obtidas do banco de dados) também são aplicadas aos modelos para se ter as condições de previsão futura quanto à essa favorabilidade.

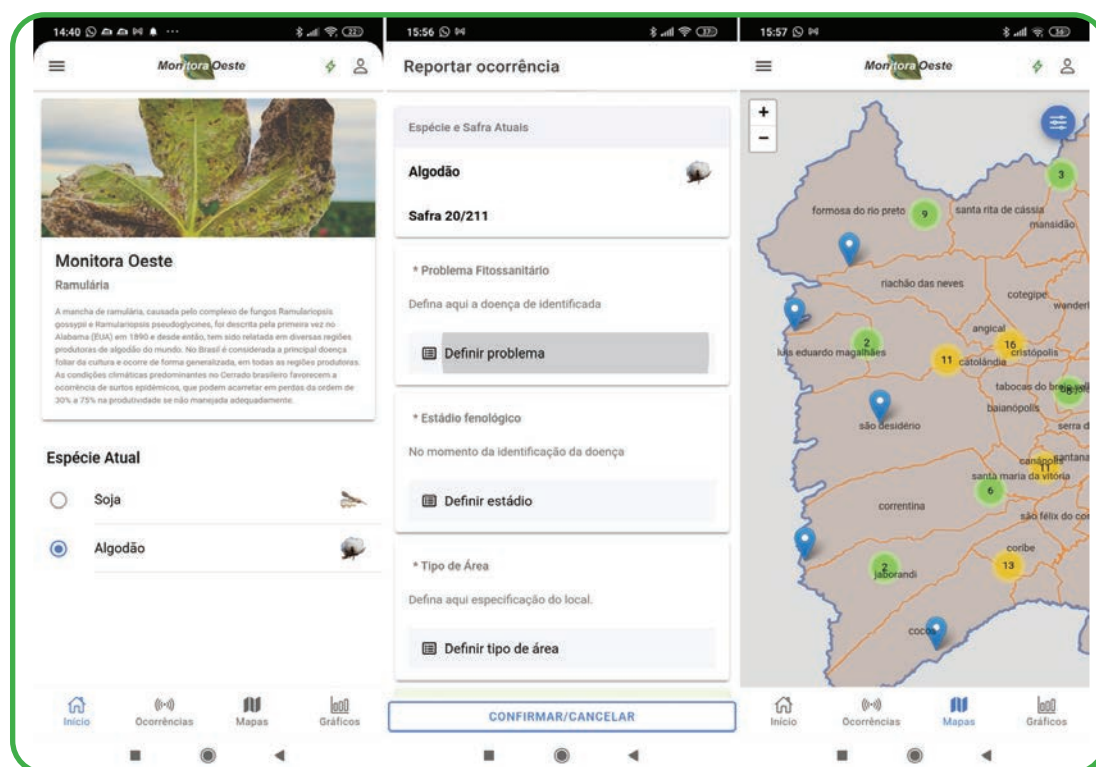
Figura 1. Mapas de favorabilidade climática para a mancha de ramulária do algodoeiro gerados pelo sistema de alerta em diferentes épocas do ano. O sistema gera mapas diários conforme a atualização de clima no banco de dados.



Fonte: elaborado pelos autores.

Foi construída uma “rede informantes” (colaboradores) composta por técnicos que rodam toda a região (profissionais ligados às instituições de monitoramento/fiscalização fitossanitária, consultorias e afins) que fazem o registro georreferenciado das ocorrências de mancha de ramulária na região, anotando informações como a cultivar, o estágio fenológico, a data de semeadura e registro de fotos. Essas informações alimentam um banco de dados, que é utilizado para geração de mapas de ocorrência e dispersão da doença na região oeste da Bahia (Figura 2). Os mapas são atualizados em tempo real, ou seja, assim que feito um registro, o mapa é atualizado automaticamente com este ponto de registro.

Figura 2. Detalhes de telas do aplicativo “Monitora Oeste” e dos mapas de ocorrência e dispersão da mancha de ramulária do algodoeiro na região Oeste da Bahia.



Fonte: elaborado pelos autores.

Atividades de monitoramento agrometeorológico espectral também estão sendo realizadas no projeto. Nessas atividades, os dados meteorológicos são trabalhados com o auxílio de programas específicos e aplicados a imagens do satélite (georreferenciados) para obtenção espacializada (Mapas) de índices agrometeorológicos como o Índice de Vegetação da Diferença Normalizada (NDVI), albedo, temperatura da superfície, evapotranspiração, biomassa e produtividade da água. Essas informações são muito importantes para os produtores que fazem uso de irrigação nas lavouras.

Todas essas informações serão úteis ao produtor nos momentos de tomada de decisão e, para isso, precisam ser disponibilizadas em tempo real para os técnicos e produtores, e de uma forma prática e de fácil acesso. Com esse propósito, foi construído um aplicativo mobile (Figura 1) que permite acesso a todos os mapas dos produtos descritos acima (Mapas de favorabilidade climatológica da mancha de ramulária, de ocorrência e dispersão da doença no campo e os mapas de índices agrometeorológicos).

Será através desse aplicativo que os técnicos/colaboradores da “rede de informantes” farão os registros das ocorrências da mancha de ramulária no campo para alimentar o banco de dados. O aplicativo também servirá como emissor de alertas. A cada registro realizado da doença, todos os usuários do aplicativo receberão uma notificação no celular. Também receberão notificações quando as condições climatológicas estiverem em um nível de alta favorabilidade para ocorrência e desenvolvimento da doença.

Um site tipo WebGis também foi construído para que o usuário possa ter acesso a todas estas informações. Este website disponibilizará opções de buscas mais avançadas, com possibilidade de filtros, maior quantidade de informações e detalhes sobre todos os produtos agrometeorológicos e de monitoramento fitossanitário gerados, bem como a possibilidade de obter mapas de maior resolução e detalhamento.

3 O SILÍCIO NA CULTURA DO ALGODOEIRO

O silício (Si) é encontrado na natureza na forma de silicatos e, principalmente de sílica, sendo um elemento abundante na crosta terrestre (LIMA FILHO, 2010). Apesar disso, cultivos intensivos podem reduzir de forma rápida o teor desse elemento no solo (KORNDÖRFER, 2006). O Si não é considerado essencial para o desenvolvimento pleno de todos os vegetais, justificado por não atender todos os critérios de essencialidade, sendo, portanto, considerado como um elemento benéfico, por induzir efeitos positivos, principalmente, quando a planta se encontra sob situação de estresse (GIONGO; BOHNEN, 2011).

Em se tratando de silício para utilização na agricultura, diversas fontes têm sido empregadas. Dentre as mais comuns são: escórias de siderurgia, termofosfato, subprodutos da produção de fósforo elementar, silicato de cálcio, silicato de sódio, cimento, vollastonita, silicato de magnésio e silicato de potássio.

Esse elemento é absorvido pelas plantas na forma de ácido monossilícico, sendo acumulado nos tecidos vegetais na forma de sílica amorfa hidratada, principalmente, na parte aérea, junto à cutícula, no retículo endoplasmático, em espaços intercelulares e paredes celulares, onde passa a interagir com compostos fenólicos e pectinas, aumentando a rigidez e a força estrutural das plantas (CURRIE; PERRY, 2007). Acredita-se que seu transporte se dê,

principalmente, através do movimento ascendente da água no interior da planta.

O processo de absorção do ácido monossilícico, que possui carga neutra, ocorre pela dissolução através da membrana, podendo ocorrer pelo simplasto ou pelo apoplasto. O mecanismo de absorção radicular do silício pelas plantas foi considerado passivo, entretanto, alguns estudos científicos a absorção ativa por proteínas de membranas específicas, codificadas por genes específicos para esse fim (CHIBA *et al.*, 2009).

Pode-se destacar, como benefícios do uso do Si, o aumento da eficiência do uso da água, com diminuição da transpiração, o favorecimento da translocação de carbono para as sementes e a passagem mais rápida da fase vegetativa para a reprodutiva, o estímulo à produção de fitoalexinas (fenóis), o aumento da resistência da parede celular e a regulação da evapotranspiração (ZUCCARINI, 2007). Atua também na melhoria da arquitetura foliar, tornando-as mais eretas, favorecendo a penetração da luz no dossel da planta; proporciona redução na preferência alimentar de insetos e incidência de doenças, principalmente fúngicas, além do aumento da taxa fotossintética (BASAGLI *et al.*, 2003). Ainda, o uso do Si na adubação pode impactar positivamente no índice de clorofila das folhas (LOCARNO; FOCHI; PAIVA, 2011). Esse impacto é benéfico, pois as folhas participam do processo de absorção de energia luminosa para conversão em moléculas de adenosina trifosfato (ATP).

A adubação silicatada promove o acúmulo de silicatos polimerizados nas células epidérmicas, resultando em uma dupla camada silício-cutícula que reduz a transpiração, o que resulta num menor consumo hídrico (KORNDÖRFER, 2007). Assim, a atenuação dos danos de déficit hídrico está ligada ao ajustamento do potencial hídrico, com aumento do teor relativo de água nas folhas, aumento da fotossíntese, além do incremento da produção e da ativação da defesa antioxidante (AHMED; HASSEN; KHURSHID, 2011). A absorção do Si também é útil para reduzir o estresse causado pela falta de água, pois ele pode evitar a compressão dos vasos quando há altas taxas de transpiração pelas plantas.

A resistência e a tolerância das plantas às doenças são influenciadas por fatores ambientais. De fato, a adubação ou nutrição mineral pode ser um fator ambiental manipulável relativamente simples, tornando-se um componente importante para o controle de doenças (FERREIRA *et al.*, 2015).

O uso do Si pode possibilitar à planta vantagens de criar uma barreira química e física com células epidérmicas mais grossas e um grau maior de lignificação e/ou suberificação. Desse modo, o Si agiria tendo um efeito semelhante à lignina ou à suberina de algumas plantas, que são depositadas em paredes primárias, ligando-se aos polissacarídeos para bloquear a penetração da hifa, além de apresentar um resultado mais rápido de ativação extensiva dos mecanismos de defesa da planta quando atinge tecido

hospedeiro, afetando os sinais entre patógeno hospedeiro (FERREIRA, 2008).

No Brasil, devido às suas condições climáticas favoráveis, são crescentes os problemas com doenças em algodoeiro, como por exemplo, a mancha de ramulária, que se caracteriza por ser uma doença foliar de destaque na cotonicultura, por causar desfolha precoce, diminuindo assim a taxa de produção e a qualidade da fibra, tornando os custos com insumos mais elevados no manejo e produção do algodoeiro (FERREIRA *et al.*, 2015).

A utilização do Si sob aplicação foliar pode constituir uma alternativa viável para minimizar o efeito danoso dos estresses bióticos e abióticos para as culturas. Isso porque o elemento pode otimizar alguns processos morfofisiológicos e bioquímicos desejáveis para aumentar de forma significativa o rendimento de algumas espécies cultivadas, como o algodoeiro.

4 O BORO NA CULTURA DO ALGODOEIRO

O boro (B) é um micronutriente essencial às plantas e é responsável pelo metabolismo de carboidratos e transporte de açúcares, metabolismo de fenol e auxina, relações hídricas, desenvolvimento de tecidos, diferenciação e formação de paredes celulares, reprodução e resistência a doenças (TARIQ; MOTT, 2007). Mais de 90% do B presente na planta está ligado à parede celular e membranas, enquanto menos de 10% estão disponíveis para remobilização (ROSOLEM; BOGIANI, 2014). Por esse motivo é pouco móvel no floema, necessitando, assim, de fornecimento adequado durante todo o ciclo, a fim de obter toda planta nutrida.

Nota-se que a deficiência de B afeta mais o desenvolvimento reprodutivo do que o vegetativo do algodoeiro (BOGIANI; AMARO; ROSOLEM, 2013). Na fase reprodutiva, atua no transporte de carboidratos da fonte para os drenos, isso desde o início do estágio reprodutivo, a fim de obter botões florais bem nutridos com carboidratos, diminuindo o seu abortamento. Com o surgimento das flores, o B atua na melhor formação de tubos polínicos, aumentando a taxa de flores fecundadas. Após o aparecimento de maçãs, atua no seu enchimento, que é o acúmulo de carboidratos e outros nutrientes nas fibras recém formadas. Assim, pode aumentar o número e o peso médio de capulhos por planta, e, conseqüentemente, o aumento de produtividade. Por volta de 340 g B ha⁻¹ são absorvidos pelo algodoeiro durante o ciclo da cultura. Com a colheita do algodão (semente e pluma) são exportados aproximadamente 41 g B ha⁻¹, porém, as quantidades podem variar de acordo com a produtividade do algodoeiro (ROCHESTER, 2007).

Os níveis de suficiência de B no algodoeiro variam de 17 a 80 mg kg⁻¹ na primeira folha totalmente expandida (3ª ou 4ª folha) no pleno florescimento do algodoeiro (ROSOLEM; QUAGGIO; SILVA, 2001; ZHAO; OOSTERHUIS, 2002). Porém, em lavouras com alto potencial produtivo, no Centro-Oeste brasileiro, a faixa adequada de suficiência está entre 40 e 80 mg kg⁻¹, considerando a

quinta folha do ápice do algodoeiro (BORIN *et al.*, 2014). Ou seja, a faixa de suficiência pode variar de acordo com a folha amostrada e o potencial produtivo da lavoura, sendo que a coleta das folhas deve ser realizada em pleno florescimento da cultura.

Em trabalho conduzido no Paquistão, a aplicação de 1,5 kg B ha⁻¹ incrementou o número de capulho por planta (53%), o peso médio de capulhos (8%) e, conseqüentemente, a produtividade (13%) (SALEEM *et al.*, 2016). Já em experimento conduzido na Turquia, o uso de B em até 2 kg ha⁻¹ aumentou a produtividade do algodoeiro em 32%, chegando a produzir 2.050 kg ha⁻¹ de fibra, e em 61,4% o peso médio de capulhos (GORMUS; BARUTCULAR, 2016).

As formas de fornecimento de B para o algodoeiro podem ser via solo ou via foliar, entretanto, a aplicação via foliar muitas vezes tem baixa eficiência devido à baixa mobilidade do nutriente no floema. Assim, em situações de alta demanda do elemento há a necessidade de aplicações semanais para atender a demanda nas novas folhas da planta (BOGIANI, 2010). Contudo, a aplicação via foliar pode ser adequada alternativa quando aplicada como complemento da adubação via solo, geralmente após o pleno florescimento, tendo o teor no solo desse nutriente diminuído devido a lixiviação. Ou pode ser adequada também em situações de sombreamento da cultura, em que a transpiração da planta é menor, o que reduz o fluxo de massa (PETERSEN *et al.*, 1992; LOCKE; ORT, 2014), principal meio de absorção de B. Portanto, em cada caso, deve ser analisada a necessidade da utilização e o modo de aplicação do B.

Dessa forma, a adubação via solo se torna indispensável. Normalmente, a adubação boratada é recomendada anualmente, em função da baixa capacidade dos solos tropicais em armazenar o B, devido a sua forma no solo H₃BO₃ (carga zero) facilmente lixiviado (SILVA *et al.*, 2018). Deve-se então levar em conta a solubilidade dos fertilizantes boratados, a fim de escolher a melhor fonte de acordo com o ambiente de produção, e manter o algodoeiro bem nutrido durante todo o ciclo. O teor crítico de boro no solo considerado ideal é por volta de 0,2 - 0,3 mg dm⁻³ (ZHAO; OOSTERHUIS, 2002). Porém, com as cultivares de algodoeiro modernas, que apresentam elevado potencial produtivo, a indicação é de que esse valor deva ser maior. Dessa forma, pesquisas são interessantes para atualização constante nos diferentes ambientes de produção brasileiro, com o objetivo de obter um melhor posicionamento quanto a esse parâmetro.

A produção de algodão no Brasil é, predominantemente, sobre solos de textura média e argilosa, sendo cultivado também sobre solo arenoso (SANTOS *et al.*, 2020). Na maioria das vezes o teor de B no solo arenoso é baixo, devido à sua presença na forma lábil, predominantemente como H₃BO₃, podendo ocorrer lixiviação de mais de 80% do boro aplicado (SILVA *et al.*, 2018). A lixiviação ocorre, principalmente, em solo arenoso que apresenta

baixo teor de matéria orgânica (M.O.), pois é nela que a maioria do boro disponível no solo apresenta-se retido (ROSOLEM; BÍSCARO, 2007). Nesses ambientes de produção, o sistema de semeadura direta (SSD) é importante para aumentar o teor de M.O. (RAPHAEL *et al.*, 2016) e, consequentemente, de B no solo (ROSOLEM; BÍSCARO, 2007).

A utilização de fontes de boro 100% solúveis, com doses menores que 1 kg B ha⁻¹, normalmente não proporcionam adequada nutrição ao algodoeiro até o final do ciclo em ambientes com solos de textura arenosa. Em solos arenosos, a aplicação de altas doses dessas fontes (2 kg B ha⁻¹ ou superior) pode ocorrer toxidez de B no algodoeiro logo após a aplicação, devido à sua solubilidade. Porém, essa dinâmica ainda não é exata, em função da dependência das condições ambientais no momento da adubação. Pois, quando aplicado com o solo úmido, e logo após ocorrer precipitação e o clima local tiver com alta temperatura, ocorre grande transpiração pela planta, o que ocasiona elevada absorção de B, já que esse nutriente é absorvido principalmente via fluxo de massa (DECHEN; NACHTIGALL, 2006).

Em condições de teor adequado de B no solo, não existem estruturas nas plantas que controlam a sua passagem do solo para o interior da raiz, devido à característica de carga zero desse nutriente na forma de ácido bórico (FAQUIN, 2005), que é assimilada pela planta.

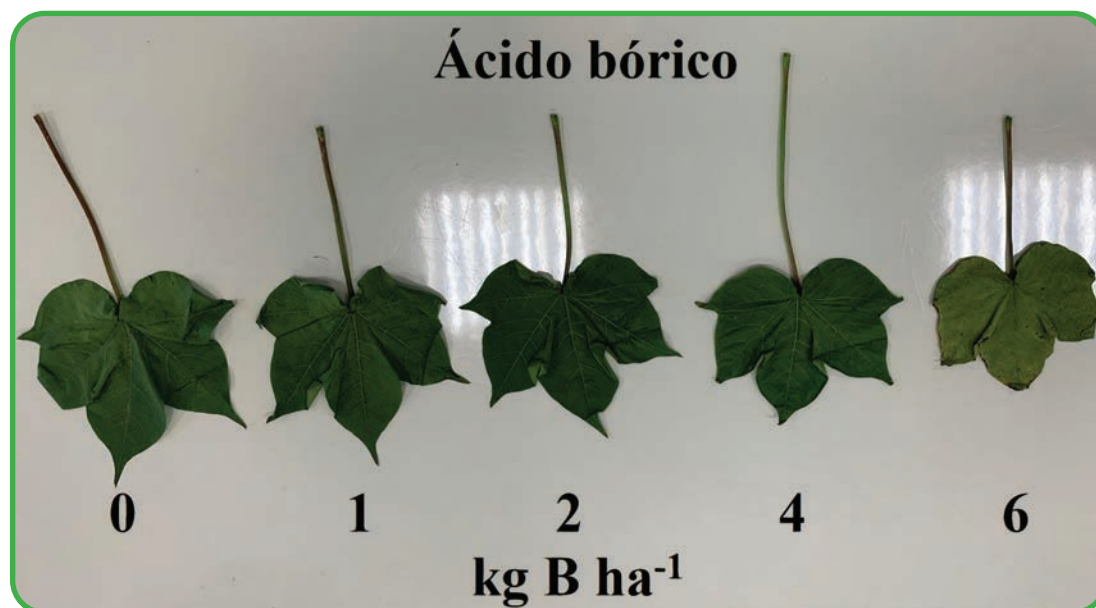
Em algodoeiro cultivado na safra 2020/21 (Figura 3A), em solo arenoso (<15% de argila), com condição de precipitação adequada e uso de doses acima 2 kg B ha⁻¹ via fonte 100% solúvel, o teor desse nutriente na planta com 40 dias após a emergência e 15 dias após a aplicação é de, aproximadamente, 79 mg B kg⁻¹ de matéria seca, o que gera toxidez à planta, reduzindo a produtividade de fibra. Por outro lado, se a aplicação do B for realizada em solo arenoso, seco ou com pouca umidade, e na sequência ocorrer pouca precipitação, aliado à dias nublados (condições que não favoreçam a transpiração do algodoeiro), a ocorrência de toxidez poderá ocorrer somente com aplicação igual ou superior a 4 kg B ha⁻¹.

Dessa forma, fontes de boro com alta solubilidade não trazem segurança ao produtor de algodão que faz cultivo em solo arenoso. Mesmo assim, se decidir optar por esse tipo de fonte, a dose não deve exceder 1 kg B ha⁻¹, a fim de garantir que não ocorra toxidez ao algodoeiro, independentemente das condições climáticas após a aplicação.

Fontes de B de liberação controlada indicam ser as melhores opções para obter o fornecimento desse nutriente durante todo o ciclo da cultura, porém, poucos estudos são encontrados na literatura. O fertilizante granubor é uma fonte de B solúvel, porém, de liberação controlada e com poucos estudos publicados para a cultura do algodoeiro. A ulexita apresenta lenta liberação de B no solo por ter característica de baixa solubilidade em água. Com isso, promove adequada nutrição das plantas evitando toxidez (BYERS; MIKKELSEN; COX, 2006).

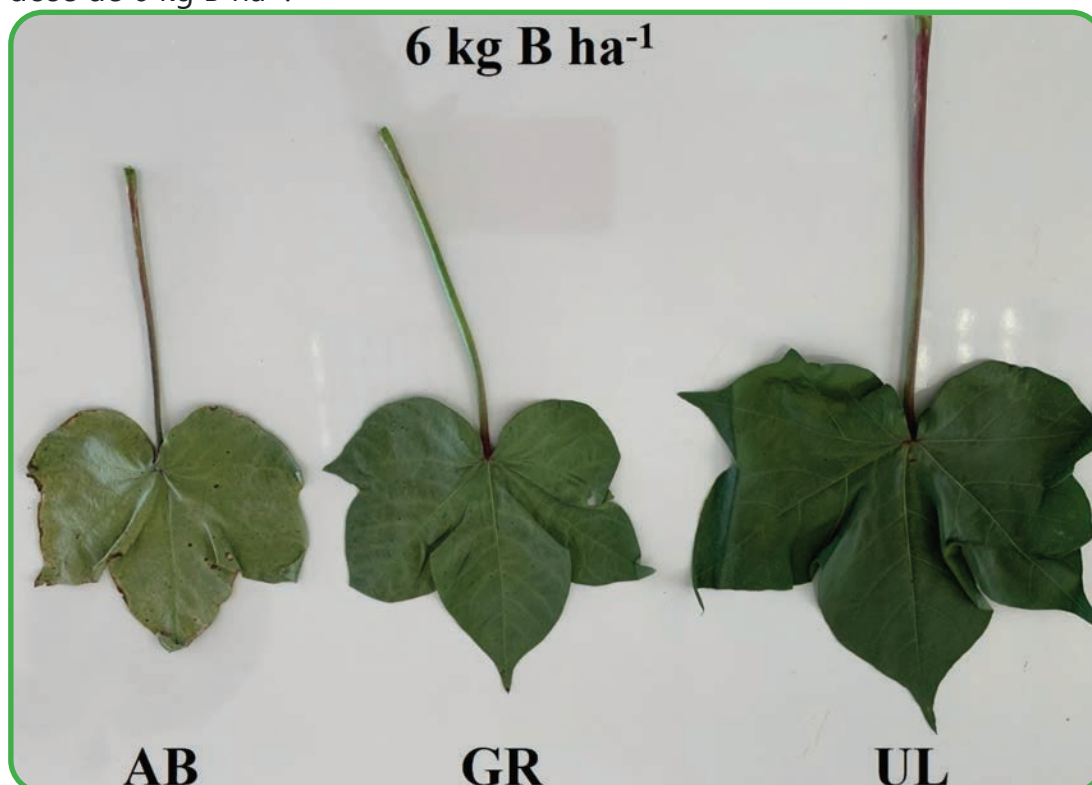
Na Figura 3B, fica evidente que a toxidez de B ao algodoeiro varia de acordo com a fonte utilizada. Ao se utilizar altas doses de B (6 kg ha^{-1}), observa-se alta toxidez ao algodoeiro com aplicação de ácido bórico, média toxidez ao utilizar o fertilizante granubor, e sem sintomas evidentes de toxidez ao se utilizar a ulexita.

Figura 3A. Doses de boro (0, 1, 2, 4 e 6 kg B ha^{-1}), via ácido bórico em algodoeiro cultivado em solo arenoso (<15% de argila).



Fonte: elaborado pelos autores.

Figura 3B. Boro aplicado no algodoeiro cultivado em solo arenoso com diferentes fontes, sendo ácido bórico (AB), granubor (GR) e ulexita (UL), na dose de 6 kg B ha⁻¹.



Fonte: elaborado pelos autores.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As informações geradas pelo projeto “Monitora Oeste” são muito demandadas pelos produtores durante o período de condução de suas lavouras, principalmente durante o período de maior suscetibilidade à ocorrência das doenças, quando estão sendo realizados seus manejos de controle. As informações, estando disponibilizadas de forma rápida, de fácil acesso e especializada em mapas, ajudará o produtor por ocasião das decisões de manejo, época de aplicação de defensivos, intensificação dos cuidados por ocasião de maior pressão da doença ao seu entorno; tudo para proporcionar maior efetividade quanto ao controle da mancha de ramulária no algodoeiro. Além disso, um banco de dados histórico dos anos dessas informações ajudará muito no manejo da doença na região como um todo, pois o cruzamento dos dados possibilitará localizar as áreas de maior problema, se o problema está relacionado à alguma condição climática ou manejo, elaboração de estratégias coletivas para o controle da doença, dentre outras possibilidades para maior efetividade de controle.

O manejo nutricional do algodoeiro requer atenção dos produtores, pois a cultura apresenta um ciclo que pode chegar a 200 dias, uso de cultivares modernos e cultivo crescente em solo arenoso. Dessa forma, a utilização de

fontes e doses de boro e silício apresentam-se como estratégias seguras para o sistema de produção atual.

REFERÊNCIAS

- AHMED, M.; HASSEN, F.; KHURSHID, Y. Does silicon and irrigation have impact on drought tolerance mechanism of sorghum? **Agricultural Water Management**, [s. l.], v. 98, n. 12, p. 1808-1812, 2011.
- BASAGLI, M. A. B.; MORAES, J. C.; CARVALHO, G. A.; ECOLE, C. C.; GONÇALVES-GERVÁSIO, R. C. R. Efeito da aplicação de silicato de sódio na resistência de plantas de trigo ao pulgão-verde *Schizaphis graminum* (Rond.) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 659-663, 2003.
- BOGIANI, J. C. **Absorção e mobilidade do boro em cultivares de algodão**. 2010. 89 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.
- BOGIANI, J. C.; AMARO, A. C. E.; ROSOLEM, C. A. Carbohydrate production and transport in cotton cultivars grown under boron deficiency. **Scientia Agrícola**. Piracicaba, v. 70, n. 6. 2013.
- BORIN, A. L. D. C.; FERREIRA, G. B.; CARVALHO, M. C. S. **Adubação do Algodoeiro no Ambiente de Cerrado**. [S. l.]: Embrapa Algodão, 2014. (Comunicado Técnico).
- BYERS, D. E.; MIKKELSEN, R. L.; COX, F. R. Greenhouse evaluation of four boron fertilizer materials. **Journal of Plant Nutrition**, [s. l.], v. 24, n. 4-5, p. 717-725. 2006.
- CHIBA, Y.; MITANI, N.; YAMAJI, N.; MA, J. F. HvLsi1 is a silicon influx transporter in barley. **Plant Journal**, [s. l.], v. 57, n. 5, p. 810-818, 2009.
- CIA, E.; FUZATTO, M. G. Manejo de doenças na cultura do algodão. In: SIMPÓSIO SOBRE A CULTURA DO ALGODOÃO, 1998. **Anais** [...]. Piracicaba: Potafós : Esalq : USP, 1998.
- CURRIE, H. A.; PERRY, C. C. Silica in plants: biological, biochemical and chemical studies. **Annals of Botany**, Oxford, v. 100, n. 7, p. 1383-1389, 2007.
- DECHEN, A. R.; NACHTIGALL, G. R. Micronutrientes. In: FERNANDES, M. S. (ed). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 432-440.
- FAQUIN, V. **Nutrição mineral de plantas**. Lavras: UFLA : FAEPE, 2005.
- FERREIRA, S. M. **Efeito do silício na cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.)**: aspectos bioquímicos, qualidade de fibra e produtividade. 2008. 68 f. Tese (Doutorado em Ecologia Aplicada) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.
- FERREIRA, A. C. B.; CARVALHO, M. C. S. Manejo de solos aptos à cotonicultura no cerrado. In: FREIRE, E. C. (Ed.). **Algodão no cerrado do Brasil**. 3. ed. Brasília: Gráfica e Editora Positiva, 2015. p. 65-89.
- GIONGO, V.; BOHNEN, H. Relação entre alumínio e silício em genótipos de milho

resistente e sensível a toxidez de alumínio. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 3, p. 348-356, 2011.

GORMUS, O.; BARUTCULAR, C. Boron nutrition studies with cotton and sunflower in southern turkey. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, [s. l.], v. 47, n. 7, p. 915-929, 2016.

KORNDÖRFER, G. H. Elementos benéficos. In: FERNANES, M. S. (ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 355-374.

KORNDÖRFER, G. H. Uso de silício na agricultura. **International Plant Nutrition Institute: Informações agronômicas**, Piracicaba, n. 117, p. 9-11, 2007.

KHAN, M. A.; WAHID, A.; AHMAD, M.; TAHIR, M. T.; AHMED, M.; AHMAD, S.; HASANUZZAMAN, M. World cotton production and consumption: an overview. In: AHMAD, S.; HASANUZZAMAN, M (ed.). **Cotton Production and Uses**. Springer Nature: Singapore, 2020. p. 1-7.

LIMA FILHO, O. F. Aspectos gerais sobre o silício em solos, plantas e animais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE SILÍCIO NA AGRICULTURA, 5., 2010, Viçosa, MG. **Anais [...]** Viçosa, MG: UFV, 2010. p. 47-60.

LOCARNO, M.; FOCHI, C. G.; PAIVA, P. D. O. Influência da adubação silicatada no teor de clorofila em folhas de roseira. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 2, p. 287- 290, 2011.

LOCKE, A. M.; ORT, D. R. Leaf hydraulic conductance declines in coordination with photosynthesis, transpiration and leaf water status as soybean leaves age regardless of soil moisture. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 22, p. 6617-6627, 2014.

NOREEN, S.; MAHMOOD, S.; FAIZ, S.; AKHTER, S. Plant Growth Regulators for Cotton Production in Changing Environment. In: AHMAD, S.; HASANUZZAMAN, M (ed.). **Cotton production and uses**. Springer Nature: Singapore, 2020. p. 119-144.

PETERSEN, K. L.; FUCHS, M.; MORESHET, S.; COHEN, Y.; SINOQUET, H. Computing Transpiration of Sunlit and Shaded Cotton Foliage under Variable Water Stress. **Agronomy Journal**, [s. l.], v. 84, p. 91-97, 1992.

RAPHAEL, J. P. A.; CALONEGO, J. C.; MILORI, D. M. B. P.; ROSOLEM, C. A. Soil organic matter in crop rotations under no-till. **Soil and Tillage Research**, [s. l.], v. 155, p. 45-53, 2016.

RESENDE, M. A. V. D.; FREITAS, J. A. D.; LANZA, M. A.; RESENDE, M. D. V. D.; AZEVEDO, C. F. Divergência genética e índice de seleção via BLUP em acessos de algodoeiro para características tecnológicas da fibra. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 3, p. 334-640, 2014.

ROCHESTER, I. J. Nutrient uptake and export from an Australian cotton field. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, [s. l.], v. 77, p. 213-233. 2007.

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

ROSOLEM, C. A.; BOGIANI, J. C. Nutrição e estresses nutricionais em algodoeiro. *In*: ECHER, F.R. (ed.). **O algodoeiro e os estresses abióticos temperatura, luz, água e nutrientes**. Cuiabá: IMAmt, 2014. (Boletim de P&D, 1), cap. 4, p. 103-121.

ROSOLEM, C. A.; QUAGGIO, J. A.; SILVA, N. M. Algodão, Amendoim e Soja. *In*: FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P.; RAIJ, B. V.; ABREU, C. A. (ed.). **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: CNPq: FAPESP: POTAFOS, 2001. p. 321-354.

SALEEM, M.; WAHID, M. A.; BASRA, S. M. A.; RANJHA, A. M. Influence of soil applied boro non the boll retention, productivity and economic returns of different cotton genotypes. **International Journal of Agriculture e Biology**, Paquistão, v. 18, n. 1, p. 68-72. 2016.

SANTOS, A.; MATOS, E. S.; FREDDI, O. S.; GALBIERI, R.; LAL, R. Cotton production systems in the Brazilian Cerrado: the impact of soil attributes on field-scale yield. **European Journal of Agronomy**, [s. l.], v. 118, 2020.

SILVA, R. C.; BAIRD, R.; DEGRYSE, F.; MCLAUGHLIN, M. J. Slow and fast-release boron sources in potash fertilizers: spatial variability, nutrient dissolution and plant uptake. **Soil Fertility & Plant Nutrition**, [s. l.], v. 82, n. 6, p. 1437-1448, 2018.

SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M. Manejo das principais doenças do algodoeiro no cerrado brasileiro. *In*: FREIRE, E. C. (ed.). **Algodão no cerrado do Brasil**. 2. ed. Aparecida de Goiânia: Mundial Gráfica, 2011. p. 567-612.

TARIQ, M.; MOTT, C. J. B. The significance of boron in plant nutrition and environment: a review. **Journal of Agronomy**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 1-10. 2007.

ZHAO, D.; OOSTERHUIS, D. M. Cotton carbon exchange, nonstructural carbohydrates, and boron distribution in tissues during development of boron deficiency. **Field Crops Research**, [s. l.], v. 78, n. 1, p. 75-87, 2002.

ZUCCARINI, P. Effects of silicon on photosynthesis, water relations and nutrient uptake of (*Phaseolus vulgaris*) under NaCl stress. **Biologia Plantarum**, República Tcheca, v. 52, n. 1, p. 157-160, 2007.

CAPÍTULO 6

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA CANA-DE-AÇÚCAR RELACIONADOS AO SISTEMA PRODUTIVO E QUALIDADE DA MATÉRIA PRIMA

Paulo Alexandre Monteiro de Figueiredo

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Lucas Aparecido Manzani Lisboa

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Sérgio Bispo Ramos

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Ronaldo da Silva Viana

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Resumo

Os fenômenos responsáveis pela vida das plantas têm sido exaustivamente desvendados e analisados por especialistas. Porém, somente nas últimas décadas é que os pesquisadores, através da utilização de equipamentos de alta resolução e técnicas especiais, têm encontrado respostas para diversas situações relacionadas às produções agrícola e industrial. Uma vez estabelecidas nas áreas de cultivo, as plantas exploram o ambiente na tentativa de terem supridas as suas necessidades de absorção de água, nutrientes, gás carbônico, dentre outros. Seu metabolismo autotrófico, ou seja, com capacidade de produzir seu próprio alimento, está atrelado, fundamentalmente, na captação de luz em quantidade considerável. Além disso, cada organismo tem certos limites de tolerância para a temperatura metabólica, determinados por suas adaptações particulares, que podem variar desde a temperaturas muito baixas, até àquelas consideradas extremamente altas. De forma particular, os seres vivos respondem melhor às reações metabólicas quando em faixas ótimas de temperatura. A água é a substância mais abundante na superfície terrestre, além de ser uma das mais importantes, em função de sua extrema essencialidade para a existência da vida nas suas diferentes formas. Ainda, dentre os fatores extremamente importantes estão os hormônios vegetais. Hormônios são compostos orgânicos elaborados em diversas partes do indivíduo, que ocorrem de forma natural e com função não nutriente. São moléculas pequenas, de fácil penetração nas células, com capacidade de promover, inibir ou modificar processos morfológicos e fisiológicos nos organismos. Assim, a interação entre diversos fatores contribui para que grandes produtividades sejam alcançadas, pois uma lavoura cultivada em condições ambientais favoráveis tem maior possibilidade de aproveitamento dos insumos aplicados. Como consequência, busca-se conseguir uma maior produtividade agrícola e a diminuição da área plantada, sem considerar o aumento da longevidade dos canaviais e a melhoria constante da qualidade da matéria prima a ser processada pela indústria.

1 INTRODUÇÃO

A partir de meados do século passado, juntamente com a descoberta do ácido desoxirribonucleico (DNA), material bioquímico que constitui o gene, a biologia moderna iniciou uma nova fase, que até hoje modifica, de maneira considerável, o panorama da vida terrestre, inclusive a vegetal. Essas mudanças têm tido o propósito de cada vez mais, promover rápidas transformações científicas e tecnológicas em todos os setores produtivos da sociedade, de forma particular, a agroindústria sucroenergética. Os fenômenos responsáveis pela vida das plantas têm sido exaustivamente desvendados e analisados pelos especialistas. Porém, somente nas últimas décadas é que os pesquisadores, através da utilização de equipamentos de alta resolução e técnicas especiais, têm encontrado respostas para as diversas situações relacionadas com as produções agrícola e industrial. Dentro desse contexto está a Fisiologia Vegetal, ciência que estuda os mecanismos de controle e regulação, e que envolvem, dentre outros, princípios de Citologia, Bioquímica, Anatomia e Morfologia Vegetal.

No corpo vegetal, a todo instante, estão ocorrendo infinitas combinações de síntese e degradação de compostos orgânicos, que, de maneira extremamente ordenada, desencadeiam uma sequência de reações responsáveis pela produção vegetal (AMABIS; MARTHO, 1994).

Para melhor entender os processos de crescimento e desenvolvimento, é fundamental o completo conhecimento do metabolismo, conjunto de reações químicas que acontecem ao nível celular; e que são indispensáveis para o perfeito funcionamento dos seres vivos e de suas atividades, que ocorrem internamente nos órgãos vegetais.

Em decorrência de sua posição de destaque, a cultura da cana-de-açúcar está inserida em diversos programas de melhoramento, que visam a incorporação de características de grande interesse agrônomo, como resistência a pragas e doenças, maior produção de colmos e aumento do teor de sacarose, como resposta ao aumento da qualidade da matéria prima. Os passos para a implantação, condução e colheita de um canavial devem sempre direcionar para a escolha de variedades que possuam características desejáveis, nas diferentes fases de desenvolvimento vegetativo, de modo a possibilitar crescentes retornos do investimento agrícola. Aliado a esse fato, com o auxílio da biotecnologia, a produção em larga escala de mudas de cana-de-açúcar com qualidade e homogeneidade pode gradativamente ser ampliada e aplicada ao setor, de modo a contribuir com o processo produtivo.

É importante destacar que, para cada variedade, deve ser observado o ambiente de produção, ou seja, o clima, o solo, os recursos naturais e demais condições de implantação, para que as respostas fisiológicas sejam as mais favoráveis possíveis. Outro importante ponto que envolve os conhecimentos fisiológicos da cultura da cana-de-açúcar é a busca do espaçamento ideal, capaz de promover a maior produtividade de colmos por

área. É imprescindível conhecer as respostas do vegetal quando submetido a situações de adensamento, e assim determinar os limites de cultivo. Da mesma forma, a partir do domínio do potencial produtivo de cada variedade, é possível realizar um ajuste nutricional e possibilitar a maior produtividade da lavoura, uma vez que as respostas das variedades à adubação podem ser diferentes quando expostas ao meio de produção.

Sendo assim, nas lavouras de cana-de-açúcar, os resultados obtidos pela tecnologia moderna têm sido amplamente utilizados na adequação das práticas agrícolas. Mais recentemente, tem crescido o interesse pela manipulação genética, o que possibilita o surgimento de organismos geneticamente modificados.

No entanto, importantes pilares têm sido exaustivamente estudados, como os efeitos provocados pela luz, temperatura, umidade e os hormônios nas plantas, de modo a contribuir para um significativo avanço da qualidade da matéria prima vegetal, o que pode resultar em maiores patamares quanto à produtividade agroindustrial (ALFONSI *et al.*, 1987).

Afinal, as plantas podem aclimatar-se às constantes mudanças que ocorrem no ambiente, capazes de alterar de forma direta e indireta a sua morfologia ou fisiologia (TAIZ; ZEIGER, 2004).

2 EFEITOS FISIOLÓGICOS DA LUZ NA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR

Os vegetais, devido às suas características particulares, e até mesmo por não se deslocarem, apresentam uma grande dependência dos fatores disponíveis no meio, responsáveis por garantir sua sobrevivência. Uma vez estabelecidas nas áreas de cultivo, as plantas exploram o ambiente na tentativa de terem supridas as suas necessidades de absorção de água, nutrientes, gás carbônico, dentre outros. Além disso, seu metabolismo autotrófico, ou seja, com capacidade de produzir seu próprio alimento, está atrelado, fundamentalmente, na captação de luz em quantidade considerável. Dessa maneira, os vegetais constituem uma importante via de entrada da energia solar nos sistemas biológicos.

A luz que chega até à superfície terrestre se apresenta na forma de radiações com diferentes comprimentos, que são as distâncias compreendidas entre as cristas de duas ondas consecutivas. É interessante destacar que, quanto menor o comprimento de onda, maior é a energia da radiação. A grande maioria das radiações de ondas curtas é absorvida na camada de ozônio e pelo oxigênio presente no ar. Por outro lado, os comprimentos de onda mais longos, menos energéticos, são absorvidos de acordo com a concentração de vapor d'água e gás carbônico na atmosfera.

A essência da fotossíntese pode ser dividida em etapas que ocorrem no interior das células vegetais, mais precisamente em organelas denominadas cloroplastos, que contêm clorofila, pigmento que desencadeia todo o

processo no qual a energia luminosa é transformada em energia química (AMABIS; MARTHO, 1994).

Na verdade, os vegetais não são formados somente pela coloração verde predominante, mas também por outros pigmentos além da clorofila, muitas vezes ocultos e que possibilitam, em função da diversidade de cores, o aumento da capacidade de recepção da luz incidente. Os vegetais também absorvem e emitem radiações térmicas, que possuem comprimentos de onda acima de 4.000 nanômetros. Morfologicamente, a cana-de-açúcar possui arranjos específicos de feixes vasculares que otimizam o aproveitamento de gás carbônico pelo vegetal. Ademais, seus cloroplastos armazenam pouco amido e são mais adaptados ao processo fotossintético, por possuírem maiores grana, estruturas de armazenamento de clorofila.

A luz é imprescindível em uma das fases chamada fotoquímica, constituída por reações que incluem a quebra de moléculas de água. A energia luminosa também proporciona a agitação das partículas de clorofila, o que gera uma corrente de elétrons capaz de promover a formação de adenosina tri-fosfato (ATP) composto fosforilado altamente energético. Os fosforilados são utilizados como transportadores de energia para a formação de açúcares em outra fase, que é a bioquímica (TAIZ; ZEIGER, 2004). Nessa última, ocorre a formação da glicose, que resumidamente contém a energia primária da luz.

De maneira geral, quase metade da radiação proveniente do sol encontra-se dentro de uma faixa compreendida no espectro visível, conhecida como radiação fotossinteticamente ativa (RFA). A variação de luz nessa faixa oscila entre as colorações violeta, com aproximadamente 400 nanômetros, e a vermelha, com 700 nanômetros. Portanto, a cor violeta possui quase o dobro de energia do que a luz vermelha. Como ilustração, é o que acontece com os fornos de micro-ondas, que aquecem rapidamente as substâncias por propiciarem o impacto de inúmeras radiações que têm como característica uma pequena distância entre as cristas de duas ondas, conforme já citado. Por outro lado, as ondas de rádio ou televisão, que possuem uma grande distância entre as cristas, a todo instante alcançam as superfícies das matérias, no entanto, sem causar nenhum aquecimento. Próximo à faixa de absorção da radiação fotossinteticamente ativa estão os comprimentos chamados de ultravioleta, com aproximadamente 300 nanômetros e radiações infravermelhas, acima de 750 nanômetros.

No decorrer da passagem da radiação luminosa pelas folhas, sua intensidade diminui gradativamente, uma vez que ela atravessa sucessivas camadas de células que compõem os tecidos. Parte da radiação recebida é absorvida pelos pigmentos, que formam verdadeiros conjuntos denominados fotossistemas, cuja função é concentrar e otimizar a energia da luz. Obviamente, a intensidade luminosa fora dos limites aceitos pelos vegetais, assim como o tempo de exposição aos comprimentos de onda inadequados, faz com que a

capacidade fotossintética das plantas seja afetada. Para completar, o excesso de radiações com baixo comprimento de ondas pode alterar a composição química dos tecidos e conteúdos foliares. Caso isso ocorra, a consequência direta é a diminuição da produção agrícola, devido aos possíveis desarranjos provocados.

Conforme já exposto, na cultura da cana-de-açúcar a luminosidade é um dos fatores de grande relevância, pois sob alta intensidade de luz, diversos hormônios promovem, entre outras vantagens, o alongamento dos colmos e maior formação de perfilhos. Além disso, nessas condições, os colmos formados são mais grossos, apesar de ligeiramente mais curtos; as folhas são mais largas e com maior intensidade da coloração verde, característica das variedades cultivadas. Portanto, para melhor aproveitamento de seu potencial genético, a cana-de-açúcar deve ser explorada em terrenos ou locais que possuam uma considerável exposição à luz, sempre que possível (DINARDO-MIRANDA; VASCONCELOS; LANDELL, 2008).

3 EFEITOS FISOLÓGICOS DA TEMPERATURA NA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR

Cada organismo tem certos limites de tolerância para temperaturas ambientais e corporais, determinados por suas adaptações particulares, que podem variar desde as muito baixas, até aquelas consideradas extremamente altas. De forma particular, os seres vivos respondem melhor às reações metabólicas quando em faixas ótimas de temperatura. Estando as mesmas acima do limite tolerado por determinada espécie, por um período prolongado, pode haver comprometimento de seus diferentes estágios de crescimento e desenvolvimento. Células em baixa atividade ou na presença de constituintes de tecidos desidratados, como é o caso de sementes ou grãos de pólen, podem sobreviver a temperaturas muito mais altas quando comparadas com as mesmas estruturas hidratadas ou em fases de crescimento acelerado. É interessante destacar que, tecidos com crescimento ativo raramente sobrevivem em condições acima de 45°C, uma vez que a maior parte das estruturas vegetais é incapaz de suportar uma exposição demasiada a temperaturas elevadas. Em geral, apenas seres unicelulares podem completar seu ciclo de vida sob temperaturas maiores que 50°C.

O estresse térmico pode levar diversas enzimas à desnaturação, que é a perda de suas estruturas originais, de modo a desfigurar as regiões de encaixe nos compostos participantes das reações químicas. Esse efeito conduz à perda da atividade funcional da enzima.

A fotossíntese, também em função da desnaturação proteica, é um dos fenômenos mais afetados, principalmente nas fases iniciais do ciclo vegetal. Nessas condições, fica prejudicado o transporte de elétrons, que normalmente ocorre nos fotossistemas I e II, formado pela sequência de inúmeras reações

químicas que, a partir da excitação das moléculas de clorofila pela luz, permite a produção de energia que será utilizada nas reações de fixação do carbono para a formação de glicose e demais carboidratos.

De forma similar, temperaturas extremas podem afetar diretamente a cadeia de transporte de elétrons na respiração, que também tem como objetivo a formação de energia. A respiração além do necessário compromete o acúmulo de reservas, utilizando-as mais intensamente, caso extremamente indesejável na cultura da cana-de-açúcar quando em fase de armazenamento de sacarose nos tecidos parenquimáticos do colmo.

Com o aumento da temperatura, a solubilidade do CO₂ é afetada, o que diminui sua difusão na planta e reduz sua disponibilidade para as reações fotossintéticas. Nessas condições, a fotossíntese é inibida muito antes da respiração, prejudicando o suprimento de carbono utilizado para a formação de carboidratos, tendo como consequência a perda de açúcares.

Percebe-se que o desequilíbrio entre fotossíntese e respiração é uma das principais razões dos efeitos deletérios das temperaturas altas a que podem ser submetidos os vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Nas plantas, a tolerância às temperaturas mais altas está associada ao maior grau de saturação de ácidos graxos presentes nas membranas celulares, cuja composição é predominantemente lipoproteica. Nos compostos orgânicos, a saturação, ou seja, a presença de simples ligações entre os átomos de carbonos faz com que os mesmos fiquem mais próximos uns dos outros, o que torna as membranas menos fluidas.

Em temperaturas altas, há uma diminuição da força entre as ligações de hidrogênio e das interações entre os grupos de proteínas. Nesse caso, a estabilidade de membranas celulares pode ser comprometida, devido à descaracterização dos componentes lipídicos, fundamentais para sua integridade. Assim, havendo alteração da composição, pode ocorrer, entre outros problemas, a perda de íons para o meio externo.

A presença de ceras e tricomas, ou pelos refletivos, são importantes adaptações que os vegetais possuem, a fim de que tenham maior resistência ao calor. Para que ocorra um resfriamento natural, as plantas contam com os efeitos benéficos proporcionados pela transpiração, que reduz a temperatura foliar. Sob luz solar plena, a superfície das folhas pode rapidamente alcançar entre 4 a 5°C acima da temperatura ambiente. Quando necessário, as plantas promovem um enrolamento das folhas e, dependendo da espécie ou variedade, apresentam uma orientação foliar vertical favorável à proteção contra o calor. No caso da cana-de-açúcar, um fator negativo é o tamanho das folhas, que, em função de sua grande superfície de contato, estão mais expostas às variações de temperatura do ambiente.

Devido ao seu potencial genético, a cana-de-açúcar, que possui metabolismo C₄, é mais adaptada às regiões com temperaturas mais elevadas.

Portanto, fazem uso de forma mais eficaz da energia disponível, pois seu aparato fotossintético é melhor constituído, quando comparada com as plantas do tipo C3 (DINARDO-MIRANDA; VASCONCELOS; LANDELL, 2008).

O cultivo da cana-de-açúcar em regiões que possuem uma adequada faixa de temperatura, associada à uma luminosidade abundante, geralmente conduz as lavouras a favoráveis respostas, que se reflete em uma desejável expansão foliar, permitindo assim melhores condições de recepção da radiação solar.

Porém, a exposição das plantas a temperaturas acima de 35°C por períodos prolongados, pode levar à um perfilhamento lento. Como é sabido, a fase de perfilhamento é uma das fases fundamentais para o fechamento das entrelinhas, diretamente influenciada pelos fatores do meio (CASTRO, 2016).

4 EFEITOS FISIOLÓGICOS DA ÁGUA NA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR

A água é a substância mais abundante na superfície terrestre, além de ser uma das mais importantes, graças à sua extrema essencialidade para a existência da vida nas suas diferentes formas. É elemento chave na manutenção da estrutura de moléculas orgânicas como proteínas, enzimas, ácidos nucleicos, polissacarídeos e outros constituintes celulares.

A água é também componente fundamental para a manutenção da integridade funcional de moléculas que formam as células, membranas, organelas, tecidos, órgãos e organismos. É considerada um essencial solvente que atua como veículo para a difusão de gases, minerais e outros solutos que, constantemente, entram e saem das células permitindo o transporte de substâncias pelos tecidos.

Segundo Figueiredo (2019), a água participa ativamente da fotossíntese, reações de hidrólise, ionização e muito mais. É reagente de numerosas reações químicas e bioquímicas, como acontece na conversão da sacarose em moléculas menores na cana-de-açúcar. Ainda, a água influencia na divisão celular por afetar a síntese dos ácidos desoxirribonucleico e ribonucleico, respectivamente DNA e RNA, imprescindíveis na síntese de proteínas.

É interessante destacar que as moléculas orgânicas se encontram hidratadas em seu estado natural, fato essencial para a manutenção de suas estruturas e atividade. É por esse motivo que, se a água for removida rapidamente da parte viva da célula ocorre um colapso em função da desnaturação irreversível das proteínas.

Tecidos com grande disponibilidade hídrica dificilmente sofrem mudanças bruscas de temperatura, uma vez que a água tem propriedades termorreguladoras, promovendo significativa estabilidade térmica por possui

alto calor específico, ou seja, a água precisa absorver muita energia para aumentar sua temperatura. De forma contrária, para baixar sua temperatura, a água necessita liberar muita energia, possibilitando às plantas a absorção de quantidades relativamente altas de radiação solar. Dessa maneira, a transpiração possui efeito refrigerante, contribuindo com a dissipação do calor absorvido diretamente do sol. Por todos esses motivos, a água é considerada um solvente universal.

De maneira geral, uma célula fisiologicamente ativa necessita de um ambiente interno com aproximadamente 89% de água para ocorrência das reações químicas, uma vez que todos os processos fisiológicos ligados a ela são, direta ou indiretamente, afetados pela sua disponibilidade. Dessa forma, as atividades metabólicas estão atreladas ao teor de água da parte viva celular.

Em células vegetais adultas, o citoplasma ocupa somente cinco por cento do volume total da célula, sendo o restante preenchido pelo vacúolo, organela que armazena grande quantidade de água. Ao nível dos tecidos, o teor de água pode variar, por causa da diferença entre os órgãos que constituem as plantas, da sua idade, ou do seu estágio fisiológico. Plantas hortícolas, por exemplo, que exibem muitas folhas, contêm cerca de 90% de água. Em árvores, das quais o tronco é formado principalmente por células mortas, o teor de água é menor. Sementes, em geral, apresentam baixo teor de água, pois a atividade metabólica é pequena. Essa característica é fundamental para diminuir a possibilidade de crescimento do embrião, que é o resultado da germinação, ainda estando a semente na planta.

Na cana-de-açúcar, o teor de água também varia de acordo com os fatores já citados e nas fases iniciais da cultura, varia em torno de 80-90%. Por ocasião da colheita, em condições normais, esse valor diminui para cerca de 70%, ou seja, em cada tonelada de matéria prima existem setecentos quilos de água, demonstrando que a lavoura de cana-de-açúcar é um grande reservatório natural desse solvente. Vale lembrar que injúrias e rachaduras na cutícula e superfície das folhas causadas por ventos, pragas ou moléstias, podem aumentar a perda de água pelo vegetal. Tecidos secos geralmente estão mortos ou dormentes, devido à baixa disponibilidade de água, o que impede a ocorrência das reações vitais e prejudica o desenvolvimento vegetal.

Para a manutenção da turgescência das células que compõem as folhas, a água é também indispensável, pois permite que a planta se mantenha ereta e, ainda, com os estômatos abertos, facilita a transpiração e trocas de gases com o meio. Isso ocorre devido às forças de coesão entre as moléculas de água, de sua adesão com as superfícies sólidas e da tensão superficial que colabora para a sua penetração nos espaços intercelulares (FIGUEIREDO, 2013).

O solo, além de servir de suporte às plantas, é o reservatório natural de nutrientes e água, que ocupa os vazios entre as partículas sólidas. A

disponibilidade de água influi na turgescência das raízes e, conseqüentemente, na sua penetração no substrato. O conteúdo de água nas plantas varia em função das oscilações da umidade que o solo apresenta, associadas às taxas de transpiração vegetal. Dessa forma, o teor hídrico dos tecidos vegetais diminui quando as taxas de transpiração excedem aquelas apresentadas pela absorção. Ao contrário do que possa parecer, é desejável que as plantas percam água, pois somente assim é possível que elas tenham uma continuidade no processo de absorção.

Na cana-de-açúcar, em termos proporcionais, a transpiração aumenta gradativamente nos seis primeiros meses de desenvolvimento, pois em suas fases iniciais, as plantas formam folhas mais largas. A partir daí, a transpiração tende a se manter em níveis praticamente constantes. Logicamente, quanto maior a superfície de exposição, maior a perda de umidade e, conseqüentemente, maior a sua reposição.

Nesse contexto, a utilização de água rica em sais para fins de irrigação pode aumentar demasiadamente a quantidade de solutos do solo, prejudicando a absorção pelas raízes.

Portanto, a água é um fator determinante na decisão ou na escolha da área para a instalação de lavouras canavieiras, pois deve ser considerado que as regiões devem possuir, além de temperatura adequada, chuvas ou irrigação suficiente para suprimento das necessidades hídricas das plantas.

5 HORMÔNIOS VEGETAIS E A CANA-DE-AÇÚCAR

Para crescer, uma planta necessita de luz, dióxido de carbono, água e sais minerais que, em quantidades suficientes, promovem o aumento da sua massa e volume. Aliada ao crescimento, está a diferenciação, que é o desenvolvimento e aquisição de formas particulares, a partir da interação de inúmeros fatores internos e externos ao vegetal. Dentre os fatores extremamente importantes, como temperatura e comprimento do dia, estão os hormônios vegetais. Hormônios são compostos orgânicos elaborados em diversas partes do indivíduo, que ocorrem de forma natural e com função não nutriente. São moléculas pequenas, de fácil penetração nas células, com capacidade de promover, inibir ou modificar processos morfológicos e fisiológicos nos organismos.

Os hormônios têm suas concentrações bastante variadas e geralmente são produzidos em um tecido e transportados para outros, onde serão estimuladas respostas específicas, desde que respeitadas suas quantidades nos locais de atuação. Porém, quando aparecem em baixas ou altas concentrações, podem comprometer as principais características e funções de tecidos, órgãos ou sistemas.

Também chamados de reguladores de crescimento, os hormônios vegetais mais conhecidos são as auxinas, citocininas, etileno, ácido abscísico

e giberelinas (TAIZ; ZEIGER, 2004). Mais recentemente, outras substâncias foram descobertas, aumentando assim o grupo de elementos capazes de contribuir para o crescimento e desenvolvimento vegetal. Alguns deles são os brassinoesteróides, o ácido salicílico, jasmonatos e sisteminas. Esses últimos também proporcionam o aumento da taxa de crescimento das células vegetais, o que pode levar as plantas a incrementos de sacarose e fitomassa, fundamentais para o aumento da produtividade agroindustrial, inclusive na cana-de-açúcar.

Dentre as auxinas naturais estão os ácidos indol acético e indol butírico, sintetizados a partir do aminoácido triptofano. As auxinas têm como locais de síntese os tecidos de crescimento, chamados meristemáticos, que estão presentes em diferentes órgãos, tais como gemas em brotamento, folhas jovens, extremidades de raízes e ramos florais. As auxinas promovem o crescimento das plantas devido ao aumento da plasticidade da parede celular. Nesse caso, a secreção de íons de hidrogênio para o interior da parede celular provocada pela ação da auxina leva à quebra das ligações entre a celulose e demais moléculas. Assim, a entrada de água na célula é facilitada, provocando uma pressão sobre a parede, o que resulta em uma expansão praticamente irreversível, reforçada pela ação de enzimas específicas.

Diferentemente do que ocorre com o movimento de açúcares e outros solutos, a auxina não é transportada pelos vasos condutores, mas através das células dos tecidos de preenchimento, os parênquimas, que circundam os feixes vasculares.

É interessante destacar que o transporte de auxinas pode ocorrer em tecidos nos quais os plasmodesmas, ou pontes citoplasmáticas, tenham sido rompidos, indicando de forma marcante que essas substâncias devem mover-se pelas células através da membrana plasmática e das paredes celulares.

Embora possa haver uma movimentação de auxinas por simples difusão dentro das células, em um processo passivo e sem gasto energético, o principal mecanismo de transporte desses hormônios é o ativo, que requer energia metabólica para sua realização, ou seja com consumo de ATP, que contém basicamente os elementos carbono, nitrogênio e fósforo.

Os hormônios estão intimamente relacionados com a emergência das gemas contidas nos toletes de cana-de-açúcar por ocasião do plantio dos colmos. Após a cobertura dos toletes com terra, e estando as condições ambientais favoráveis, as gemas passam do estágio latente para o ativo, desencadeados por um complexo de alterações morfofisiológicas nos meristemas e consumo das reservas do tolete, principalmente através de ações hormonais e enzimáticas.

Quando as mudas de cana-de-açúcar possuem idade fenológica acima de dez meses, é recomendável que os colmos destinados ao plantio sejam seccionados em segmentos menores, ou seja, que contenham de três a quatro

gemas. A intenção é a eliminação da ocorrência da dominância apical, que é a inibição do crescimento das gemas ou brotações subapicais, ou laterais, nos pontos mais próximos do ápice das plantas, já que este é um importante local de síntese e de alta concentração hormonal.

A quebra da dominância também ocorre pela retirada ou morte da gema apical, que estimula novas gemas para o processo de brotação.

Uma alta intensidade luminosa promove a degradação natural de auxinas do ápice das plantas, o que reduz o alongamento excessivo dos colmos e aumenta o número de perfilhos, no caso da cana-de-açúcar. Por outro lado, condições de baixa luminosidade reduzem o perfilhamento e podem agravar os efeitos da competição da cultura com as plantas daninhas, em decorrência da menor densidade populacional de colmos por área cultivada.

Dentre as auxinas sintéticas mais conhecidas, está o ácido 2,4-diclorofenoxiacético, ou 2,4-D, comumente utilizado como herbicida seletivo para as folhas estreitas. Nas espécies de folhas largas, a presença do produto bloqueia a cadeia transportadora de elétrons nas reações que ocorrem nos cloroplastos contidos no interior das células responsáveis pela fotossíntese, levando as plantas daninhas à morte.

Além disso, o 2,4-D afeta de forma significativa as espécies dicotiledôneas, também em função de sua maior taxa de absorção e transporte, quando comparadas com as folhas estreitas, como é o caso da cana-de-açúcar. Vale destacar que, as gramíneas, ou poaceas, são muito resistentes ao 2,4-D por possuírem enzimas com capacidade de eliminar a intoxicação provocada pela molécula.

Obviamente, em condições anormais de produção hormonal, as lavouras de cana-de-açúcar não conseguem expressar sua produtividade máxima (DINARDO-MIRANDA; VASCONCELOS; LANDELL, 2008). Daí a importância do domínio da utilização de hormônios, além da identificação de suas limitações ou avanços nos diferentes estágios do ciclo de vida das culturas, como alternativas para incrementos quantitativos e qualitativos na produção.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os termos crescimento e desenvolvimento são frequentemente utilizados para a descrição das inúmeras alterações morfofisiológicas que acompanham os vegetais no decorrer dos seus ciclos vitais. As modificações que resultam no aumento irreversível das células, tecidos ou órgãos, seja em volume, peso e tamanho, são consideradas importantes formas de crescimento.

Crescer implica na ocorrência de divisão celular, caracterizada por diversas fases que culminam, em última instância, na multiplicação de células, o que logicamente influencia de forma direta na expansão do

vegetal como um todo, inclusive com o aumento da quantidade de matéria seca. Desenvolvimento define-se nas diferenciações que acontecem após seguidas divisões celulares, que provocam diferentes respostas pelo vegetal, em função das modificações apresentadas pelas próprias células, tecidos ou órgãos, seja na forma de coloração, odor, substâncias químicas, entre outras especializações.

Na cana-de-açúcar, a partir do plantio ou da brotação da soqueira, a taxa de crescimento aumenta gradualmente, até atingir um ponto considerado máximo. Após a ocorrência de um grande desenvolvimento vegetativo, há uma diminuição progressiva da velocidade de crescimento até que o ciclo seja completado, o que pode ser representado por um gráfico em curva com formato senoidal.

Com um ambiente favorável, além de outros estímulos, a partir do entumescimento das gemas presentes nos segmentos do caule, é iniciado o crescimento da parte aérea com a emissão de raiz, caule e folhas. É claro que, essa fase pode se estender além do normalmente esperado, dependendo das condições ambientais.

Sendo assim, o crescimento, o desenvolvimento e o perfilhamento são passos fundamentais para que ocorra, de maneira satisfatória, o fechamento e o sombreamento das entrelinhas da cana-de-açúcar, o que é diretamente influenciado pelo espaçamento entre as linhas de plantio e a densidade de gemas, por metro de sulco, por ocasião do plantio ou rebrota da soqueira.

Logo, os efeitos provocados pela luz, temperatura, umidade e a presença de hormônios na cana-de-açúcar são fundamentais para as características agroindustriais da matéria prima, a fim de que seja atingido, dentro do possível, o máximo do potencial produtivo das lavouras.

REFERÊNCIAS

- ALFONSI, R. R.; PEDRO JÚNIOR, M. J.; BRUNINI, O.; BARBIERI, V. Condições climáticas para cana-de-açúcar. In: PARANHOS, S. B. **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Campinas: Fundação Cargil, 1987. p. 42-55. v. 1.
- AMABIS, J. M.; MARTHO, G. R. **Biologia das células: origem da vida, citologia, histologia e embriologia**. São Paulo: Moderna, 1994. v. 1.
- CASTRO, P. R. **Fisiologia aplicada à cana-de-açúcar**. Piracicaba: Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil, 2016.
- DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. **Cana-de-açúcar**. Campinas: IAC, 2008.
- FIGUEIREDO, P. A. M. Eficiência do uso da água na cana-de-açúcar. **Revista STAB: Açúcar, Alcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 37, n. 5, p. 20-21, 2019.
- FIGUEIREDO, P. A. M. Particularidades do controle estomático. **Revista STAB: Açúcar, Alcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 31, n. 6, p. 64-65, 2013.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.



CAPÍTULO 7

ESTRATÉGIAS DE FITORREMEDIAÇÃO DE SOLO COM PRESENÇA DO HERBICIDA TEBUTHIURON NA CULTURA DE CANA-DE-AÇÚCAR

Yanca Araujo Frias

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Munick Beato Aragão

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Laura Silva Nantes

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Edivaldo Wilson de Lima

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Rafael Simões Tomaz

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Paulo Renato Matos Lopes

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Resumo

No cultivo da cana-de-açúcar, o uso de herbicidas é fundamental para o manejo de plantas daninhas e para a produtividade da cultura. Dentre os diversos agentes recomendados na prática, destaca-se o tebuthiuron. Trata-se de um herbicida seletivo, com ação para monocotiledôneas e eudicotiledôneas. A molécula é utilizada em aplicações de pré-emergência para controle das principais espécies infestantes da cultura, mas apresenta alta persistência no solo e elevado potencial tóxico. Nesse contexto, a fitorremediação surge como uma técnica eficiente e econômica na descontaminação de ecossistemas terrestres e aquáticos por meio de plantas. Essa tecnologia vem sendo amplamente aplicada em diversas pesquisas em áreas impactadas com pesticidas. Dessa maneira, este capítulo busca apresentar exemplos do emprego da fitorremediação na mitigação dos potenciais prejuízos ocasionados pelo herbicida tebuthiuron em solos agrícolas.

1 INTRODUÇÃO

No último relatório emitido pela União das Indústrias de Cana-de-açúcar (UNICA) (2021), a produção na safra 2020/2021 atingiu 598 milhões de toneladas somente na região Centro-Sul do Brasil. Esse valor de destaque provém de boas práticas de manejo e de alta tecnologia aplicada à cultura, desde a escolha do cultivar até a colheita no campo.

Com o intuito de obter alta produtividade, o controle químico é amplamente utilizado no manejo de plantas daninhas devido à sua praticidade e eficiência (SILVA *et al.*, 2018). Porém, se por um lado o massivo uso de herbicidas proporciona maior produtividade nas lavouras pelo controle de plantas daninhas, por outro, o seu potencial de contaminação ambiental também deve ser considerado na busca pelo desenvolvimento sustentável. Assim, a aplicação de pesticidas em áreas agrícolas pode representar fontes de contaminação para o solo e para as águas superficiais e subterrâneas (MENDES *et al.*, 2021).

No solo, essa contaminação refere-se, principalmente, às substâncias tóxicas que excedem a capacidade de carga, afetando a produção vegetal e animal, bem como a qualidade das águas e, conseqüentemente, a saúde e o bem-estar humano (WEI *et al.*, 2021).

Logo, técnicas que englobam eficiência de descontaminação, simplicidade e menor custo são alternativas para o tratamento de áreas impactadas por compostos orgânicos e/ou inorgânicos. Desse modo, a biorremediação apresenta-se como uma estratégia ecologicamente viável para mitigar os efeitos prejudiciais de xenobióticos por meio da utilização de organismos vivos, como microrganismos e plantas (PIRES *et al.*, 2003b).

Portanto, o tratamento de áreas com herbicidas utilizando vegetais (fitorremediação) torna-se uma importante alternativa, destacando o tebutiuron, que foi um dos primeiros herbicidas a ser estudado nessa prática no Brasil (PIRES *et al.*, 2005; PROCÓPIO *et al.*, 2009).

2 CANA-DE-AÇÚCAR NO BRASIL

Em meados da década de 1970, a cana-de-açúcar tornou-se uma das principais lavouras cultivadas no Brasil, visto que o país foi pioneiro na implantação de programas de estímulo a biocombustíveis, como o Programa Nacional do Álcool (Proálcool) (RODRIGUES; ROSS, 2020).

Nos últimos anos, a busca por fontes renováveis de energia, que possam substituir em parte ou totalmente os derivados do petróleo (ABREU; NASCIMENTO, 2016), foi ainda mais impulsionada. Assim, novos produtos e resíduos derivados do cultivo e processamento canavieiros, como a vinhaça, a torta de filtro e o bagaço, também ganharam importância no aperfeiçoamento do manejo da cultura e na geração de bioenergia (CHRISTOFOLETTI *et al.*,

2017).

Nesse contexto, o Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar com uma área plantada de 1.160,0 mil hectares na safra 2020/2021. Nesse período, foram colhidos aproximadamente 665 milhões de toneladas, gerando 42 milhões de toneladas de açúcar e 30 milhões de m³ de etanol total (CONAB, 2021). Logo, o incentivo do Proálcool promoveu novas pesquisas e tecnologias na cultura, que culminaram na crescente produtividade brasileira.

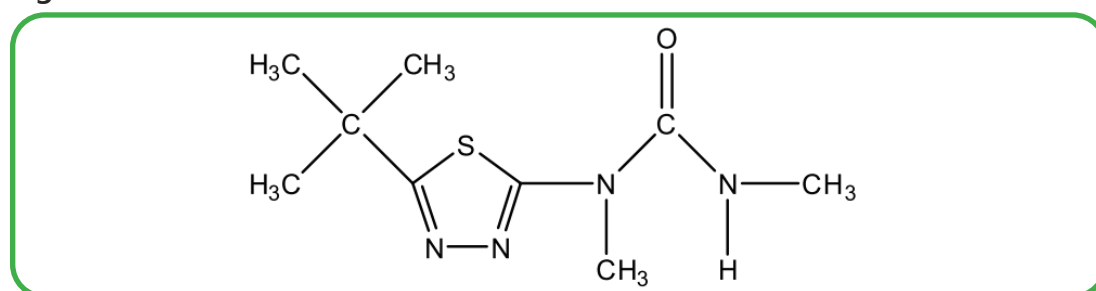
O manejo eficiente no campo envolve etapas de preparo do solo, plantio de mudas e a prevenção a problemas fitossanitários (RODRIGUES; ROSS, 2020). O principal fator biótico interferente são as plantas daninhas, as quais podem ocasionar perdas de até 85% de produtividade quando não controladas adequadamente (SABBAG *et al.*, 2017). Para isso, o controle químico com a aplicação de herbicidas é uma importante etapa na condução de um bom desenvolvimento da lavoura (SILVA *et al.*, 2018).

No Brasil, o Sistema de Agrotóxicos Fitosanitários (AGROFIT) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento informa o registro de 52 ingredientes ativos de herbicidas para a cultura da cana-de-açúcar (AGROFIT, 2021). Principalmente aplicados em pré-emergência, os herbicidas que fazem parte desse mecanismo de ação pertencem a vários grupos químicos como triazinas, triazinona, triazolinonas e ureias (TROPALDI *et al.*, 2017). Dentre elas, o tebuthiuron destaca-se como um dos produtos mais utilizados na lavoura canavieira pelo seu custo-benefício e efetividade de controle (TOFOLI *et al.*, 2009).

3 TEBUTHIURON

O tebuthiuron é um herbicida inibidor do fotossistema II (PSII) que possui ação sistêmica e pertence ao grupo químico das ureias (MENDES *et al.*, 2021). Na Figura 1 está apresentada a sua estrutura molecular (1-(5-tert-butil-1,3,4-tiadiazol-2-il) -1,3-dimetilureia), cuja ação promove o controle das seguintes espécies de plantas invasoras: *Urochloa decumbens* (Stapf) R.D. Webster, *Commelina benghalensis* L., *Digitaria horizontalis* Willd., *Panicum maximum* Jacq., etc (AGROFIT, 2021).

Figura 1. Fórmula estrutural do herbicida tebuthiuron.



Fonte: Alves, Ferreira e Lanza (2012).

Suas principais características descrevem esse produto com meia-vida ($t_{1/2}$) entre 360 a 450 dias; alta solubilidade em água (2.500 mg L⁻¹ a 25 °C); coeficiente de partição octanol-água (log K_{ow}) igual a 1,79, sendo considerado lipofílico; pressão de vapor de 0,27 mPA (25 °C); constante de dissociação (pK_a) não ionizável, o que favorece a sua mobilidade no perfil do solo (MANCUSO; NEGRISOLI; PERIM, 2011; TONIETO, 2014).

Portanto, dependendo dos parâmetros físicos e químicos da molécula e das condições de cultivo e do ambiente, o potencial de contaminação de herbicidas pode variar e ter maior risco, a depender do seu comportamento ambiental (MENDES et al., 2021).

O Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama) (2009) classifica o tebuthiuron como perigoso ao meio ambiente (Classe III), sendo altamente persistente na matriz ambiental e altamente tóxico para algas. Por possuir baixa adsorção às partículas do solo e à matéria orgânica, as aplicações sucessivas e sem o manejo adequado podem tornar seu potencial de impacto ainda maior no solo e em águas superficiais e subterrâneas (FRANCO-BERNARDES *et al.*, 2014).

Estudos avaliando os riscos da aplicação do tebuthiuron indicaram que o herbicida poderia promover altos perigos para o solo e para os ecossistemas aquáticos (QIAN *et al.*, 2017). Faria *et al.* (2018) avaliaram o comportamento do tebuthiuron em três diferentes solos brasileiros e concluíram que o herbicida lixiviou até 50 cm de profundidade, mesmo em solos com maior teor de matéria orgânica e argila, demonstrando um alto risco de periculosidade ambiental.

Além disso, essa alta toxicidade pode afetar plantas em rotação de cultura da cana-de-açúcar (FERREIRA *et al.*, 2021; FRIAS, 2021), ferramenta muito utilizada na melhoria das condições do solo com a utilização de espécies de leguminosas como meio cultural de proteção de solo e melhoraria da fertilidade através da ciclagem de nutrientes (CAMPOS, 2018).

Dessa forma, o uso contínuo de pesticidas como o tebuthiuron, em práticas agrícolas convencionais, pode ocasionar desequilíbrios ecológicos que demandam novas estratégias de cultivo e tecnologias de tratamento da área impactada.

4 BIORREMEDIAÇÃO

A biorremediação é uma abordagem prática e rentável para resolver uma vasta gama de problemas de contaminação de ambientes terrestres e aquáticos (VASILYEVA *et al.*, 2020). O processo consiste na utilização de organismos vivos com capacidade de modificar ou decompor determinados compostos poluentes. Assim, essa forma de tratamento biológico pode se basear na conversão de substâncias contaminantes e moléculas inertes a partir da ação de seres vivos (FASANELLA; CARDOSO, 2016).

Nesse sentido, as técnicas de biorremediação são classificadas como *in situ*, sendo realizadas diretamente no local contaminado, e *ex situ*, realizadas fora do local de contaminação. Ambos os processos visam a biotransformação dos contaminantes, ou seja, transformá-los em produtos com pouca ou nenhuma toxicidade, visando a sua mineralização em CO₂ e água (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010).

Os microrganismos representam os principais responsáveis nesse processo devido à extrema diversidade e complexidade enzimática. No entanto, é importante salientar o uso de algumas plantas como agentes na descontaminação em áreas com alta concentração de poluentes orgânicos e/ou inorgânicos (FRANCISCO; QUEIROZ, 2018).

Além disso, a degradação microbiana é muito empregada em compostos orgânicos como hidrocarbonetos de petróleo (VIOTTI *et al.*, 2017; BISOGNIN *et al.*, 2018). No que diz respeito aos pesticidas, Demichelli *et al.* (2018) encontraram resultados positivos no isolamento de microrganismos com potencial de degradação do herbicida glyphosate em solos da região sul do Brasil. Da mesma forma, Santos *et al.* (2019), em ensaios laboratoriais, identificaram microrganismos potencialmente degradadores do inseticida imidacloprido, com eficiência de 40% em efluente sintético de fazendas produtoras de uvas na região do Vale do São Francisco. Qu *et al.* (2018), utilizaram *Myriophyllum spicatum* na fitoextração e biodegradação de atrazina em sedimentos de um lago eutrófico. Por fim, um estudo recente de Lima (2020) demonstrou a bioprospecção de linhagens com potencial de metabolização de tebuthiuron a partir de amostras de solo cultivadas com cana-de-açúcar.

Ademais, a atividade da microbiota terrestre na degradação de poluentes pode ser estimulada pela presença de algumas espécies vegetais. Esse consórcio de organismos pode promover o crescimento microbiano, induzir a degradação de contaminantes e favorecer o cometabolismo de substâncias no solo, como os pesticidas (MELO *et al.*, 2017).

O uso de vegetais como método de tratamento denomina-se fitorremediação e trata-se de uma tecnologia simples, geralmente utilizada em sistemas *in situ*, que pode ser aplicada em ambientes terrestres ou aquáticos (YADAV *et al.*, 2018).

4.1 Fitorremediação

A fitorremediação é uma proposta inovadora como método alternativo para a remoção de poluentes orgânicos e inorgânicos, sendo o sucesso da técnica dependente da seleção criteriosa de plantas com características favoráveis (VASCONCELO *et al.*, 2020). Consequentemente, vem sendo amplamente estudada em solos brasileiros contaminados com herbicidas (PIRES *et al.*, 2003b; BELO *et al.*, 2007; MADALÃO *et al.*, 2012b; SOUTO *et al.*, 2015; GALON *et al.*, 2017; LIMA *et al.*, 2020; VASCONCELO *et al.*, 2020; FERREIRA

et al., 2021; FRIAS, 2021).

A eficiência fitorremediadora está diretamente relacionada com: a composição do solo, a capacidade da planta em extrair os compostos poluentes da matriz ambiente, e a diversidade de microrganismos associados no favorecimento desse tratamento (GALON *et al.*, 2017). Assim, as moléculas podem ser absorvidas pelas raízes das plantas e sequestradas, degradadas, imobilizadas e/ou metabolizadas por elas (DIETZ; SCHNOOR, 2001).

Baseado no acima descrito, Mishra, Kumar e Singh (2020) classificaram a fitorremediação em diferentes processos:

- a) fitoextração – bioacumulação nos tecidos vegetais, geralmente aplicada a metais pesados;
- b) rizofiltração – absorção de contaminantes lipofílicos pelas raízes;
- c) fitoestabilização - imobilização de contaminantes e conversão em compostos não solúveis, especialmente na rizosfera;
- d) fitodegradação – decomposição da molécula poluente pela ação vegetal; e
- e) fitoestimulação - degradação de contaminantes com o envolvimento de atividade microbiana com envolvimento direto ou não das plantas.

4.2 Fitorremediação aplicada a solos agrícolas com tebuthiuron

Alguns herbicidas registrados para uso na agricultura brasileira apresentam atividade residual no solo, sendo importante para uso em situações em que o período total de prevenção da interferência (PTPI) das plantas daninhas sobre as culturas é longo (PROCÓPIO *et al.*, 2009). Entretanto, ao fim do PTPI, a presença do herbicida no solo passa a ser motivo de preocupação ambiental, podendo provocar intoxicação em culturas sucessivas (*carryover*), atingir águas subterrâneas (BELO *et al.*, 2007) e causar toxicidade a organismos não-alvo (PROCÓPIO *et al.*, 2014).

Como discutido, a fitorremediação é uma alternativa viável de uso de plantas para a redução da toxidez de contaminantes no ambiente. Entretanto, no que diz respeito a solos contaminados com herbicidas, esses apresentam certas barreiras à fitorremediação quando comparados com aqueles contaminados com outros contaminantes orgânicos ou inorgânicos (PIRES *et al.*, 2003b), devido à toxicidade desses agroquímicos às plantas com potencial fitorremediador.

Diversos trabalhos recentes estudaram a aplicação da fitorremediação como tratamento de solos com presença de herbicidas, tais como: sulfentrazone (ALVES *et al.*, 2019; MADALÃO *et al.*, 2012a); atrazina, clorimuron-etil e sulfometuron-metil (GALON *et al.*, 2017); fomesafen (ALVES *et al.*, 2019); dentre outros.

Com relação ao tebuthiuron, Pires *et al.* (2003a) estudaram 10 espécies vegetais e revelaram que apenas *Canavalia ensiformis* e *Stizolobium deeringianum* apresentam tolerância na dose de 1,0 kg ha⁻¹ do herbicida, pois foram observados menores sintomas de toxicidade e menor efeito sobre o seu desenvolvimento.

Em uma pesquisa posterior, Pires *et al.* (2005) avaliaram a atividade rizosférica das duas espécies (*C. ensiformis* e *E. deeringianum*), além de *Pennisetum glaucum* e *Stizolobium aterrimum*, com o intuito de fitorremediação de solo com tebuthiuron. Seus resultados revelaram que a espécie *C. ensiformis* apresentou a maior taxa de evolução de CO₂ em relação às demais espécies, seguido de *E. aterrimum* na dose recomendada pela bula.

O mesmo grupo de pesquisa deu sequência às suas descobertas recomendando o emprego de quatro espécies vegetais na fitorremediação de solo com até 1,0 kg ha⁻¹ de tebuthiuron: *Canavalia ensiformis*, *Cajanus cajan*, *Stizolobium aterrimum* e *Lupinus albus* (PIRES *et al.*, 2008).

Da mesma maneira, Mendes *et al.* (2020) avaliaram a fitorremediação de solos com os herbicidas quinclorac e tebuthiuron utilizando *Crotalaria spectabilis*, *Canavalia ensiformis*, *Stizolobium aterrimum* e *Lupinus albus*. Os autores constataram que as quatro espécies analisadas foram mais eficientes na absorção de tebuthiuron do que o quinclorac. Além disso, foi concluído que *C. ensiformis* demonstrou maior eficiência em remediar as amostras de solo quando comparada às outras plantas.

Nesse sentido, espécies vegetais que associam benefícios agronômicos e ambientais representam uma importante ferramenta no planejamento de rotação de cultura com a cana-de-açúcar (FERREIRA *et al.*, 2021; GALON *et al.*, 2017; VASCONCELO *et al.*, 2020). Em estudo recente, Ferreira *et al.* (2021) demonstraram que o cultivo associado de milheto (*Pennisetum glaucum*) e da leguminosa mucuna-cinza (*Mucuna pruriens*) pode promover ganhos em biomassa vegetal e incorporação de nitrogênio quando utilizado em solos com tebuthiuron e vinhaça.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização da fitorremediação para o tratamento de solos agrícolas com pesticidas como o tebuthiuron é uma ferramenta comprovadamente eficaz, econômica e sustentável. Entretanto, análises prévias sobre as características físico-químicas do solo e sobre a substância contaminante devem ser realizadas para fomentar a tomada de decisão quanto às estratégias de tratamento a serem adotadas.

Logo, interferências negativas no comportamento ambiental do agroquímico e/ou no desenvolvimento da espécie vegetal podem ser controladas ou minimizadas, aumentando a capacidade de descontaminação. Paralelamente, considera-se fundamental a determinação do potencial

ecotoxicológico da área impactada antes e após o tratamento para evidenciar o sucesso do processo de fitorremediação.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Grupo de Ação em Impactos Ambientais da FCAT/Unesp (GAIA), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Processo 2019/24036-0).

REFERÊNCIAS

- ABREU, Y. D.; NASCIMENTO, H. R. A produção da cana-de-açúcar e de etanol nas novas fronteiras agrícolas: o estado do Tocantins. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 17, n. 27, p. 1-118, 2016.
- AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento, 2021. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 01 de março de 2021.
- ALVES, S. A.; FERREIRA, T. C. R.; LANZA, M. R. V. Oxidação eletroquímica do herbicida tebutiuron utilizando eletrodo do tipo DSA. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 10, p. 1981-1984, 2012.
- ALVES, C.; GALON, L.; HOLZ, C. M.; KAIZER, R. R.; WINTER, F. L.; CONCENÇO, G.; NONEMACHER, F.; PERIN, G. F. Características fisiológicas de plantas hibernais com potencial fitorremediador sob influência dos herbicidas fomesafen e sulfentrazone. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 18, n. 1, p. 1-12, 2019.
- ANDRADE, J. A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I. C. S. F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 17-43, 2010.
- BELO, A. F.; SANTOS, E. A.; SANTOS, J. B.; FERREIRA, L. R.; SILVA, A. A.; CECON, P. R.; SILVA, L. L. Fitorremediação de solo adubado com composto orgânico e contaminado com trifloxysulfuron-sodium. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 2, p. 251-258, 2007.
- BISOGNIN, R. P.; LÓPEZ, D. A. R.; MULLER, M. V. G.; RIEGER, A. Análise do potencial microbiano de uma biopilha na biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 3, p. 517-526, 2018.
- CAMPOS, L. H. F. **Resíduos de herbicidas aplicados em cana-de-açúcar afetando adubos verdes e a cultura da soja em rotação**. 2018. 91 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Tabelas de dados: produção e análise de mercado de cana-de-açúcar** Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar. Brasília, 2021. Disponível em: https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/37154_46ae502e89c1758a383a86f61ae1f933. Acesso em: 07 de junho de 2021.

CHRISTOFOLETTI, C. A.; SOUSA, C. M.; SOUZA, R. B.; FRANCISCO, A.; GASTALDI, V. D. O emprego de diferentes resíduos utilizados como fertilizantes na cultura de cana-de-açúcar. In: FONTANETTI, C. S.; BUENO, O. C. **Cana-de-açúcar e seus impactos: uma visão acadêmica**. Bauru: Canal 6, 2017.

DEMICHELLI, F. N.; MOURA, G. S.; FRANZENER, G.; BITENCOURT, T. B.; PASSOS, C. T.; CAZAROLLI, L. H. Caracterização de microrganismos isolados de solo contaminado com Glifosato na região sul do Brasil. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO, 6.; CONGRESSO BRASILEIRO, 10.; SEMINÁRIO DO DF E ENTORNO, 5., 2017, Brasília. **Anais** [...]. Cadernos de Agroecologia, [s. l.], v. 13, n. 1, 2018.

DIETZ, A. C.; SCHNOOR, J. L. Advances in phytoremediation. **Environmental Health Perspectives**, Durham, v. 109, n. supl., p. 163-168, 2001.

FARIA, A. T.; SOUZA, M. F.; PASSOS, A. B. R. J.; SILVA, A. A.; SILVA, D. V.; ZANUNCIO, J. C.; ROCHA, P. R. R. Tebuthiuron leaching in three Brazilian soils as affected by soil pH. **Environmental Earth Sciences**, [s. l.], v. 77, n. 214, p. 1-12, 2018.

FASANELLA, C. C.; CARDOSO, E. J. B. N. Biorremediação. In: ANDREOTE F. D.; CARDOSO, E. J. B. N. (org.). **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba: ESALQ, 2016. v. 1, p. 197-210.

FERREIRA, L. C.; MOREIRA, B. R. A.; MONTAGNOLLI, R. M.; PRADO, E. P.; VIANA, R. S.; TOMAZ, R. S.; CRUZ, J. M.; BIDOIA, E. D.; FRIAS, Y. A.; LOPES, P. R. M. Green manure species for phytoremediation of soil with tebuthiuron and vinasse. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, [s. l.], v. 8, p. 1-13, 2021.

FRANCO-BERNARDES, M. F.; MASCHIO, L. R.; AZEREDO-OLIVEIRA, M. T. V.; ALMEIDA, E. A. Biochemical and genotoxic effects of a commercial formulation of the herbicide tebuthiuron in *Oreochromis niloticus* of different sizes. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, Vale do Itajaí, v. 9, n. 1, p. 59-67, 2014.

FRANCISCO, W. C.; QUEIROZ, T. M. DE. Biorremediação. **Nucleus**, Ituverava, v. 15, n. 1, p. 249-256, 2018.

FRIAS, Y. A. **Desempenho de *Mucuna pruriens* na fitorremediação de solo com vinhaça e tebuthiuron**. 2021. 71 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2021.

GALON, L.; NONEMACHER, F.; AGAZZI, L. R.; FIABANE, R. C.; FORTE, C. T.; FRANCESCHETTI, M. B.; PERIN, G. F. Fitorremediação de solo contaminado com herbicidas inibidores de FSII e de ALS. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 16, n. 4, p. 307-324, 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Manual para requerimento de avaliação ambiental: agrotóxicos e afins**. Brasília, DF: Ibama, 2009. Disponível em: <http://ibama.gov.br/sophia/cnia/livros/ManualparaRequerimentodeAvaliacaoAmbiental.pdf>. Acesso em: 01 de março de 2021.

LIMA, E. W. **Metabolismo microbiano de isolados de solos cultivados com cana-de-açúcar na presença de tebuthiuron**. 2020. 53 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2020.

MADALÃO, J. C.; PIRES, F. R.; CARGNELUTTI FILHO, A.; NASCIMENTO, A. F.; CHAGAS, K.; PROCÓPIO, S. O.; ARAÚJO, R. S.; BONOMO, R.; TAUFNER, G. A. Seleção de espécies tolerantes ao herbicida sulfentrazone com potencial para a fitorremediação de solos contaminados. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 2199-2214, 2012b.

MADALÃO, J. C.; PIRES, F. R.; CHAGAS, K.; CARGNELUTTI FILHO, A.; PROCÓPIO, S. O. Uso de leguminosas na fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 4, p. 390-396, 2012a.

MANCUSO, M. A. C.; NEGRISOLI, E.; PERIM, L. Efeito residual de herbicidas no solo ("Carryover"). **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 10, n. 2, p. 151-164, 2011.

MELO, C. A. D.; SOUZA, W. M.; CARVALHO, F. P.; MASSENSINI, A. M.; SILVA, A. A.; FERREIRA, L. R.; COSTA, M. D. Microbial activity of soil with sulfentrazone associated with phytoremediator species and inoculation with a bacterial consortium. **Bragantia**, Campinas, v. 76, n. 2, p. 300-310, 2017.

MENDES, K. F.; MASET, B. A.; MIELKE, K. C.; SOUSA, R. N.; MARTINS, B. A. B.; TORNISIELO, V. L. Phytoremediation of quinclorac and tebuthiuron-polluted soil by green manure plants. **International Journal of Phytoremediation**, [s. l.], v. 23, n. 5, p. 474-481, 2020.

MENDES, K. F.; WEI, M. C. F.; FURTADO, I. F.; TAKESHITA, V.; PISSOLITO, J. P.; MOLIN, J. P.; TORNISIELO, V. L. Spatial distribution of sorption and desorption process of ¹⁴C-radiolabelled hexazinone and tebuthiuron in tropical soil. **Chemosphere**, [s. l.], v. 264, p. 1-11, 2021.

MISHRA, S. K.; KUMAR, P. R.; SINGH, R. K. Transgenic plants in phytoremediation of organic pollutants. In: PANDEY, V. C.; SINGH, V. (ed.). **Bioremediation of Pollutants**. [S. l.]: Elsevier, 2020. p. 39-56.

PIRES, F. R.; PROCÓPIO, S. O.; SANTOS, J. B.; SOUZA, C. M.; DIAS, R. R. Avaliação da fitorremediação de tebuthiuron utilizando *Crotalaria juncea* como planta indicadora. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n. 02, p. 245-250, 2008.

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; SILVA, A. A.; PROCÓPIO, S. O.; CECON, P. R.; SANTOS, J. B.; SANTOS, E. A. Seleção de plantas tolerantes ao tebuthiuron e com potencial para fitorremediação. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 50, n. 291, p. 583-594, 2003a.

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; SILVA, A. A.; PROCÓPIO, S. O.; FERREIRA, L. R. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 335-341, 2003b.

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; SILVA, A. A.; PROCÓPIO, S. O.; FERREIRA, L. R. Inferências sobre atividade rizosférica de espécies com potencial para fitorremediação do herbicida tebuthiuron. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 627-634, 2005.

PROCÓPIO, S. O.; FERNANDES, M. F.; TELES, D. A.; SENA FILHO, J. G.; CARGNELUTTI FILHO, A.; RESENDE, M. A.; VARGAS, L. **Fitorremediação de solos com resíduos de herbicidas**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009.

PROCÓPIO, S. O.; FERNANDES, M. F.; TELES, D. A.; SENA FILHO, J. G.; CARGNELUTTI FILHO, A.; RESENDE, M. A.; VARGAS, L. Toxicity of herbicides used in the sugarcane

- crop to diazotrophic bacterium *Herbaspirillum seropedicae*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 5, p. 2383–2398, 2014.
- QIAN, Y.; MATSUMOTO, H.; LIU, X.; LI, S.; LIANG, X.; LIU, Y.; WANG, M. Dissipation, occurrence and risk assessment of a phenylurea herbicide tebuthiuron in sugarcane and aquatic ecosystems in South China. **Environmental Pollution**, [s. l.], v. 227, p. 389–396, 2017.
- QU, M.; LI, N.; LI, H.; YANG, T.; LIU, W.; YAN, Y.; FENG, X.; ZHU, D. Phytoextraction and biodegradation of atrazine by *Myriophyllum spicatum* and evaluation of bacterial communities involved in atrazine degradation in lake sediment. **Chemosphere**, [s. l.], v. 209, p. 439–448, 2018.
- RODRIGUES, G. S. S. C.; ROSS, J. L. S. **A trajetória da cana-de-açúcar no Brasil: perspectivas geográfica, histórica e ambiental**. Uberlândia: Editora Universidade Federal de Uberlândia, 2020.
- SABBAG, R. S.; MONQUERO, P. A.; HIRATA, A. C. S.; SANTOS, P. H. V. Crescimento inicial de mudas pré brotadas de cana-de-açúcar submetidas a aplicação de herbicidas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 38–49, 2017.
- SANTOS, R. D. D. S.; SILVA, P. T. S.; GAVA, C. A. T.; MONTEIRO, V. E. D.; MELO, M. C. Avaliação da biodegradação do inseticida imidacloprido em reator de bancada. **Revista Eletrônica de Gestão e Tecnologias Ambientais**, [s. l.], v. 7, n. 7, p. 45–60, 2019.
- SILVA, G. S.; SILVA, A. F. M.; GIRALDELI, A. L.; GHIRARDELLO, G. A.; VICTORIA FILHO, R.; TOLEDO, R. E. B. Manejo de plantas daninhas no sistema de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 86–94, 2018.
- SOUTO, K. M.; AVILA, L. A.; CASSOL, G. V.; MACHADO, S. L. O.; MARCHESAN, E. Phytoremediation of lowland soil contaminated with a formulated mixture of Imazethapyr and Imazapic1. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 46, n. 1, p. 185–192, 2015.
- TOFOLI, G. R.; VELINI, E. D.; NEGRISOLI, E.; CAVENAGHI, A. L.; MARTINS, D. Dinâmica do tebuthiuron em palha de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 27, n. 4, p. 815–821, 2009.
- TONIETO, T. A. P. **Dinâmica dos herbicidas tebuthiuron e hexazinona no sistema de cana crua**. 2014. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.
- TROPALDI, L.; ARALDI, R.; BRITO, I. P. F.S.; SILVA, I. P. F.; CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D. Herbicidas inibidores do fotossistema II em pré-emergência no controle de espécies de capim-colchão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 30–37, 2017.
- UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR. **Histórico de produção e moagem de cana-de-açúcar**. 2021. Disponível em: <https://observatoriocana.com.br/historico-de-producao-e-moagem.php?idMn=32&tipoHistorico=4/>. Acesso em: 07 de jun. de 2021.
- VASCONCELO, S. M. A.; JAKELAITIS, A.; COSTA, M. L. M.; OLIVEIRA, R. R. C.; SANTOS, V. S. Seleção de espécies tolerantes para a fitorremediação de solo contaminado com imazapic. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 19, n. 2, p. 149–158,

2020.

VASILYEVA, G.; KONDRASHINA, V.; STRIJAKOVA, E.; ORTEGA-CALVO, J. J. Adsorptive bioremediation of soil highly contaminated with crude oil. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 706, p. 1-12, 2020.

VIOTTI, M. A. P.; COSTA, T. F.; AMARAL, W. D. M.; RODRIGUES, D. C. G. A. Biorremediação de solo contaminado por óleo lubrificante usado em biopilha de bancada. **Cadernos UniFOA**, Volta Redonda, v. 12, n. 34, p. 5-14, 2017.

WEI, Z.; LE, Q. V.; PENG, W.; YANG, Y.; YANG, H.; GU, H.; LAM, S. S.; SONNE, C. A review on phytoremediation of contaminants in air, water and soil. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 403, p. 1-8, 2021.

YADAV, K. K.; GUPTA, N.; KUMAR, A.; REECE, L. M.; SINGH, N.; REZANIA, S.; KHAN, S. A. Mechanistic understanding and holistic approach of phytoremediation: A review on application and future prospects. **Ecological Engineering**, [s. l.], v. 120, p. 274-298, 2018.



"Floresta Plantada" by CNA Brasil is licensed with CC BY-NC-SA 2.0.
(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.0/>)





PARTE 2

RECURSOS NATURAIS E FLORESTAIS

- 8 Qualidade física do solo em sistemas conservacionistas
- 9 Estudo dos diferentes processos produtivos da amônia: viabilidade e perspectivas de possíveis aplicações
- 10 Efeito da adubação com zinco e cobre no desenvolvimento inicial de plantas de *Eucalyptus sp.*
- 11 Reflorestamento em áreas de cerrado e Mata Atlântica do estado de São Paulo visando exploração apícola
- 12 *Colletotrichum* em seringueira: etiologia, comportamentos de clones e a influência do ambiente
- 13 Qualidade das nascentes urbanas de Dracena-SP

CAPÍTULO 8

QUALIDADE FÍSICA DO SOLO EM SISTEMAS CONSERVACIONISTAS

Carolina dos Santos Batista Bonini

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Melissa Alexandre Santos

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Aline Marchetti Silva Matos

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Reges Heinrichs

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Alfredo Bonini Neto

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências e Engenharia
(FCE), Tupã, São Paulo, Brasil.

Nídia Raquel Costa

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas
(FCA), Botucatu, São Paulo, Brasil

Resumo

A produção de alimentos, por si só, é uma atividade que modifica as condições naturais de solo. Se feita corretamente, temos uma produção sustentável e conservacionista, e se feita de forma extrativista, o solo será degradado e terá baixa produtividade. Com isso, existe a necessidade de abordagens alternativas, visando o desenvolvimento rural sustentável, como agroflorestas, sistemas de integração, sistema de semeadura direta, entre outros. Os sistemas agroflorestais reúnem serviços sociais, econômicos e ambientais e podem ser alternativas para o desenvolvimento e sustentabilidade no meio rural. Já os sistemas de integração lavoura-pecuária têm se mostrado uma opção eficiente para produzir alimentos, contribuindo para a sustentabilidade ambiental e conservação do solo. O estudo da qualidade física do solo nesses sistemas de produção tem se mostrado eficiente, pois o solo, que é a base de sustentação da produção vegetal e animal, precisa estar saudável para se ter plantas saudáveis e, conseqüentemente, seres humanos saudáveis. A qualidade estrutural do solo está intimamente ligada à quantidade de água e nutrientes disponível para a planta, bem como a quantidade de ar do solo. Se houver um equilíbrio desses fatores, o metabolismo da planta não sofrerá impactos negativos e isso resultará em alta produtividade e nutrição equilibrada. Ainda em relação à estrutura do solo, se o solo for grumoso (ter uma boa estrutura, ou seja, ser estável e poroso), evita-se a perda de solo por erosão, pois a água irá infiltrar no perfil do solo. Com essas reflexões, apresentamos este capítulo, que irá abordar resultados de pesquisas sobre a qualidade física do solo em sistemas conservacionistas.

1 INTRODUÇÃO

Entre as atividades que mais causam impactos ambientais em âmbito mundial, está a agricultura, que utiliza aproximadamente 80% da água doce disponível e também impacta negativamente os processos naturais, provocando erosões e contaminações ambientais. A utilização consciente e sustentável dos recursos naturais é uma preocupação crescente na atualidade e, por isso, técnicas que favoreçam a biodiversidade vêm sendo estudada, a fim de valorizar sistemas alternativos de produção, visando a racionalização da área, a conservação do solo e da água.

O resultado da utilização simplificada da natureza, sendo expressa através do sistema convencional em que se prioriza a monocultura, é um ecossistema que demanda a introdução constante do manejo humano através da aplicação de agroquímicos que influenciam na produtividade, mas sucedem dispêndios nos âmbitos sociais e ambientais (ALTIERI, 1995).

O sistema convencional de agricultura atual associa a monocultura à utilização de máquinas para o preparo de solo, porém, tal sistema realizado de forma inadequada tem como resultado um solo com modificações negativas quanto à sua qualidade. O desmatamento e a implantação de monoculturas em grandes áreas, sem a adoção de práticas conservacionistas como a utilização de matéria orgânica e, para além disso, o uso excessivo de insumos sintéticos para adubação, correção do pH, herbicidas, entre outros, resultam na aniquilação de boa parte dos microrganismos presentes no solo, restando poucas espécies que auxiliam no equilíbrio dos nutrientes (PRIMAVESI, 2016).

Em decorrência do aumento das discussões sobre os sistemas de produção mais sustentáveis e que abranjam a autossuficiência, surge a agroecologia, que aborda não apenas as formas de manejo para produção, mas também princípios da conservação dos recursos naturais, da cultura, da economia, e também aspectos sociais que tenham viabilidade (ALTIERI, 2012).

Com o avanço dos estudos em sistemas mais sustentáveis, as discussões sobre os modelos de agricultura convencional têm levantado questionamentos e críticas por distintos grupos da sociedade em diferentes âmbitos. Enquanto ocorrem as discussões sobre os modelos convencionais, o aumento pela busca por alimentos saudáveis e produzidos de forma sustentável tem sido significativo, visando não apenas a não utilização de agrotóxicos, mas também a proteção do meio ambiente e preços acessíveis e socialmente justos (NASCIMENTO; VIDAL; RESENDE, 2012).

O desafio desse objetivo vai além da produção tecnológica, inclui também conceitos multidisciplinares como os socioeconômicos (regional e local), o acesso à informação sobre alimentação saudável, as práticas baseadas na sustentabilidade, a qualidade alimentar, a cidadania, etc. (KEPPLE; SEGALL-CORREA, 2011).

Diante do cenário atual, a agricultura que se baseia em práticas que

visam a preservação da biodiversidade e em práticas ecológicas na produção de alimentos tem se tornado cada vez mais importante e viabilizados como alternativa para substituir sistemas convencionais que são associados, com frequência, a impactos socioambientais negativos (TSCHARNTKE *et al.*, 2012).

2 DESENVOLVIMENTO DO TEMA

A qualidade física e química dos solos agrícolas pode ser afetada pelo sistema de manejo utilizado, sendo que o uso intensivo do solo promove modificações em seus atributos, principalmente na estrutura, que ao longo de vários anos, podem degradar os solos, reduzindo a produtividade e aumentando os custos de produção, refletindo assim, na diminuição da qualidade do solo (PEREIRA, 2013).

O emprego de técnicas e tecnologias apropriadas, bem como o desenvolvimento de novas alternativas agrícolas fundamentadas no enfoque sistêmico e na utilização racional de técnicas agronômicas, pode auxiliar na busca do tipo de agricultura almejada (ANDRIOLI, 2004). Segundo Primavesi (2016), as tecnologias empregadas em solos de um determinado ecossistema, como por exemplo, o de clima tropical não funciona em um ecossistema de clima temperado. Isso ocorre devido às diferenças de características entre eles, como a capacidade de troca catiônica (CTC), a profundidade, etc. Tais características influenciam diretamente na sua produtividade, uma vez que dentro das suas condições pode elevá-la, mas quando em clima diverso, o resultado pode ser impactado negativamente.

Os atributos físicos, químicos e biológicos do solo responsáveis pela estruturação, fertilidade e biodiversidade da vida presente, podem ser influenciados diretamente através do manejo e da utilização. Tais atributos compõem um conjunto essencial para que o solo desempenhe suas funções e projete respostas quanto aos fatores de produtividade e qualidade do solo em questão, justificando a importância do acompanhamento das práticas realizadas. Os indicadores auxiliam na avaliação dos fatores citados com relação ao solo, utilizando tanto para parâmetros quantitativos quanto para os qualitativos, para que assim as funções relevantes e relativas aos atributos do solo possam expressar a sustentabilidade dos diferentes sistemas, sejam cultivados ou naturais (KARLEN *et al.*, 1997).

Os sistemas agrícolas integrados são mais parecidos com os ecossistemas naturais e são mais complexos quanto ao sistema de cultivo (GROPPO *et al.*, 2015), cujo objetivo é ampliar os rendimentos e intensificar o uso do solo para aumentar a área de produção (OLIVEIRA *et al.*, 2018), e ser uma produção sustentável (LIEBIG *et al.*, 2017). Os sistemas agropecuários integrados abrangem interações entre espaço e tempo, em diversas escalas, com manejos sendo realizados na mesma área ou entre áreas (MORAES *et al.*, 2019). Dessa forma, a intensificação sustentável na lavoura, tal como, Integração Lavoura-

Pecuária (ILP), Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF), Integração Pecuária-Floresta (IPF), Integração Lavoura-Floresta (ILF) foram pesquisadas quanto às práticas sustentáveis (efeitos sociais, econômicos e condições ambientais), e estão sendo adotados em regiões tropicais e subtropicais do Brasil (EMBRAPA, 2016).

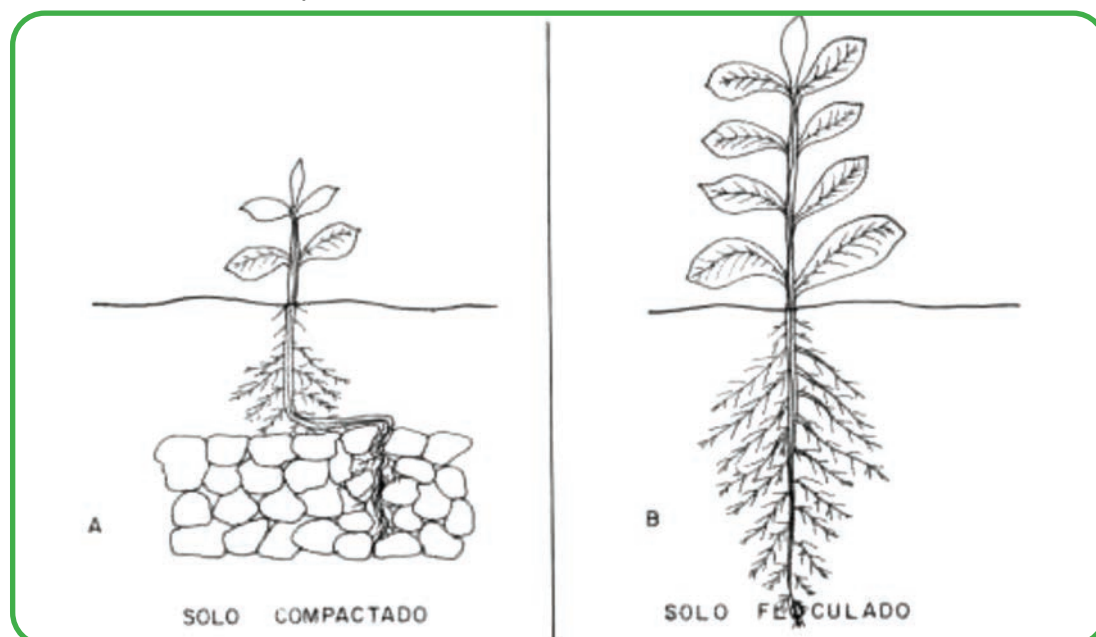
Estudos revelam que, ao aderir-se ao sistema de rotação cultura-pastagem em longo período, o acúmulo de matéria orgânica e disponibilidade de nitrogênio é promovido e, desse modo, a qualidade do solo é melhorada (LI *et al.*, 2015; GHIMIRE; NORTON; NORTON, 2018; VIAUD *et al.*, 2018). Além disso, o cultivo de forrageiras em sistema agrícola é benéfico para a agricultura, tal como a incorporação de leguminosas no solo para melhorar a produtividade da cultura de modo eficaz (OLIVEIRA *et al.*, 2013; BELL; MOORE; KIRKEGAARD, 2014; REDDY, 2016). De acordo com Cherubin *et al.* (2016) são indicadas quatro funções referentes à qualidade do solo: suprimento de água para as plantas e fauna do solo; estrutura para o crescimento radicular; trocas gasosas entre atmosfera e solo; e resistência à erosão e degradação.

A utilização de árvores com diversos usos (frutíferas, florestais, etc.) interagindo com culturas ou pastagem em regiões áridas e semiáridas são predominantes em sistemas agroflorestais. Ao acrescentar árvores no sistema produtivo, o manejo torna-se mais diversificado e complexo em decorrência das relações positivas, negativas e neutras entre as espécies de plantas que estão no mesmo ambiente (PEZZOPANE *et al.*, 2017).

Compreender os efeitos que ocorrem nos sistemas integrados na estrutura física do solo é fundamental para avaliar as vantagens e desvantagens de sua utilização (REIS *et al.*, 2021). A estrutura física do solo é influenciada por processos dinâmicos (matéria orgânica, trocas gasosas, transferências de calor, taxa de infiltração de água e transporte de solutos), que, por sua vez, são influenciados por intervenções antropogênicas ou naturais, promovendo alterações na arquitetura dos poros, macroagregados e microagregados. Dessa forma, pesquisar sobre as alterações que ocorrem no solo é crucial para compreender o comportamento da porosidade sob distintos manejos agrícolas (JURY; HORTON, 2004; ARMINDO; WENDROTH, 2016; BORGES *et al.*, 2019; GALDOS *et al.*, 2019).

A perda da qualidade física do solo leva à sua degradação, e um dos principais problemas é a compactação, que influencia no crescimento das plantas e na atividade dos organismos do solo (Figura 1). As mudanças nas propriedades físicas são muitas, pode-se citar a diminuição da taxa de infiltração do solo, influenciada pela redução dos macroporos, o que leva à redução na área da seção transversal para o fluxo de água (SOUZA; ALVES, 2003).

Figura 1. O enraizamento de solo com camada compactada e de solo grumoso. O volume de solo explorado é diferente.



Fonte: Primavesi (2002).

O pastejo promove efeitos negativos na estrutura superficial do solo, pela ação do pisoteio dos animais, aumentando a densidade do solo e diminuindo a macroporosidade (AULER *et al.*, 2014, 2017; MORAES *et al.*, 2014; FREITAS *et al.*, 2019). Além disso, produzir silagem pode afetar negativamente o solo, devido à compactação exercida pelo tráfego de maquinários na área (ALVEMAR; ANDERSON; PEDERSEN, 2017; HARGREAVES *et al.*, 2019).

Pesquisas apontam que o desenvolvimento tecnológico avançou nos últimos anos com o objetivo melhorar a produtividade e sustentabilidade dos sistemas agropecuários integrados (BREWER; GAUDIN, 2020). Contudo, essas pesquisas revelam que a reintegração do gado na área produtiva pode trazer benefícios ambientais e econômicos, e ao mesmo tempo, reduzir os riscos relacionados aos dejetos dos animais, às alterações do clima e ao mercado financeiro (GARRETT *et al.*, 2017). Devido à crescente escassez de recursos, alterações climáticas e a exigência da sociedade por resultados sustentáveis, os sistemas integrados possuem potencial de auxiliar a agricultura a ser mais sustentável, assim como a promover o sequestro de carbono, o aumento da produtividade agrícola, o aumento da eficiência do uso do Nitrogênio e Fósforo, o aumento do controle da erosão, a redução da vulnerabilidade das safras e a perda de gado devido à estresses ambientais (BREWER; GAUDIN, 2020). A integração de sistemas permite o esclarecimento e a redistribuição de responsabilidades ambientais (LIU *et al.*, 2015). O uso de Sistemas Integrados de Produção Agropecuários quando bem manejado, apresenta resultados interessantes em relação à compactação do solo (BONINI *et al.*, 2016) e às demais propriedades físicas.

A compactação é um dos problemas mais agravantes das áreas degradadas, influenciando no crescimento das espécies vegetais e na capacidade da fauna do solo sobreviver nessas áreas, que se tornam inabitáveis. Sendo assim, uma das primeiras medidas físicas a serem aplicadas em áreas degradadas são relacionadas à diminuição da densidade do solo, seja por meio de manejo com máquinas pesadas ou pela aplicação de matéria orgânica (KITAMURA, 2007). A seguir, apresenta-se esquema adaptado de Primavesi (2002) para entender melhor as causas e consequências da compactação do solo (Figura 2).

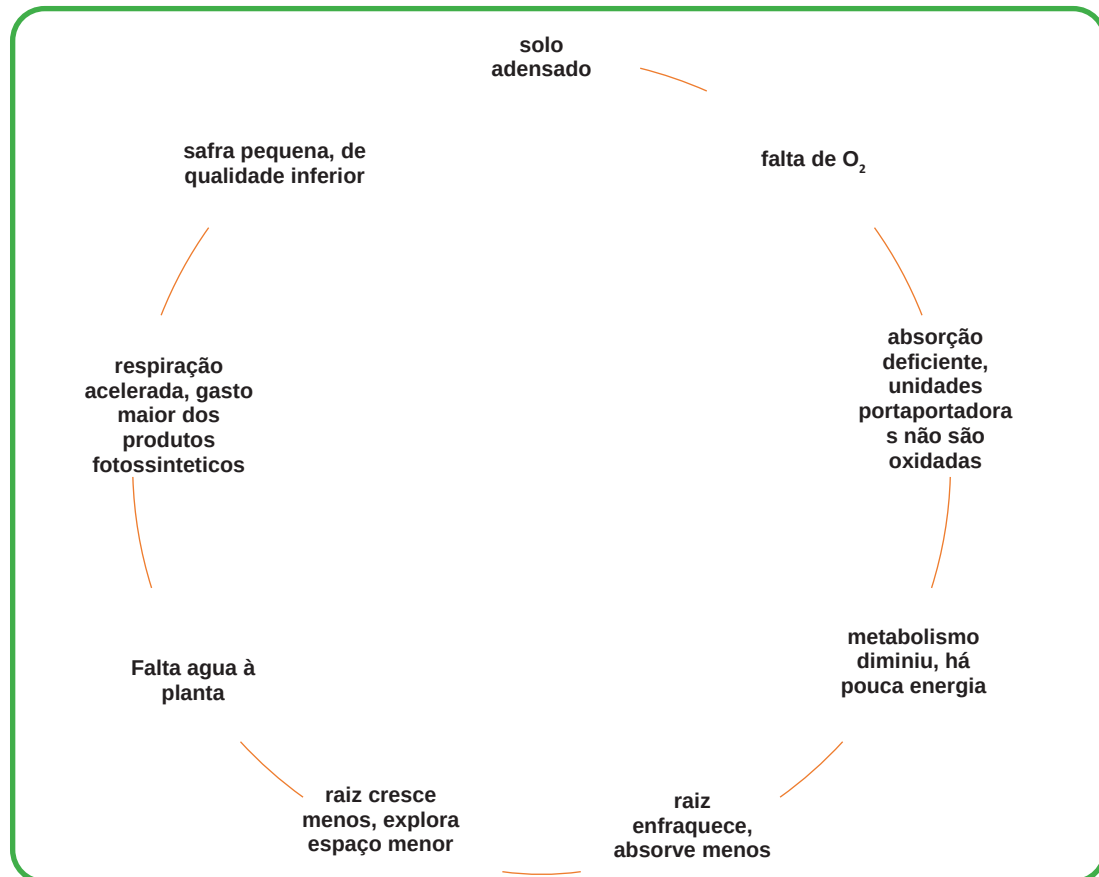
A preocupação com a degradação estrutural do solo como resultado da compactação, manejo intensivo do solo e erosão hídrica é manifestada mundialmente (HAMZA; ANDERSON, 2005; OLDEMAN *et al.*, 2017). Esse atributo é um fator importante, pois afeta a estabilização do carbono orgânico do solo. O carbono orgânico do solo é um agente de ligação que associa as partículas minerais em agregados (CHAPLOT; COOPER, 2015; RABBI *et al.*, 2015).

Também utilizada para verificar a compactação do solo, a densidade do solo reflete a estrutura física do solo atual ou aparente. Para reduzir a densidade do solo, recomenda-se a aplicação de matéria orgânica nas suas diferentes formas de adubação verde, de esterco animal, de composto preparado na fazenda, de tortas vegetais e demais resíduos industriais como a vinhaça, o bagacinho, palha de arroz, etc. (KIEHL, 1979).

Um outro parâmetro importante da qualidade do solo é a agregação, pois aumenta a porosidade, e dessa forma, afeta positivamente a taxa de infiltração e a capacidade de retenção de água, reduzindo a erosão e o escoamento superficial (HAYDU-HOUDESHELL, 2018). A agregação do solo é um atributo físico importante para o desenvolvimento das plantas e afeta de modo direto a infiltração de água, a biodiversidade dinâmica da biomassa, a comunidade microbiana, os nutrientes, a erosão do solo e a disponibilidade de oxigênio para as raízes (NASCENTE; LI; CRUSCIOL, 2015).

Os agregados do solo são definidos como entidades específicas do solo constituídas por parte orgânica e mineral, e são interligados fortemente. Possuem tamanho, estabilidade e forma, de acordo com a textura, o material de origem, o clima, a vegetação e a atividade microbiológica (YUDINA; KUZYAKOV, 2019). O aumento da resistência do solo à penetração de raízes é influenciada pela desestruturação e compactação das camadas.

Figura 2. O efeito do adensamento do solo sobre as condições de crescimento de uma planta.



Fonte: Adaptado de Primavesi (2002).

Os agregados protegem fisicamente a M.O. do solo e é considerado um mecanismo fundamental para a estabilizar o carbono no solo (KOCHIIERU *et al.*, 2020). Os agregados do solo sofrem uma redução na estabilidade quando são retirados os resíduos de pastejo por reduzir a entrada de carbono no sistema (VARGAS *et al.*, 2009; LEHMAN, 2015). A redução da concentração do carbono orgânico fornece substrato reduzido para a população microbiana que executa um papel relevante na estabilização dos agregados e ligação das partículas do solo. O pastejo não reduz a estabilidade do agregado úmido se não reduzir o carbono, como já observado em algumas pesquisas (CLARK *et al.*, 2004; RAKKAR *et al.*, 2017).

O pastejo mistura resíduos de solo, melhorando a estabilidade de agregados do solo, quando comparados às áreas sem pastejo. A estabilidade de agregados úmidos é 15% maior em áreas com pastejo, quando comparadas em áreas sem pastejo (STAVI *et al.*, 2016). Em relação aos atributos físicos do solo, o sistema ILPF se destaca, pois exerce menor densidade e resistência à penetração do solo, e maior porosidade na pastagem arborizada, quando comparada com os pastos em pleno sol. Esses resultados expressam uma

menor modificação estrutural sob o pasto arborizado, através do maior volume de macroporos, bem como menor densidade e grau de compactação (BIGARDI, 2016).

Uma das funções principais da matéria orgânica é a agregação do solo, atuando como agente de ligação capaz de estabilizar os agregados (OKOLO *et al.*, 2020), promove a retenção dos nutrientes e efeitos positivos na comunidade bacteriana (DING *et al.*, 2013; MHETE *et al.*, 2020).

Dentre diversos benefícios está o acúmulo de matéria orgânica no solo, a alta produtividade e o bem estar animal com conforto térmico, a recuperação de pastagem degradada, a redução de uso de agroquímicos e a pressão para abertura de novas áreas, a quebra de ciclos de doenças e de plantas invasoras, a redução da emissão de gases do efeito estufa, o aumento do sequestro de carbono, o aumento da ciclagem e a maior eficácia no uso de nutrientes, a redução dos custos de produção da lavoura, floresta e pecuária, áreas agrícolas pouco ociosas, a diversificação da produção e a estabilidade de renda do produtor rural (CORDEIRO *et al.*, 2015).

Podemos considerar que a matéria orgânica é um indicador de qualidade do solo, e isso se deve ao fato da sua importância nos processos químicos, biológicos e físicos, e dentro desses processos, a matéria orgânica favorece a retenção e a ciclagem dos nutrientes, a agregação do solo, a dinâmica da água, e é fornecedor primário de energia para as atividades microbiológicas (CRUZ, 2017). Alterações de manejo do solo, incluindo a transformação de florestas naturais em áreas agricultáveis, realmente influenciam a qualidade e quantidade do carbono orgânico, podendo levar décadas ou séculos para que o teor de carbono se recupere (CHEN *et al.*, 2017).

O carbono orgânico é de significativa importância, pois é responsável por 60% do teor de matéria orgânica, fator que melhora os aspectos químicos e produtivos do solo (CHEN *et al.*, 2017) e pode ser empregado com método avaliativo de sustentabilidade de sistemas integrados (THOMAZINI *et al.*, 2015). Em relação à matéria orgânica do solo, ela desempenha inúmeras aplicabilidades, influenciando direta ou indiretamente as propriedades físico-químicas e biológicas do solo, sendo, portanto, considerada um dos principais indicadores da qualidade do solo (CHERUBIN *et al.*, 2016). Uma das principais estratégias, no Brasil, de implementação de sistemas ILPF é acumular o carbono no solo (SÁ *et al.*, 2017) e, dessa forma, mitigar as emissões dos gases do efeito estufa que são diretamente relacionados às mudanças climáticas (OLIVEIRA *et al.*, 2018). Nesse contexto, as interações sinérgicas que ocorrem nos sistemas integrados podem reduzir as perdas do carbono em 25% até 2050 (SÁ *et al.*, 2017).

Segundo Carvalho (1998), a função da matéria orgânica é melhorar as propriedades físicas do solo com o aumento da porosidade (aeração) e da retenção de água, por meio da formação de grânulos no solo, servir de fonte de minerais para as plantas, pois a ela estão ligados o nitrogênio, o fósforo e

o enxofre, e propiciar o desenvolvimento da comunidade microbiana do solo, formada por bactérias, fungos, algas, vírus e protozoários que atuam na sua decomposição.

A porosidade do solo é importante no manejo do solo, mas muito maior é a preocupação com a distribuição do tamanho de poros. Os macroporos são responsáveis pela aeração e os microporos pelo armazenamento de água no solo. A distribuição ideal também é um indicativo da qualidade do solo. A microporosidade do solo não é influenciada pelo manejo, mas é indicador de degradação do solo, e, assim, a proporção ideal é de $\frac{3}{4}$ da porosidade total do solo. Bonini *et al.* (2017) apresentaram que a porosidade total é a soma da macroporosidade e da microporosidade, dessa forma, não é possível afirmar que altos valores de porosidade do solo indicam condições adequadas do solo, sendo importante a distribuição do tamanho de poros na avaliação da qualidade de sua estrutura.

Vários trabalhos têm sido desenvolvidos para avaliar o efeito da adição de matéria orgânica. A adição do estrume do gado no sistema aumentou a concentração de matéria orgânica no solo (BLANCO-CANQUI; HERGERT; NIELSEN, 2015; SCHLEGEL *et al.*, 2015), diminuiu a densidade do solo de 1,53 para 1,43 e aumentou o conteúdo de água de 21,4% para 24,4%, em um estudo comparado com o tratamento controle.

Dados preliminares do estudo realizado por Bonini *et al.* (2016), indicaram alterações significativas nos atributos físicos e químicos do solo ainda na fase de estabelecimento dos sistemas integrados de produção. Segundo Costa *et al.* (2012), as alterações químicas do solo em sistemas integrados de produção resultam do elevado acúmulo de resíduos vegetais sobre a superfície do solo, que, após a decomposição, acabam por proporcionar um significativo aporte de nutrientes ao sistema, estimulando as atividades microbianas.

Portanto, por ser um recurso essencial, o solo é responsável pela resposta produtiva na agricultura por meio da manutenção da qualidade do meio ambiente, impactando diretamente na saúde dos animais, dos seres humanos e das plantas.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante o exposto, faz-se necessário o avanço de estudos que abordem novos sistemas que auxiliem na conservação dos recursos naturais, em especial do solo, e também promovam a mitigação de danos ocasionados por sistemas não conservacionistas.

Além disso, foi verificado que a utilização da integração lavoura-pecuária-floresta favorece a agregação e floculação do solo, bem como o aumento do teor de matéria orgânica do solo em relação aos sistemas convencionais de cultivo.

REFERÊNCIAS

- ALTIERI, M. A. **Agroecologia**: bases científicas para uma agricultura sustentável. São Paulo, Rio de Janeiro: Expressão Popular, 2012. 400 p.
- ALTIERI, M. A. **Agroecology**: the Science of sustainable agriculture. Boulder, CO: Westview, 1995. 148 p.
- ALVEMAR, H.; ANDERSON, H.; PEDERSEN, H. H. Profitability of controlled traffic in grass silage production. *In*: PEDERSEN, S.; LIND, K. (ed.). **Precision Agriculture: Technology and Economic Perspectives**. Cham: Springer, 2017. p. 147-166.
- ANDRIOLI, I. **Plantas de cobertura em pré-safra à cultura do milho em plantio direto, na região de Jaboticabal-SP**. 2004. 78 p. Tese (Livre-Docente) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.
- ARMINDO, R. A.; WENDROTH, O. Physical soil structure evaluation based on hydraulic energy functions. **Soil Science Society of America Journal**, [s. l.], v. 80, n. 5, p. 1167-1180, 2016.
- AULER, A. C.; GALETTO, S.; HENNIPMAN, F. S.; GUNTZEL, E. D.; GIAROLA, N. S.; FONSECA, A. F. Soil structural quality degradation by the increase in grazing intensity in integrated crop-livestock system. **Bragantia**, Campinas, v. 76, n. 4, p. 550-556, 2017.
- AULER, A. C.; MIARA, S.; PIRES, L. F.; FONSECA, A. F.; BARTH, G. Soil physico-hydrical properties resulting from the management in integrated production systems. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 5, p. 976-989, 2014.
- BELL, L. W.; MOORE, A. D.; KIRKEGAARD, J. A. Evolution in crop–livestock integration systems that improve farm productivity and environmental performance in Australia. **European Journal Agronomy**, [s. l.], v. 57, p. 10-20, 2014.
- BIGARDI, L. R. **Árvores na pastagem melhoram a qualidade do solo e de forragens**. 2016. 73 p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.
- BLANCO-CANQUI, H.; HERGERT, G. W.; NIELSEN, R.A. Cattle manure application reduces soil's susceptibility to compaction and increases water retention after 71 years. **Soil Science Society of America Journal**, [s. l.], v. 79, n.1, p. 212-223, 2015.
- BONINI, C. S. B.; HEINRICHS, R.; COSTA, N. R.; MEIRELLES, G. C. Estado da arte e fatores intrínsecos na física de solos no manejo de pastagens. *In*: HEINRICHS, R.; SOARES FILHO, C. V.; BONINI, C. S. B. (org.). **Simpósio de adubação e manejo de pastagens / Simpósio de Produção Animal a Pasto**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2017, p. 58-75.
- BONINI, C. S. B.; LUPATINI, G. C.; ANDRIGHETTO, C.; MATEUS, G. P.; HEINRICHS, R. ; ARANHA, A. S. ; SANTANA, E. A. R. ; MEIRELLES, G. C. . Produção de forragem e atributos químicos e físicos do solo em sistemas integrados de produção agropecuária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 9, p. 1695-1698, 2016.
- BORGES, J. A. R.; PIRES, L. F.; CASSARO, F. A. M.; AULER, A. C.; ROSA, J. A.; HECK, R. J.; ROQUE, W. L. X-ray computed tomography for assessing the effect of tillage systems on topsoil morphological attributes. **Soil Tillage Research**, [s. l.], v.189, p. 25-35,

2019.

BREWER, K.; GAUDIN, A. C. M. Potential of crop-livestock integration to enhance carbon sequestration and agroecosystem functioning in semi-arid croplands. **Soil Biology And Biochemistry**, [s. l.], v. 149, p. 1-13, 2020.

CARVALHO, R. M. Recomendação de controle ambiental na exploração de jazidas de laterita no Planalto Central. In: ENCONTRO IBERO-AMERICANO DE UNIDADES AMBIENTAIS DO SETOR TRANSPORTES, 3., 1998, Florianópolis. **Resumos** [...]. Florianópolis: DER, 1998. CD-ROM.

CHAPLOT, V.; COOPER, M. Soil aggregate stability to predict organic carbon outputs from soils. **Geoderma**, [s. l.], v. 243-244, p. 205-213, 2015.

CHEN, L. C.; WANG, H.; YU, X.; ZHANG, W. D.; LÜ, X. T.; WANG, S. L. Recovery time of soil carbon pools of conversional Chinese fir plantations from broadleaved forests in subtropical regions, China. **The Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 587-588, p. 296-304, 2017.

CHERUBIN, M. R.; KARLEN, D. L.; FRANCO, A. L. C.; TORMENA, C. A.; CERRI, C. E. P.; DAVIES, C. A.; CERRI, C. C. Soil physical quality response to sugarcane expansion in Brazil. **Geoderma**, [s. l.], v. 267, p. 156-168, 2016.

CLARK, J. T.; RUSSELL, J. R.; KARLEN, D. L.; SINGLETON, P. L.; BUSBY, W. D.; PETERSON, B. C. Soil surface property and soybean yield response to corn stover grazing. **Agronomy Journal**, Madison, v. 96, n. 5, p. 1364-1371, 2004.

CORDEIRO, L. A. M.; VILELA, L.; KLUTHCOUSKI, J.; MARCHÃO, R. L. (ed.). **Integração lavoura-pecuária-floresta: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. 393 p.

COSTA, N. R.; ANDREOTTI, M.; GAMEIRO, R. A.; PARIZ, C. M.; BUZETTI, S.; LOPES, K. S. M. Adubação nitrogenada no consórcio de milho com duas espécies de braquiária em sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 8, p.1038-1047, 2012.

CRUZ, D. L. S. **Influência dos sistemas integrados de produção nas características químicas e físicas de um Argissolo**. 2017. 218 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2017.

DING, G. C.; PRONK, G. J.; BABIN, D.; HEUER, H.; HEISTER, K.; KOGEL-KNABNER, I.; SMALLA, K. Mineral composition and charcoal determine the bacterial community structure in artificial soil. **FEMS Microbiol Ecology**, Oxford, v. 86, n. 1, p. 15-25, 2013.

EMBRAPA. **EMBRAPA. Integração lavoura pecuária floresta em número**. Sinop: Embrapa Agrossilvipastoril, 2016. 12 p. [Folder]. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1064859/ilpf-em-numeros>. Acesso em: 01 fev. 2021.

FREITAS, K. S.; ARMINDO, R. A.; PIRES, L. F.; JUNIOR, S. R. A method to determine the soil bulk density of undisturbed samples with non-isodiametric shape. **Soil Tillage Research**, [s. l.], v. 191, p.344-352, 2019.

GALDOS, M.; PIRES, L. F.; COOPER, H. V.; CALONEGO, J. C.; ROSOLEM, C. A.; MOONEY, S. J. Assessing the long-term effects of zero-tillage on the macroporosity

of Brazilian soils using X-ray Computed Tomography. **Geoderma**, [s. l.], v. 337, n. 1, p. 1126-1135, 2019.

GARRETT, R. D.; NILES, M. T.; GIL, J. D. B.; GAUDIN, A.; KRAMER, R. C.; ASSMANN, A.; ASSMANN, T. S.; BREWER, K.; CARVALHO, P. C.; CARTNER, O.; DYNES, R.; GARBACH, K.; KEBREAB, E.; MUELLER, N.; PETERSON, C.; REIS, J. C.; SONOW, V.; VALENTIM, J. Social and ecological analysis of commercial integrated crop livestock systems: current knowledge and remaining uncertainty. **Agricultural Systems**, [s. l.], v. 155, n. 1, p. 136-146, 2017.

GHIMIRE, R.; NORTON, J. B.; NORTON, U. Soil organic matter dynamics under irrigated perennial forage-annual crop rotations. **Grass Forage Science**, v. 73, n. 4, p. 907-917, 2018.

GROPPO, J. D.; LINS, S. R. M.; CAMARGO, P. B.; ASSAD, E. D.; PINTO, H. S.; MARTINS, S. C.; SALGADO, P. R.; EVANGELISTA, B.; VASCONCELLOS, E.; SANO, E. E.; PAVÃO, E.; LUNA, R.; MARTINELLI, L. A. Changes in soil carbon, nitrogen, and phosphorus due to land-use changes in Brazil. **Biogeosciences**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 4765-4780, 2015.

HAMZA, M. A.; ANDERSON, W. K. Soil compaction in cropping systems: a review of the nature, causes and possible solutions. **Soil Tillage Research**, [s. l.], v. 82, n. 2, p. 121-145, 2005.

HARGREAVES, P. R.; PEETS, S.; CHAMEN, W. C. T.; WHITE, D. R.; MISIEWICZ, P. A.; GODWI, R. J. Improving grass silage production with controlled traffic farming (CTF): agronomics, system design and economics. **Precision Agriculture**, [s. l.], v. 20, p. 260-277, 2019.

HAYDU-HOUDESHELL, C.; GRAHAM, R. C.; HENDRIX, P. F.; PETERSON, A. C. Soil aggregate stability under chaparral species in southern California. **Geoderma**, [s. l.], v. 310, p. 201-208, 2018.

JURY, W. A.; HORTON, R. **Soil Physics**. 6. ed. Hoboken: John Wiley, 2004. 384 p.

KARLEN, D. L.; MAUSBACH, M. J.; DORAN, J. W.; CLINE, R. G.; HARRIS, R. F.; SCHUMAN, G. E. Soil Quality: a concept, definition, and framework for evaluation. (a guest editorial). **Soil Science Society Of America Journal**, [s. l.], v. 61, n. 1, p. 4-10, 1997.

KEPPLE, A. W.; SEGALL-CORRÊA, A. M. Conceituando e medindo segurança alimentar e nutricional. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 1, p. 187-199, 2011.

KIEHL, E. J. **Manual de edafologia: relação solo-planta**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1979. 264 p.

KITAMURA, E. M. **Recuperação de um solo degradado com a aplicação de adubos verdes e lodo de esgoto**. 2007. 117 f. Tese (Doutorado em Sistemas de Produção) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira.

KOCHIERU, M.; FEIZIENE, D.; FEIZA, V.; VOLUNGEVICIUS, J.; VELYKIS, A.; SLEPETIENE, A.; DEVEIKYTE, I.; SEIBUTIS, V. Freezing-thawing impact on aggregate stability as affected by land management, soil genesis and soil chemical and physical quality. **Soil And Tillage Research**, [s. l.], v. 203, p. 1-11, 2020.

LEHMAN, B. E. **Agronomic assessment of grazing method of corn residues on cow performance, residue utilization, crop yield, and soil properties**. 2015. 83

f. Thesis (Master of Science in Animal Sciences) - University of Illinois at Urbana-Champaign, Illinois, USA.

LI, X.; PETERSEN, S. O.; SORENSEN, P.; OLESEN, J. E. Effects of contrasting catch crops on nitrogen availability and nitrous oxide emissions in an organic cropping system. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [s. l.], v. 199, p. 382-393, 2015.

LIEBIG, M. A.; HERRICK, J. E.; ARCHER, D. W.; DOBROWOLSKI, J.; DUIKER, S. W.; FRANZLUEBBERS, A. J. STRICKLAND, T. C. Aligning land use with land potential: The role of integrated agriculture. **Agricultural and Environmental Letters**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 1-5, 2017.

LIU, J.; MOONEY, H.; HULL, V.; DAVIS, S. J.; GASKELL, J.; HERTEL, T.; LUBCHENCO, J.; SETO, K. C.; GLEICK, P.; KREMEN, C.; LI, S. Systems integration for global sustainability. **Science**, [s. l.], v. 347, n. 6225, p. 1258832/1-1258832/8, 2015.

MHETE, M.; EZE, P. N.; RAHUBE, T. O.; AKINYEMI, F. O. Soil properties influence bacterial abundance and diversity under different land-use regimes in semi-arid environments. **Scientific African**, [s. l.], v. 7, n. e00246, p. 1-13, 2020.

MORAES, A.; CARVALHO, P. C. D. F.; CRUSCIOL, C. A. C.; LANG, C. R.; PARIZ, C. M.; DEISS, L.; SULC, R. M. Integrated crop-livestock systems as a solution facing the destruction of Pampa and Cerrado biomes in South America by intensive monoculture systems. In: LEMAIRE, G.; CARVALHO, P. C. F.; KRONBERG, S.; RECOUS, S. (eds.). **Agroecosystem diversity**. London: Academic Press, 2019. p. 257-273.

MORAES, A.; CARVALHO, P. F. C.; ANGHINONI, I.; LUSTOSA, S. B. C.; COSTA, S. E. V. G. A.; KUNRATH, T. R. Integrated crop-livestock systems in the Brazilian subtropics. **European Journal Agronomy**, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 4-9, 2014.

NASCENTE, A. S.; LI, Yuncong; CRUSCIOL, C. A. C. And soil bulk density as affected by cover crop species in a not-tillage system. **Revista Brasileira Ciências do Solo**, Viçosa, v. 39, n. 3, p. 871-879, 2015.

NASCIMENTO, W. M.; VIDAL, M. C.; RESENDE, F. V. **Produção de sementes de hortaliças em sistema orgânico**. In: CURSO SOBRE TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE SEMENTES DE HORTALIÇAS, 12., 2012, Mossoró, RN. **Palestras** [...]. Brasília, DF: Embrapa, 2012.

OKOLO, C. C.; GEBRESAMUEL, G.; ZENEBE, A.; HAILE, M.; EZE, P. N. Accumulation of organic carbon in various soil aggregate sizes under different land use systems in a semi-arid environment. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [s. l.], v. 297, n. 106924, p. 1-13, 2020.

OLDEMAN, L. R.; HAKKELING, R. T. A.; SOMBROEK, W. G. **World Map of the status of human-induced soil degradation**: an explanatory note. International Soil Reference and Information Centre. 2017. Disponível em: <https://digitallibrary.un.org/record/220140>. Acesso em: 01 fev. 2017.

OLIVEIRA, C. A. O.; BREMM, C.; ANGUINONI, I.; MORAES, A.; KUNRATH, T. R.; CARVALHO, P. C. F. Comparison of an integrated crop-livestock system with soybean only: economic and production responses in southern Brazil Renew. **Renewable Agriculture Food System**, Cambridge, v. 29, n. 3, p. 230-238, 2013.

OLIVEIRA, J. M.; MADARI, B. E.; CARVALHO, M. T. M.; ASSIS, P. C. R.; SILVEIRA, A. L. R.; LIMA, M. L.; WRUCK, F. J.; MEDEIROS, J. C.; MACHADO, P. L. O. A. Integrated

farming systems for improving soil carbon balance in the southern Amazon of Brazil. **Regional Environmental Change**, v. 18, p. 105-116, 2018.

PEREIRA, F. S. **Qualidade física e química do solo em sistemas de cultivo e produtividade do milho e da soja**. 2013. 58 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

PEZZOPANE, J. R. M.; BERNARDI, A. C. C.; BOSI, C.; OLIVEIRA, P. P. A.; MARCONATO, M. H.; PEDROSO, A. F. ESTEVES, S. N. Forage productivity and nutritive value during pasture renovation in integrated systems. **Agroforestry Systems**, [s. l.], v. 93, p. 39-49, 2017.

PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico do solo**: a agricultura em regiões tropicais. São Paulo: Nobel, 2002. 549 p.

PRIMAVESI, A. **Manual do solo vivo**: solo sadio, planta sadia, ser humano sadio. São Paulo: Expressão Popular, 2016. 205 p.

RABBI, S. M. F.; WILSON, B. R.; LOCKWOOD, P. V.; DANIEL, H.; YOUNG, I. M. Aggregate hierarchy and carbon mineralization in two Oxisols of New South Wales, Australia. **Soil Tillage Research**, [s. l.], v. 146, p. 193-203, 2015.

RAKKAR, M. K.; BLANCOCANQUI, H.; DRIJBER, R. A.; DREWNOSKI, M. E.; MACDONALD, J. C.; KLOPFENSTEIN, T. Impacts of cattle grazing of corn residues on soil properties after 16 years. **Soil Science Society American Journal**, v. 81, n. 2, p. 414-424, 2017.

REDDY, P. P. **Sustainable Intensification of Crop Production**. Singapore: Springer, 2016. 405 p.

REIS, A. M. H.; AULER, A. C.; ARMINDO, R. A.; COOPER, M.; PIRES, L. F. Micromorphological analysis of soil porosity under integrated crop-livestock management systems. **Soil and Tillage Research**, [s. l.], v. 205, p.1-9, 2021.

SÁ, J. C. M.; LAL, R.; CERRI, C. C.; LORENZ, K.; HUNGRIA, M.; CARVALHO, P. C. F. Low-carbon agriculture in South America to mitigate global climate change and advance food security. **Environment International**, v. 98, p. 102-112, 2017.

SCHLEGEL, A. J.; ASSEFA, Y.; BOND, H. D.; WETTER, S. M.; STONE, L. R. Corn response to long-term applications of cattle manure, swine effluent, and inorganic nitrogen fertilizer. **Agronomy Journal**, [s. l.], v. 107, n. 5, p. 1701-1710, 2015.

SOUZA, Z. M.; ALVES, M. C. Movimento de água e resistência à penetração em um Latossolo Vermelho distrófico de Cerrado, sob diferentes usos e manejos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 7, n. 1, p. 18-23, 2003.

STAVI, D.; ARGAMAN, E.; ZAADY, E. Positive impact of moderate stubble grazing on soil quality and organic carbon pool in dryland wheat agro-pastoral systems. **Catena**, [s. l.], v. 146, p. 94-99, 2016.

THOMAZINI, A.; MENDONÇA, E. S.; CARDOSO, I. M.; GARBIN, M. L. SOC dynamics and soil quality index of agroforestry systems in the Atlantic rainforest of Brazil. **Geoderma Regional**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 15-24, 2015.

TSCHARNTKE, T.; CLOUGH, Y.; WANGER, T.C.; JACKSON, L.; MOTZKE, I.; PERFECTO, I.; VANDERMEER, J.; WHITBREAD, A. Global food security, biodiversity conservation and the future of agricultural intensification. **Biological conservation**, [s. l.], v. 151, n. 1, p. 53-59, 2012.

VARGAS, S. G.; BECKER, A.; ODDINO, C.; ZUZA, M.; MARINELLI, A.; MARCH, G. Field trial assessment of biological, chemical, and physical responses of soil to tillage intensity fertilization, and grazing. **Environmental Management**, [s. l.], v. 44, n. 2, p. 378-386, 2009.

VIAUD, V.; SANTILLAN-CARVANTES, N.; AKKALCOLFINI, C. L.; GUILLOU, N. C.; BOURE, P.; RANJARD, L.; MENASSERI-AUBRY, S. Landscape-scale analysis of cropping system effects on soil quality in a context of crop-livestock farming. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [s. l.], v. 265, n. 1, p. 166-177, 2018.

YUDINA, A.; KUZYAKOV, Y. Saving the face of soil aggregates. **Global Change Biology**, [s. l.], v. 11, p. 3574-3577. 2019.

CAPÍTULO 9

ESTUDO DOS DIFERENTES PROCESSOS PRODUTIVOS DA AMÔNIA: VIABILIDADE E PERSPECTIVAS DE POSSÍVEIS APLICAÇÕES

Ana Flávia Nogueira

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Instituto de Química, Campinas, São Paulo, Brasil.

Júlia Ellen Barros Vivas

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Faculdade de Engenharia Química, Campinas, São Paulo, Brasil.

Maria Carolina Heinrichs

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Faculdade de Engenharia Química, Campinas, São Paulo, Brasil.

Isac Almeida Bispo

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Faculdade de Engenharia Química, Campinas, São Paulo, Brasil.

João Gabriel Moreira Rocha

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Faculdade de Engenharia Química, Campinas, São Paulo, Brasil.

Resumo

O processo de Haber-Bosch, denominado de "amônia marrom", tornou-se antiquado com o passar do tempo, devido a impactos ambientais, econômicos e sociais, porém, ainda é o principal método utilizado para obtenção de amônia. A partir de estudos de todas as áreas do conhecimento, outros processos de produção da amônia foram surgindo visando uma maior sustentabilidade. A amônia verde resulta da variação de métodos de obtenção do H_2 , reagente essencial na produção de NH_3 , sempre buscando alternativas menos danosas ao ambiente. Já a amônia azul aposta no sequestro e reciclo do CO_2 emitido no próprio processo. No geral, o mundo está ao poucos migrando para processos alternativos de produção, fazendo com que novas alternativas sejam buscadas. Contudo, esses novos processos trazem seus próprios impactos a serem considerados, como o aumento do preço de produção.

1 INTRODUÇÃO

A amônia constitui um dos principais compostos da atualidade, dada a sua vasta aplicação. O setor agrícola é, sem dúvida, o maior beneficiário da síntese dessa substância, haja vista a concepção dos fertilizantes a partir dela, que revolucionou e impulsionou a produtividade no campo. No entanto, nem sempre a amônia esteve em evidência na sociedade. Até meados do século XX, por exemplo, a fonte primordial de nitrogênio ligado ao solo era o salitre, advindo dos desertos do Chile e, só após a ameaça de esgotamento de tal composto, é que se buscaram novas formas de fixação do nitrogênio (ARAÚJO; BALDINATO, 2015).

Nesse contexto, em 1909, Fritz Haber e seu assistente Robert Le Ressignol conseguiram uma forma eficaz de fixação do gás pela proposição da síntese de amônia. O método foi implementado por Carl Bosch em escala industrial e, por isso, é chamado de síntese Haber-Bosch. O conceito é pautado na reação direta de gás nitrogênio (N_2) e gás hidrogênio (H_2) sob temperatura e pressão controladas (ARAÚJO; BALDINATO, 2015). Nesse processo, o hidrogênio é obtido fundamentalmente pela reforma a vapor do gás natural, que, apesar de ser economicamente viável, não é ambientalmente o meio mais adequado em virtude da necessidade da queima do combustível fóssil (LEIGH, 2004; BARROS; FARIA, 2015).

Dessa forma, intentando mitigar os impactos ambientais, surgem os processos de amônia verde e azul. A amônia azul atua para aprimorar o método tradicional à medida que promove a captura do CO_2 gerado pela reforma a vapor por absorção em água, a ser obtido isoladamente em etapas de separação subsequentes (HAUGEN *et al.*, 2017). A amônia verde, entretanto, é mais disruptiva ao propor a utilização de hidrogênio advindo de fontes renováveis, seja pela separação em eletrodos do H_2 e do O_2 contidos na molécula da água por eletrólise em membrana polimérica, seja pela união de fatores como eletrólise, oxidação em plasma e redução catalítica – abordagem PNOCRA (KUMAR; HIMABINDU, 2019; HOLLEVOET *et al.*, 2020). Conquanto tais alternativas se mostrem como perspectivas ambientais favoráveis, o desenvolvimento ainda recente implica em altos custos de consumo energético, bem como na alteração da infraestrutura industrial (THE ROYAL SOCIETY, 2020).

2 IMPORTÂNCIA E APLICAÇÕES DA AMÔNIA

2.1 Importância

É considerável a importância da descoberta da amônia, tanto no quesito científico quanto no social. E é possível questionar: qual seria a população mundial hoje sem tal descoberta? A síntese da amônia foi fundamental para suprir a necessidade de alimentos no início do século XIX, e, também, para o aumento populacional que o mundo viveu após sua descoberta, alcançando

os atuais 7,8 bilhões (CHAGAS, 2007). Sendo que uma das mais importantes teorias demográficas, a teoria malthusiana, previa que a disponibilidade de recursos no planeta Terra não seria capaz de suprir as necessidades de seus habitantes depois de um certo tempo, visto que a população cresce em progressão geométrica enquanto os recursos naturais em progressão aritmética (LANA, 2009). Tal teoria foi desafiada pela síntese de Haber-Bosch.

2.2 Aplicações

A amônia é necessária na agricultura por causa, principalmente, do ciclo do nitrogênio. Este ciclo consiste em bactérias (*Rhizobium*) encontradas nas raízes de leguminosas que fixam o N_2 do ar e o transformam em amônia, além disso, muitas vezes a amônia no solo é proveniente de material orgânico nitrogenado decomposto. Em seguida, ocorre a oxidação da amônia em nitrito e, na sequência, em nitrato. O nitrato é absorvido pelas plantas (produtores na cadeia alimentar), com a decomposição dessas plantas e de animais que as ingeriram, bactérias do solo liberam o nitrato em forma de N_2 no ar novamente, configurando, assim, um ciclo infinito. Porém, somente o ciclo do nitrogênio não consegue suprir a necessidade de todas as plantas, assim, são necessários os fertilizantes. (VIEIRA, 2017)

O Brasil se encontra em 4º lugar no ranking de maiores consumidores de fertilizantes no mundo (INACIO, 2013), devido, principalmente, à grande produção agropecuária do país. A ureia se destaca como fertilizante por possuir concentração elevada de nitrogênio, no entanto, ela é muito suscetível à volatilização de amônia, que é mais intensa em países de regiões tropicais, como o Brasil, onde predominam altas temperaturas grande parte do ano (FRAZÃO *et al.*, 2014).

Outro importante composto é o nitrato de amônio (NH_4NO_3), ele possui uma taxa elevada de nitrogênio em sua composição e baixo custo de fabricação. É resultado de nitrogênio de ação rápida (NO_3^-) com o de ação lenta (NH_4^+), então ajuda diretamente na produtividade da lavoura, já que torna as raízes mais fortes. Grande parte desse nitrato é importado para o Brasil, já que a única fábrica no país não consegue suprir a demanda do composto, ademais, um fato interessante sobre o nitrato de amônio é que ele é considerado um fertilizante com alta capacidade explosiva (SOUZA; MACHADO, 2020).

Além disso, a amônia é utilizada como material para refrigeração há mais de um século. Porém, com o desenvolvimento dos gases clorofluorcarbonetos (CFCs) nos Estados Unidos, a amônia foi substituída, pois o seu destino era outro, sendo amplamente usada na fabricação de armas e explosivos já que o mundo enfrentava uma situação pós primeira guerra (DANFOSS, 2020). Um exemplo disso é o ácido nítrico, muito utilizado na fabricação de explosivos como dinamite e TNT, sendo amplamente usados na construção civil e como

artefato bélico.

A amônia também é uma maneira barata e eficaz para limpeza, uma vez que ela afeta os ciclos metabólicos de bactérias (CHAGAS, 2007) e células, e, por isso, a maior parte dos produtos de limpeza contêm amônia, geralmente na forma de hidróxido de amônio (NH_4OH) ou como o sal chamado de quaternário de amônio com poder tensoativo, que consegue se ligar tanto à água quanto a sujeiras.

Outra utilização é em tintas para cabelos, servindo como catalisador, com função de tornar mais rápida a ação de outras substâncias da tinta, além da tinta, a amônia também é utilizada em alisantes. Muitos especialistas informam que o uso dessas substâncias é prejudicial à saúde, no entanto, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) permite uma porcentagem segura que pode ser utilizada. Outro uso da amônia em cosméticos é no formato de ureia, amplamente utilizada em hidratantes e loções devido ao seu poder de hidratação, ligando-se às moléculas de água na pele e retraindo sua umidade.

Mais uma maneira na qual a amônia pode ser usada é como um meio para armazenar e transportar energia química, por meio da liberação de energia diretamente ou pela decomposição total ou parcial de amônia para liberação de hidrogênio. O hidrogênio ou mistura de amônia-hidrogênio é então reagido com o oxigênio no ar para liberar energia (THE ROYAL SOCIETY, 2020). Existem várias maneiras de armazenar essa energia, que inclui armazenamento eletroquímico por meio de baterias, armazenamento físico e por último, armazenamento de produtos químicos na forma de eletrocombustíveis sem carbono, como hidrogênio ou amônia (THE ROYAL SOCIETY, 2020). A amônia pode oferecer uma nova solução de armazenamento e distribuição de energia sustentável integrada em todo o mundo. Como visto, a amônia possui inúmeras aplicações, além de ser um composto versátil, barato, muito produzido e fácil de transportar.

3 PROCESSO TRADICIONAL DE PRODUÇÃO DA AMÔNIA

3.1 Processo Haber-Bosch

O processo Haber-Bosch, desenvolvido em 1909 e aprimorado desde então, constitui-se, atualmente, como o principal meio de obtenção de amônia no mundo (BARROS; FARIA, 2015). O método prevê a combinação entre N_2 e H_2 gasosos, sob ação catalítica do ferro, principalmente, a temperaturas superiores a 350°C (PAIXÃO, 2018). A fim de alcançar maiores sínteses de NH_3 , a proporção entre os reagentes deve ser de um mol de nitrogênio para 3 mol de hidrogênio, além da preferência pela pureza dos reagentes, bem como a aplicação de altas pressões maximiza a obtenção do composto de interesse (HABER; LE ROSSIGNOL, 1909).

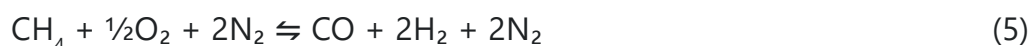


Os reagentes são adicionados em um reator catalítico, dando origem à equação 1. A amônia formada sofre condensação e é separada da mistura. Com o intuito de aproveitar o potencial exotérmico da reação, aliado ao fato de a conversão por passe estar próxima a 20%, os gases não reagidos retornam ao processo, trocando calor com os gases da entrada do reator (HABER; LE ROSSIGNOL, 1909; PAIXÃO, 2018).

A complexidade do processo está associada ao uso do hidrogênio, o qual apresenta diversas fontes de fornecimento, enquanto o nitrogênio advém exclusivamente do ar atmosférico. Apesar da existência de uma gama de possibilidades, o hidrogênio é proveniente, sobretudo, da reforma a vapor de gás natural, o que corresponde a cerca de 85% da produção da amônia. Tal fato se explica pela eficiência do processo, pelo menor impacto ambiental dentro da realidade de produção tradicional e pela viabilidade econômica (LEIGH, 2004; BARROS; FARIA, 2015).

3.1.1 Processo de reforma a vapor de gás natural

A reforma a vapor do gás natural pode ser dividida em quatro momentos principais - dessulfurização, reforma, purificação e síntese de amônia – os quais são permeados pelas reações:



Inicialmente, ocorre a dessulfurização dos compostos de enxofre presentes no gás natural, haja vista que esses são potenciais envenenadores dos catalisadores utilizados em etapas subsequentes do processo. A separação do enxofre é dada formação de uma molécula sólida (ZnS) contida em leito de óxido de zinco (ZnO) após reação com H_2 em excesso (BARROS; FARIA, 2015).

Tão logo as impurezas são removidas, a corrente gasosa é encaminhada ao reformador primário, no qual há a adição de vapor para a promoção das

reações das equações 2, 3 e 4. Como a conversão de metano não é de 100% - cerca de 10% a 12% em base molar do hidrocarboneto ainda presente na corrente - faz-se necessário a ação do reformador secundário, que é abastecido por ar com o intuito de propiciar a oxidação parcial, diminuindo a presença do hidrocarboneto (HAUGEN *et al.*, 2017; PAIXÃO, 2018).

Nessa etapa, o monóxido de carbono formado corresponde à faixa de 10% a 13% da fração molar e, em virtude de ser um ligante de campo forte de acordo com a série espectroquímica, não é difícil perceber a necessidade da sua remoção a fim de evitar-se complicações com os catalisadores envolvidos. Dessa maneira, o conversor shift atua em dois eixos - através da catálise por $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{Cr}_2\text{O}_3$ a altas temperaturas e, seguidamente, acontece a catálise por $\text{CuO}/\text{ZnO}/\text{Al}_2\text{O}_3$ a baixas temperaturas. A combinação desses dois estágios reduz a concentração de CO a cerca de 0,2% por meio da reação da equação 3 (HAUGEN *et al.*, 2017; PAIXÃO, 2018).

Posteriormente, devido ao deslocamento do equilíbrio da equação 3 no sentido de formação dos produtos, a quantidade de CO_2 originada é significativa e, assim como o CO, a remoção do dióxido de carbono é imprescindível para a conservação das propriedades catalíticas. Diante disso, efetua-se a absorção química pela ação da Monoetanolamina (MEA) e da Metildietanolamina (MDEA), além da possibilidade de realização de absorção física pelos processos Sulfinol, Rectisol e Selexol, dentre outros (BARROS; FARIA, 2015).

A seguir, a fim de reduzir as concentrações de CO e CO_2 a níveis de ppm, promove-se a metanação da corrente gasosa, a qual é caracterizada pelas reações dadas pelas equações 6 e 7 (PAIXÃO, 2018). Após a metanação, a corrente gasosa resultante contendo N_2 e H_2 sofre compressão e resfriamento, de modo a obter a temperatura ideal para a síntese de NH_3 , e a reação acontece segundo a proporção da equação 1. Seguidamente, a amônia é condensada e retirada, uma etapa de purga é feita para evitar o acúmulo de inertes, e o restante retroalimenta o processo (PAIXÃO, 2018).

3.2 Impactos ambientais e econômicos da produção de amônia tradicional

A síntese do composto NH_3 depende de vários fatores para atingir as condições necessárias de um rendimento apreciável (ARAÚJO; BALDINATO, 2015). Dentre esses requisitos, as fontes dos reagentes (N_2 e H_2) afetam diretamente a viabilidade ambiental e econômica da produção do NH_3 (THE ROYAL SOCIETY, 2020).

Para ocorrer a formação de amônia, é necessário a “quebra” da ligação trivalente do nitrogênio ($\text{N}\equiv\text{N}$). Por ser caracterizada como uma forte ligação, sua quebra demanda mais energia e, assim, a fonte de nitrogênio acaba sendo a mais cara. Porém, devido à intensa utilização de fontes não renováveis de hidrogênio, ele acaba possuindo um maior impacto ambiental

(VITTI; HEINRICHS, 2007).

Desde a descoberta sobre a utilização da amônia, a sua produção cresce constantemente. Assim, o processo produtivo vem sendo modificado para atender à atual preocupação mundial, buscando a sustentabilidade da produção industrial (ARAÚJO; BALDINATO, 2015).

3.2.1 Fontes de Nitrogênio

Até o século XX, o nitrogênio era subproduto da reação do salitre com carvão, uma fonte não renovável e com fixação de N em torno de 1%. Logo, devido ao baixo rendimento de produção e uso de fontes não renováveis, o salitre foi descartado devido os impactos ambientais e econômicos desvantajosos (ARAÚJO; BALDINATO, 2015).

A partir de diversas tentativas, notou-se que a maior fonte de gás N_2 seria a atmosfera. Logo, uma demanda dessa ordem poderia ser suprimida pelo uso do ar atmosférico, através de técnicas de separação do ar natural ou do ar comprimido, ambos processos com mínimos impactos ambiental e grande rendimento (THE ROYAL SOCIETY, 2020).

Entretanto, apesar da descoberta dessa nova fonte, a produção massificada de fertilizantes nitrogenados vem causando desequilíbrios ambientais no ciclo natural do nitrogênio. Isso decorre do desbalanceamento dos compostos de nitrogenados no solo, pois o uso excessivo de fertilizantes leva nitrogênio reativo aos corpos d'água, como rios e lençóis freáticos, afetando a fauna e flora aquática, gerando desequilíbrios ambientais (FELIX; CARDOSO, 2004).

3.2.2 Fontes de Hidrogênio

Inicialmente, tentou-se adquirir o gás H_2 a partir de técnicas laboratoriais de descargas elétricas. Não obstante, devido à alta demanda de energia desse processo, seu uso tornou-se inviável para a produção de amônia (ARAÚJO; BALDINATO, 2015).

Logo, iniciou-se o uso da fixação de hidrogênio a partir dos combustíveis fósseis. A técnica, que se tornou comum no âmbito comercial, deriva da reforma de vapor de combustíveis não renováveis e é utilizada em praticamente 95% da produção de amônia mundial (ZHANG *et al.*, 2020).

O maior impacto ambiental derivado do uso de combustíveis fósseis é a liberação de CO_2 . A atual produção de amônia é de 200 milhões de toneladas por ano, e 95% advindo do uso de hidrogênio de combustíveis fósseis, 420 milhões de toneladas por ano de gás carbônico, ou seja, 1,3% da emissão global de CO_2 é derivado do processo tradicional de produção de amônia (NAYAK-LUKE; BANARES-ALCÁNTARA; WILKISON, 2018). Assim, nota-se que o sistema tradicional de produção de NH_3 é um dos processos que mais

emitem o gás de efeito estufa para a atmosfera (THE ROYAL SOCIETY, 2020).

O uso de combustíveis fósseis para produção de H_2 necessita de grande demanda energética. Para quebrar a molécula de gás natural, a energia requerida é de 8 megawatts hora por tonelada de amônia, representando cerca de 1% da energia produzida mundialmente direcionada para este processo (THE ROYAL SOCIETY, 2020). Logo, grande parte da energia mundial ainda advém de processos não renováveis, especialmente para produção de amônia.

A partir do exposto, conclui-se que dentre os empecilhos ambientais do processo tradicional de obtenção do gás H_2 estão a alta demanda energética e a alta emissão de CO_2 . Ao requerer cerca de 1,5% de todos os combustíveis fósseis mundialmente produzidos (YE *et al.*, 2017), utilizar 1.8% da energia produzida (THE ROYAL SOCIETY, 2020) e emitir o equivalente 1% do total de gás de efeito emitido mundialmente por ano, esse processo industrial demonstra a necessidade de adaptação (YE *et al.*, 2017).

Com o aumento da produção de amônia nos últimos séculos, houve a mesma necessidade crescente de mais gás hidrogênio. Por consequência, a queima de combustíveis fósseis mundial aumentou exponencialmente, acarretando o aumento de 6 vezes mais uso de combustíveis fósseis nos últimos 75 anos. Assim, o aquecimento global se intensifica gerando danos a ecossistemas por todo o globo, além de produzir efeitos climáticos devastadores. Dessa maneira, nota-se que o uso de fontes de hidrogênio não renováveis para a produção de amônia afeta consideravelmente faunas e floras mundiais (FELIX; CARDOSO, 2004).

4 PROCESSO DE PRODUÇÃO DA AMÔNIA AZUL E VERDE

Como comentado na seção anterior, novas tecnologias de produção de amônia sustentável estão sendo desenvolvidas para auxiliar a diminuição dos impactos ambientais, como a amônia azul e verde (YE *et al.*, 2017).

O processo produtivo da amônia azul consiste em capturar o CO_2 diretamente do processo Haber-Bosch, sequestrando o carbono e o estocando. Já a amônia verde é produzida através do gás hidrogênio advindo de fontes renováveis, como pela eletrólise da água com a energia elétrica de fontes renováveis (KELMAN, 2020).

4.1 Amônia azul: utilização de hidrogênio azul pela reforma a vapor de metano com captura e estocagem de carbono

Diante do cenário com menos modificações na forma de produção atual do NH_3 , uma possibilidade é a de se manter a reforma a vapor de metano para a formação do reagente H_2S , mas utilizar de mecanismos para capturar e estocar os gases do efeito estufa gerados (THE ROYAL SOCIETY, 2020).

Para isso, apresentaremos o processo produtivo da Yara com captura de carbono a partir da lavagem com água.

A planta de amônia NII gera aproximadamente 1 milhão de toneladas de CO_2 por ano em capacidade total, dos quais cerca de 40% são capturados (HAUGEN *et al.*, 2017). Além do gás carbônico gerado da reação de reforma, também há gás gerado para realizar o processo de captura de carbono, portanto, é necessário que seja pensado se essa alternativa é vantajosa.

4.1.1 Processo produtivo

Na indústria, os gases produzidos nos reformadores entram na seção de remoção de CO_2 a aproximadamente 50°C , e uma pressão de aproximadamente 26 bar, sendo que há um processo de lavagem com água, desenvolvido pela Yara, em que o CO_2 é removido do gás de processo por absorção na água a aproximadamente 8°C . Após passar pelas colunas de absorção, a água saturada de CO_2 é posteriormente processada em três etapas (HAUGEN *et al.*, 2017).

Na 1ª etapa, uma parte da água ainda pressurizada e saturada de CO_2 é despressurizada para liberar o CO_2 que será condicionado futuramente. Na outra parte da água que está despressurizada e saturada de CO_2 , é utilizado um sistema de sopro de ar para separar a água do CO_2 , sendo que o gás é arrastado pelo ar e a água é recirculada para as torres de pressurização (HAUGEN *et al.*, 2017).

Dois tanques cilíndricos liberam, principalmente, hidrogênio absorvido e componentes inertes (N_2) para serem recirculados para o fluxo do processo, pois uma parte do gás de processo enriquecido em CO_2 ainda possui esses componentes (HAUGEN *et al.*, 2017).

Na 2ª etapa, a pressão é reduzida para um pouco acima da pressão atmosférica e o CO_2 é liberado dando um fluxo de CO_2 concentrado. Este gás CO_2 é dividido em duas partes aproximadamente iguais, uma parte para uma planta de processamento de CO_2 para produzir dióxido de carbono em qualidade necessária para exportação, enquanto outra parte é ventilada para a atmosfera através de uma chaminé (HAUGEN *et al.*, 2017).

Na 3ª etapa, o CO_2 restante é removido da água de lavagem por aeração na parte inferior da torre do aerador e, em seguida, ventilado para a atmosfera. A lavagem com água deixa o gás de processo contendo aproximadamente 75% de H_2 e 25% de N_2 e uma pequena quantidade de CO. Posteriormente, esse gás de processo é convertido em NH_3 (HAUGEN *et al.*, 2017).

4.2 Amônia verde: utilização de hidrogênio verde através da eletrólise em membrana polimérica

Este processo é similar ao Haber-Bosch, a única diferença baseia-

se na fonte do gás hidrogênio utilizado, que, neste caso, é obtido a partir da eletrólise por energias renováveis. Dessa forma, estudaremos como o gás hidrogênio é formado para alimentar o processo de Haber-Bosch pela eletrólise em membrana polimérica (PEM) (KUMAR; HIMABINDU, 2019).

A tecnologia de eletrólise em membrana polimérica é semelhante à tecnologia da célula de combustível PEM, em que membranas sólidas polissulfonadas (Nafion, fumapem) são utilizadas como eletrólitos (condutor de prótons) (KUMAR; HIMABINDU, 2019).

Em termos de sustentabilidade e impacto ambiental, a PEM é um dos métodos mais favoráveis para a conversão de energia renovável em gás hidrogênio de alta pureza. Além disso, o design compacto, a alta densidade de corrente (acima de 2 A.cm^{-2}), a alta eficiência, a resposta rápida, a baixa pegada de carbono, a possibilidade de se operar sob temperaturas mais baixas (20°C – 80°C) e de se produzir oxigênio como subproduto são outras vantagens do método (KUMAR; HIMABINDU, 2019).

Os eletrocatalisadores para eletrólise PEM são metais nobres de alta reatividade na reação de evolução do hidrogênio (HER) que ocorre no cátodo e $\text{IrO}_2/\text{RuO}_2$ na reação de evolução do oxigênio (OER), reação que ocorre no ânodo, e os torna mais caros do que a eletrólise de água alcalina. Portanto, o principal desafio da eletrólise da água PEM é minimizar o custo de produção e manter a eficiência alta (KUMAR; HIMABINDU, 2019).

4.2.1 Processo produtivo

Na eletrólise PEM, a água é eletroquimicamente dividida em oxigênio e hidrogênio em seus respectivos eletrodos: oxigênio no ânodo e hidrogênio no cátodo. Assim, o processo começa pelo bombeamento de água para o ânodo, onde é separada em oxigênio (O_2), prótons (H^+) e elétrons (e^-). Esses prótons se deslocam pela membrana para a região do cátodo. Os elétrons saem do ânodo através do circuito de força externo, que fornece a força motriz (energia elétrica colocada na célula) para a reação. No lado do cátodo, os prótons e elétrons se recombina para formar o hidrogênio (KUMAR; HIMABINDU, 2019).

4.3 Amônia verde: produção da amônia através da oxidação do nitrogênio plasma-dirigida e da redução catalítica (PNO CRA)

Este processo é o mais inovador e ousado das três opções. O processo PNO CRA permite a produção de amônia a partir de água, ar e energia renovável por meio da oxidação de nitrogênio em plasma e subsequente redução catalítica em uma superfície de adsorção.

O plasma é um gás ionizado que consiste em elétrons, íons, moléculas de gás neutro, espécies moleculares excitadas, radicais, átomos e fótons. O

grande interesse no plasma se deve às suas propriedades únicas. O plasma gera espécies altamente reativas que facilitam a fixação de N_2 , podem ser operados sob pressão atmosférica e podem ser alimentados com energias renováveis, o que o torna perfeitamente adequado para produção contínua (HOLLEVOET *et al.*, 2020).

A síntese de NH_3 a partir de N_2 e H_2 é termodinamicamente favorecida (ΔG negativo). No entanto, devido à cinética lenta, grandes quantidades de energia são atualmente necessárias para ativar a molécula de N_2 relativamente inerte. O plasma poderia contornar esse problema, pois a energia elétrica aplicada aquece principalmente os elétrons leves, que ativam as moléculas de N_2 por dissociação de impacto de elétrons, ionização e excitação, criando átomos de N, íons e espécies excitadas, que reagem facilmente formando outros compostos, como o NH_3 . No entanto, há uma grande desvantagem no uso do plasma: existe um grande impasse entre conciliar um baixo consumo de energia e uma grande concentração de amônia no produto da reação. Sendo assim, novas pesquisas são necessárias para superar as limitações atuais (HOLLEVOET *et al.*, 2020).

4.3.1 Processo produtivo

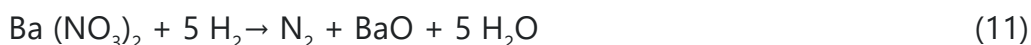
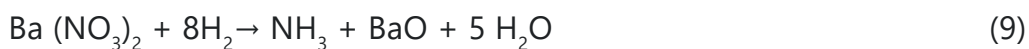
O processo inicia-se com a entrada de uma mistura gasosa de O_2/N_2 (ar) para o reator de plasma que opera a $1100^\circ C$, quando uma parte é convertida para NO. Nessa temperatura, o NO é, dentro dos compostos da família NO_x , o mais estável termodinamicamente, mas resfriar parte dessa mistura levaria à oxidação e à formação de um composto mais estável: NO_2 (HOLLEVOET *et al.*, 2020).

O gás de saída do reator é levado para um trocador de calor, equipamento onde o fluido é resfriado até a temperatura de $175^\circ C$, uma temperatura ideal para a adsorção de NO_x , assim como para a síntese de NH_3 , que ocorre na próxima etapa. Nessa temperatura, parte do NO reage espontaneamente para formar NO_2 (equação 8), originando uma mistura de gases NO_x , que será adsorvida na etapa de síntese (HOLLEVOET *et al.*, 2020).



No final da fase 1, a superfície de adsorção fica saturada de NO_x , o que resulta em baixas concentrações de NO_x residuais. A superfície de adsorção geralmente é formada por uma mistura de catalisadores que envolve Pt/BaO/ Al_2O_3 (HOLLEVOET *et al.*, 2020). Durante a fase 2, a superfície de adsorção preenchida com NO_x é alimentada com H_2 para acontecer a redução dos NO_x para NH_3 (equação 9). Além disso, outras duas reações acontecem simultaneamente, equações 10 e 11, sendo que a equação 4 é responsável

pela purga que acontecerá futuramente no processo (HOLLEVOET *et al.*, 2020).



O gás hidrogênio dessa reação é produzido pela eletrólise da água utilizando energias renováveis. O oxigênio produzido na eletrólise da água pode ser desviado para a entrada de gás inicial no reator de plasma e favorecer a reação desejada, pois pesquisas demonstraram que o aumento da concentração de O_2 na mistura gasosa de ar favorece a superfície de adsorção de NO_x no reator (HOLLEVOET *et al.*, 2020).

Os produtos da reação são resfriados até 40°C para a extração da amônia por água líquida. Essa etapa pode ser realizada em uma coluna de spray ou de adsorção. Ocorre o reciclo dos gases da superfície de adsorção para maximizar o uso do H_2 . Dessa forma, a concentração de H_2 na superfície de adsorção de NO_x durante a etapa de regeneração fica alta e facilita a redução do NO_x que ainda não foi reagido (HOLLEVOET *et al.*, 2020).

Parte do gás é purgado para evitar o acúmulo de N_2 inerte, formado na equação 11. Geralmente, na indústria automotiva, o primeiro ciclo ocorre por 60s e o segundo por 10s. No entanto, isso é inviável energeticamente em larga escala, dessa forma, opta-se por utilizar 6 unidades trabalhando no ciclo 1 e outra trabalhando no ciclo 2, fazendo com que o processo seja contínuo e viável (HOLLEVOET *et al.*, 2020).

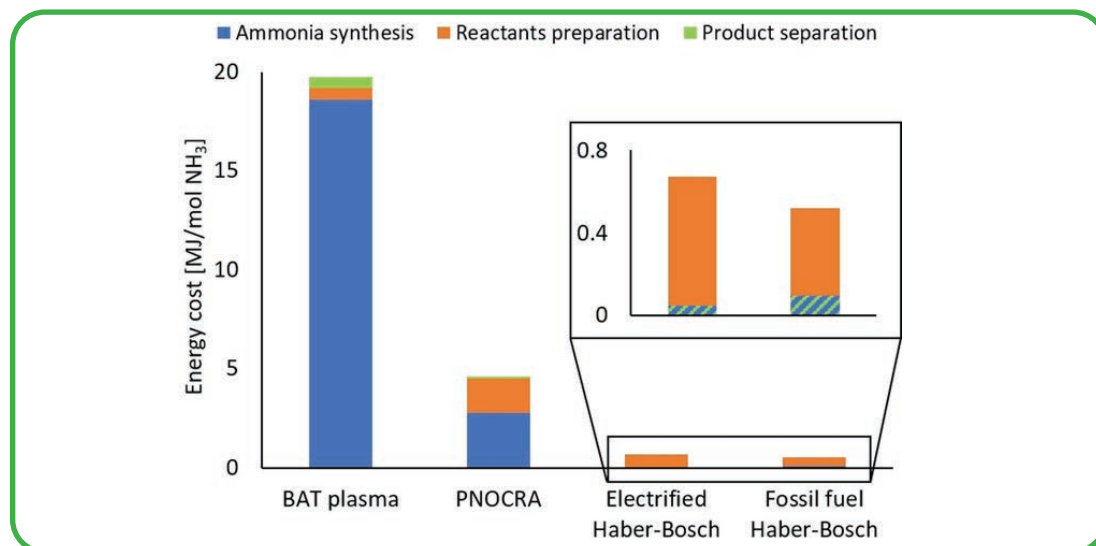
5 PERSPECTIVAS DE IMPLEMENTAÇÃO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DA AMÔNIA AZUL E VERDE

Apesar dos diversos benefícios ambientais proporcionados pela implementação dos processos produtivos da amônia azul e da amônia verde, é necessária uma análise realista do verdadeiro potencial que tais métodos possuem para serem aplicados de forma viável. Em primeiro lugar, a mudança da infraestrutura a fim de adequar uma mudança no processo acarreta custos e afetam a produtividade.

Segundo pesquisa realizada pela Shell, o custo da produção de amônia, seja ela azul ou verde, aumenta consideravelmente se comparado ao processo tradicional. Isso pode ser justificado pelo fato de os novos processos envolverem, além de custos de aquisição, operação e manutenção do equipamento Operational Expenditure (OPEX) e Capital Expenditure (CAPEX), custos com sequestro e reciclo de CO_2 ou mesmo da energia necessária para

o processo de eletrólise (THE ROYAL SOCIETY, 2020). Além disso, a faixa de variação potencial de investimentos é maior, já que a implementação desses métodos pode incluir desde alterações na estrutura básica da planta industrial até variações menos significativas para melhorar a sua eficiência.

Figura 1. Custos energéticos para diferentes processos produtivos da amônia



Fonte: Hollevoet *et al.* (2020).

Outro exemplo dentre as possíveis dificuldades de implementação é o aumento do custo energético da operação. Mesmo considerando que a situação ideal de toda energia consumida seria advinda de fontes renováveis, métodos como o uso de plasma ou a eletrólise para obtenção de CO₂ aumentam o consumo energético e os gastos com energia. Assim como exposto na Figura 1, o uso do processo PNO CRA consome 4,61 MJ/mol NH₃, mas a melhor opção de BAT plasma consome 19,5 MJ/mol NH₃ e sua eficiência de adsorção catalítica apresenta resultados inferiores. Já em relação ao processo Haber-Bosch utilizando combustíveis fósseis o consumo varia entre 0,52 e 0,81 MJ/mol NH₃. Por fim, utilizando a eletrólise para obtenção de hidrogênio, o consumo é de 0,70 MJ/mol (HOLLEVOET *et al.*, 2020).

Passando de análises mais gerais para casos mais específicos, é possível apontar algumas considerações sobre cada processo analisado:

- Amônia azul utilizando reforma a vapor do metano e estocagem de CO₂: esse sistema aposta no sequestro do CO₂ produzido na planta. Contudo, também devem ser considerados a poluição e os gastos proporcionados pela execução do procedimento, colocando tais aspectos frente a frente com o rendimento médio de 40% na eficiência da captura do carbono, sem contar seus gastos de estocagem. Por conta disso, apesar de vantajoso para o meio ambiente, tal processo,

como já demonstrado na Figura 1, tem um custo alto e sua aplicação não é tão simples. A fim de torná-lo mais viável, seria necessário desenvolver métodos de captura e estocagem de CO_2 mais eficientes, viáveis economicamente e passíveis de serem aplicados em escala industrial.

- Amônia verde utilizando H_2 advindo de eletrólise com membranas poliméricas: levando em conta o equilíbrio entre viabilidade econômica e mitigação dos impactos ambientais, o método de produção da amônia verde em questão se mostra como uma alternativa interessante, pelo menos no quesito das grandes escalas industriais. Além disso, como já mencionado, a utilização da membrana polimérica fornece grandes vantagens e eficiência na produção de H_2 . Entretanto, a necessidade de uso de catalisadores de metais nobres, como a platina, é a principal barreira para o emprego desse método em grande escala. Logo, a busca por possíveis alternativas de catálise para a eletrólise da água (PEM) facilitaria a disseminação dessa forma de produção do hidrogênio e, depois, da amônia verde.
- Amônia verde pela oxidação plasma-dirigida do N e redução catalítica (PNOCRA): tal processo ainda está em fase de pesquisa e desenvolvimento e, por isso, ainda não se sabe sua real aplicabilidade em maior escala. Mesmo assim, o alto custo energético e/ou a utilização de grandes quantidades de plasma aumentam muito seu custo de aplicação em grandes escalas. Contudo, o real destaque desse método é a possibilidade de implementação em produções de pequena e média escala. Além dos benefícios ambientais, esse meio de produção da amônia, conforme já demonstrado, apresenta a facilidade de obtenção de fertilizantes a base de NH_4NO_3 , por conta de sua rota de síntese. Essa opção pode tornar o processo mais atraente para indústrias desse porte devido à variação de seu escopo de atuação e o possível aumento das fontes lucrativas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nas informações acima expostas, é mister afirmar que a produção tradicional da amônia, sustentada pelo viés econômico e logístico, ainda configura o principal método de síntese de NH_3 e, dificilmente, haverá uma robusta migração para processos alternativos em um curto prazo. Todavia, devido aos altos custos ambientais gerados pelo processo Haber-Bosch, somados à utilização em massa de recursos não renováveis, a tendência em um período mais extenso é o esgotamento das fontes energéticas - os combustíveis fósseis - provocando o encarecimento do procedimento. Assim, conquanto a competitividade da amônia verde ou azul não seja tão notória hodiernamente, é imprescindível o estudo e desenvolvimento desses

novos modelos de produção a fim de facilitar a transição para alternativas de síntese sustentáveis.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, M. C.; BALDINATO, J. O. A síntese de amônia: uma proposta de estudo histórico para a formação de professores de química vinculada ao Prêmio Nobel de Fritz Haber. **História da Ciência e Ensino: construindo interfaces**, [s. l.], v. 11, p. 91-129, 2015.

CHAGAS, A. P. A síntese da amônia: alguns aspectos históricos. **Química nova**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 240-247, 2007.

DANFOSS. Por que usar a amônia na refrigeração industrial? **Danfoss: engineering tomorrow**. 2020. Disponível em: <https://www.danfoss.com/pt-br/markets/refrigeration-and-air-conditioning/dcs/industrial-refrigeration/ammonia-in-industrial-refrigeration/why-ammonia/>. Acesso em: 18 maio 2020.

BARROS, K. M. ; FARIA, S. A. **Avaliação de ecoindicadores para processos de síntese de amônia**. Universidade Federal Fluminense Centro Tecnológico Escola de Engenharia Departamento de Engenharia Química e de Petróleo, 2015.

FELIX, E. P.; CARDOSO, A. A. Amônia (NH₃) atmosférica: fontes, transformação, sorvedouros e métodos de análise. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 123-130, 2004.

FRAZÃO, J. J.; SILVA, A. R.; SILVA, V. L.; OLIVEIRA, V. A.; CORRÊA, R. S. Fertilizantes nitrogenados de eficiência aumentada e ureia na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 12, p. 1262-1267, 2014.

HABER, F.; LE ROSSIGNOL, R. **Production of ammonia**: application filed aug. 13, 1909. Patented Oct. 31, 1916. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/US1202995A/en>. Acesso em 18 maio 2021.

HAUGEN, H. A.; ELDRUP, N. H.; FATNES, A. M.; LEREN, E. Commercial capture and transport of CO₂ from production of ammonia. **Energy Procedia**, [s. l.], v. 114, p. 6133-6140, 2017.

HOLLEVOET, L.; JARDALI, F.; GORBANEV, Y.; CREEL, J.; BOGAERTS, A.; MARTENS, J. A. Towards green ammonia synthesis through plasma-driven nitrogen oxidation and catalytic reduction. **Angewandte Chemie: International edition**, v. 59, n. 52, p. 23825-23829, 2020.

INACIO, S. R. F. Produção e comercialização de insumos para produção de fertilizantes: Um panorama mundial e os paradigmas do Brasil. Grupo de Extensão e Pesquisa em Logística Agroindustrial – **ESALQ-LOG USP**. 2013.

KKELMAN, R. **Amônia verde**. [S. l.]: Brasil Energia, 2020. Disponível em: <https://editorabrasilenergia.com.br/amonia-verde/>. Acesso em: 18 maio 2021.

KUMAR, S.; HIMABINDU, V. Hydrogen production by PEM water electrolysis: a review. **Materials Science for Energy Technologies**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 442-454, 2019.

LANA, R. P. Uso racional de recursos naturais não-renováveis: aspectos biológicos, econômicos e ambientais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. esp, p. 330-340, 2009.

LEIGH, G. J. Haber-Bosch e outros processos industriais. In: SMITH B. E.; RICHARDS, R. L.; NEWTON, W. E. (ed.). **Catalisadores para fixação de nitrogênio**. Fixação de nitrogênio: Origens, Aplicações e Progresso da Pesquisa, [S. l.], v. 1, 2004. DOI 10.1007/978-1-4020-3611-8_2.

NAYAK-LUKE, R.; BANARES-ALCANTARA, R.; WILKINSON, I. "Green" ammonia: impact of renewable energy intermittency on plant sizing and levelized cost of ammonia. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, [s. l.], v. 57, n. 43, p. 14607-14616, 2018.

PAIXÃO, V. P. **Análise retro-tecno-econômica de uma planta de produção de amônia baseada na gaseificação de resíduo sólido urbano**. 2018. 115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

SOUZA, F.; MACHADO, L. O que é o nitrato de amônio, principal suspeito de ter causado a mega explosão em beirute. **BBC News Brasil**, São Paulo, 4 ago. 2020. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/internacional-53659549>. Acesso em 18 maio 2021.

THE ROYAL SOCIETY. Ammonia: zero-carbon fertiliser, fuel, and energy store. **The Royal Society**, 2020. Disponível em: <https://royalsociety.org/topics-policy/projects/low-carbon-energy-programme/green-ammonia/>. Acesso em: 18 maio 2021.

VIEIRA, R. F. **Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2017.

VITTI, G. C.; HEINRICHS, R. Formas tradicionais e alternativas de obtenção e utilização do nitrogênio e do enxofre: uma visão holística. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S.; VITTI, G. C. **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira**. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute Brasil, 2007. p. 109-160.

YE, L.; NAYAK-LUKE, R.; BAÑARES-ALCÁNTARA, R.; TSANG, E. Reaction: "green" ammonia production. **Chem**, [s. l.], v. 3, n. 5, p. 712-714, 2017

ZHANG, H.; WANG, L.; VAN HERLE, J.; MARÉCHAL, F.; DESIDERI, U. Techno-economic comparison of green ammonia production processes. **Applied Energy**, [s. l.], v. 259, p. 1-12, 2020.



CAPÍTULO 10

EFEITO DA ADUBAÇÃO COM ZINCO E COBRE NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE *EUCALYPTUS SP.*

Carlos Leonardo Pereira Bogas

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, Brasil.

Vitória Costa Mingoranci

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, Brasil.

João Miguel Bacci

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, Brasil.

Yanca Araujo Frias

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, Brasil.

Rafael Simões Tomaz

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, Brasil.

Vitor Corrêa de Mattos Barretto

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, Brasil.

Resumo

O eucalipto é uma espécie que tem se adaptado muito bem às condições do clima e dos solos brasileiros. É hoje a principal cultura utilizada para produção de madeira, celulose, entre outros produtos. Devido ao desenvolvimento de programas de melhoramento genético, que buscam desenvolver indivíduos superiores, o eucalipto consegue cada vez mais expandir sua área de produção. Entender as relações genótipo × ambiente e a forma como a cultura reage a certos ambientes permite aos pesquisadores desenvolver espécies cada vez mais adaptadas a áreas marginais antes não aproveitadas pelo setor florestal. Junto a isso, o emprego de técnicas de mini estaquia e micropropagação auxiliam no desenvolvimento rápido de novos materiais, e permite aos viveiros produzir mudas em larga escala, atendendo as empresas do setor em quantidade e qualidade de seus materiais. A expansão para áreas marginais tem levado ao surgimento de sintomas de deficiência, principalmente micronutrientes, que normalmente não são empregados nos programas de adubação de povoamentos florestais, com ressalvas ao boro, mais recentemente. Isso tem levado empresas e instituições de pesquisa a buscar entender as relações entre micronutrientes e o eucalipto, principalmente o zinco e o cobre, muito importantes para um bom desenvolvimento da cultura.

1 INTRODUÇÃO

Diversas culturas têm se adaptado bem ao clima e solos do Brasil, com destaque ao gênero *Eucalyptus* sp. (DORES *et al.*, 2007). Introduzido no Brasil no início do século XX, com o objetivo de substituir o uso de madeiras oriundas de espécies nativas, que, pela exploração desenfreada, corriam risco de desaparecer (SCHUMACHER; VIEIRA, 2016), o gênero *Eucalyptus* sp. vem ganhando espaço no mercado madeireiro. Em 2019 o Brasil possuía uma área aproximada de 6,97 milhões de hectares plantados com espécies do gênero (INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES - IBÁ, 2020).

No Brasil, houve uma intensificação da silvicultura clonal a partir de meados dos anos 80, na busca por obtenção de materiais que fossem mais eficientes e adaptados aos ambientes encontrados no país (SCHUMACHER; VIEIRA, 2016). A expansão do eucalipto pelo Brasil se deu por diversos fatores, como boa adaptação ao clima, com baixo teor de nutrientes, bem drenados e o crescimento rápido nas regiões tropicais (SCHUMACHER; VIEIRA, 2016).

As principais características que os programas de melhoramento têm buscado melhorar, são, a uniformidade de talhões, a redução de porcentagem de falhas, o aumento da produção por área, a melhoria da qualidade da madeira, da celulose, a resistência a doenças e condições ambientais desfavoráveis (excesso de chuva, falta de chuva, ventos fortes, entre outras) e as condições de solo (ASSIS, 2015).

Tão importante quanto a manutenção e corte das árvores, é a produção de mudas de eucalipto, que vem cada vez mais desenvolvendo e aprimorando tecnologias e procedimentos na busca por melhorarias na eficiência do plantio e desenvolvimento inicial da cultura, fase que é a mais crítica da cultura (SIMÕES *et al.*, 1971). Atualmente, os viveiros que produzem mudas trabalham com altíssima tecnologia para atender uma demanda cada vez maior das empresas do setor.

O crescimento da área plantada tem levado as empresas a explorarem áreas com baixíssimos teores de nutrientes, o que tem levado ao surgimento de sintomas de deficiência de micronutrientes (LACLAU, 2013). Mesmo a cultura do eucalipto sendo tolerante a baixos níveis de alguns nutrientes, seu crescimento e produção são limitados, o que tem preocupado algumas empresas recentemente.

A pesquisa sobre o comportamento de micronutrientes é de extrema importância para que se possa compreender de que forma o manejo da adubação desses elementos deve ser realizado para atender as necessidades dos produtores e das empresas.

2 GÊNERO *EUCALYPTUS* E O MELHORAMENTO GENÉTICO FLORESTAL

O gênero *Eucalyptus* compreende as espécies exóticas mais plantadas no Brasil, devido à sua adaptação às condições climáticas e edáficas, e à sua alta produtividade e ciclos de produção curtos em comparação com as espécies nativas. Seu cultivo se destina principalmente à produção de celulose, bio-óleo, lenha e carvão vegetal. O comércio internacional de celulose e a intensa busca por fontes alternativas de energia têm motivado cada vez mais o estabelecimento de plantações de eucalipto em vários países do mundo (ALVES *et al.*, 2020b).

Com o estabelecimento das plantações, vários programas de pesquisa e reprodução foram iniciados a fim de proporcionar indivíduos superiores. Nesse sentido, a obtenção de parâmetros genéticos é de grande importância, pois permite a estimativa dos ganhos genéticos com o processo de seleção, bem como a identificação de indivíduos ou famílias mais adaptadas aos diferentes ambientes (FRIAS *et al.*, 2020).

A compreensão do impacto da interação genótipo $\times$ ambiente ($G \times E$), que se caracteriza por uma resposta diferencial de genótipos a uma mudança no ambiente, é fundamental para a concepção eficiente de programas de criação e implantação de genótipos com alto desempenho (ALVES *et al.*, 2020a). Onde ocorre, $G \times E$ complica o desenho de programas de criação, mas também oferece oportunidades para combinar os estoques de plantio mais apropriados com as condições de implantação direcionadas para otimizar a saúde, o crescimento e a qualidade da madeira nas florestas manejadas intensivamente (LI *et al.*, 2017).

A variação genética envolve diferenças entre as normas de reação, enquanto que a variação ambiental se refere às diferenças fenotípicas dentro das normas (RESENDE, 2015). A variação não genética, frequentemente chamada de plasticidade fenotípica ou modificação epigenética, permite ao indivíduo se adaptar melhor durante o desenvolvimento. Assim, genótipos com amplas normas de reação são geralmente considerados melhor adaptados porque são capazes de se desenvolver em uma série de situações ambientais (ALVES *et al.*, 2020b).

3 SILVICULTURA CLONAL

Com foco em grandes inovações em processos tecnológicos para a adoção adequada de práticas sustentáveis e manejo, em conjunto com o melhoramento genético, o aumento da disseminação de tais avanços dentro dos setores florestais torna-se de grande relevância no desenvolvimento econômico (IBÁ, 2020). No que se diz respeito à silvicultura clonal, o aumento da utilização de clones em âmbitos florestais se torna perceptível nas últimas décadas e, conseqüentemente, amplia a produtividade de áreas plantadas em todo território nacional. De forma geral, a silvicultura clonal é compreendida

pela padronização dos plantios clonais garantindo, assim, a eficácia dos processos e a qualidade do produto final (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2009).

Desse modo, a constituição de uma nova visão para a intensificação de plantios clonais com técnicas de micropropagação e miniestaquia em empresas florestais promove maior enfoque e investimento em pesquisas para avaliar o avanço da adaptação de espécies florestais em condições edafoclimáticas, assegurando uma elevação considerável na produtividade (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS - ABRAF, 2013). Além disso, a utilização de espécies do gênero *Eucalyptus* em áreas plantadas condiz cerca de 6,97 milhões de hectares em relação à área de árvores plantadas em todo o Brasil (IBÁ, 2020), notável interesse econômico, que implica em grande ênfase nas escolhas de clones selecionados para obtenção de um banco de variabilidade genética (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2013).

Diante disso, o aproveitamento da propagação vegetativa no desenvolvimento de clones selecionados desempenha funções importantes no cenário atual da silvicultura. No entanto, o processo produtivo de mudas exige o entendimento de áreas específicas para a sua reprodução e o seu desenvolvimento (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2013). As empresas do setor florestal brasileiro adotam como método principal de propagação vegetativa a miniestaquia (ALFENAS *et al.*, 2009).

De acordo com (FERRIANI; ZUFFELLATO-RIBAS; WENDLING, 2010) podemos entender que miniestaquia é o processo pelo qual se aproveita o potencial juvenil dos propágulos para indução do enraizamento. Nesse sentido, vale salientar a importância desse processo para atender a necessidade de produção de mudas em larga escala para diversos fins, podendo representar uma alternativa promissora para espécies lenhosas que manifestem dificuldade de enraizamento do material adulto, ou cujas sementes representem fator limitante, trazendo vantagens relacionadas à redução da área de produção, diminuição do período de enraizamento e aclimação, além da redução do uso de reguladores vegetais para indução do enraizamento.

De acordo com Cunha *et al.* (2009) a temperatura pode influenciar o enraizamento, atuando principalmente na absorção de nutrientes e no metabolismo, especialmente em regiões com clima subtropical predominante. Logo, esse fator ambiental deve ser regulado para uma ótima produção de miniestacas. A temperatura mais adequada para o enraizamento de explantes está entre 20 e 30 °C. A divisão celular é favorecida com o aumento da temperatura e, conseqüentemente, ajuda na formação de raízes e na produção de brotos. No entanto, temperaturas exageradamente altas durante a fase de enraizamento devem ser evitadas por favorecerem o desenvolvimento de gemas laterais antes do aparecimento de raízes (CUNHA *et al.*, 2009).

A intensidade de luz pode influenciar demasiadamente a produção de brotos e o enraizamento de estacas por redução ou pelo aumento de substâncias fenólicas endógenas, as quais podem agir como inibidores ou

promotores, dependendo das concentrações nos tecidos e da espécie. Boas condições de iluminação também favorecem o transporte basípeto de auxinas endógenas, se comparadas às plantas sombreadas, e, conseqüentemente, podem afetar a rizogênese adventícia. O equilíbrio entre os níveis de auxina e citocinina é uma das relações primárias na propagação de plantas, em que a alta relação auxina/citocinina favorece o enraizamento, ao passo que a elevada relação citocinina/auxina favorece a formação de brotações. A umidade é um dos fatores de extrema relevância para a propagação vegetativa, sendo fundamental para as estacas com folhas. A existência de folhas nas estacas colabora com o enraizamento, por promover a fotossíntese, sendo seus fotoassimilados imprescindíveis para a iniciação radicular (CUNHA *et al.*, 2009).

Além de técnicas de propagação vegetativa como a referida miniestaquia, os processos deliberados na metodologia de micropropagação influenciam da mesma forma em diversas espécies (GROSSI, 1995; GROSSI, 2000). Logo, a micropropagação consiste na propagação *in vitro*, gerada a partir de etapas, na qual realiza-se desde a obtenção de determinado explante em campo até o enraizamento das plantas com a aclimação em âmbito *ex vitro* (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2009). No entanto, em relação ao material coletado em campo, esse precisa passar por desinfestação e se manter em ambiente controlado, para que então possa prosseguir nas fases determinadas (DUTRA; WENDLING; BRONDANI, 2010).

A partir do que foi percorrido, a micropropagação também apresenta vantagens de suma importância em relação a espécies lenhosas, como por exemplo, a clonagem de híbridos com altas taxas de crescimento, tolerância a baixas temperaturas, salinidade, resistência a pragas e doenças. Desse modo, outra vantagem que se destaca é o rejuvenescimento de árvores adultas selecionadas e melhoradas geneticamente, induzindo de forma elevada o enraizamento (MCCOMB; BENNETT, 1986).

4 EFEITO DO MACRO E MICRONUTRIENTES NA CULTURA DO EUCALIPTO

O plantio de materiais genéticos mais produtivos e exigentes nutricionalmente pelas empresas florestais tem aumentado o aparecimento de sintomas de deficiência de micronutrientes, principalmente de boro (B) e, mais recentemente, de cobre (Cu) e de zinco (Zn), sobretudo em áreas de Cerrado, devido à uma deficiência natural desses nutrientes em latossolos (MATOS *et al.*, 2012). Os estudos de nutrição de espécies florestais têm sido focados nos macronutrientes e, recentemente, no B, porém, sabe-se que a limitação de um dos nutrientes essenciais pode impedir o máximo desenvolvimento das árvores, ou reduzir características comerciais, como a qualidade da madeira, o teor de celulose e a dureza do material (SCHUMACHER; VIEIRA, 2016). A obtenção de plantios florestais com alto rendimento depende de adequada nutrição, desde a fase de viveiro e no início do desenvolvimento após o plantio

no campo.

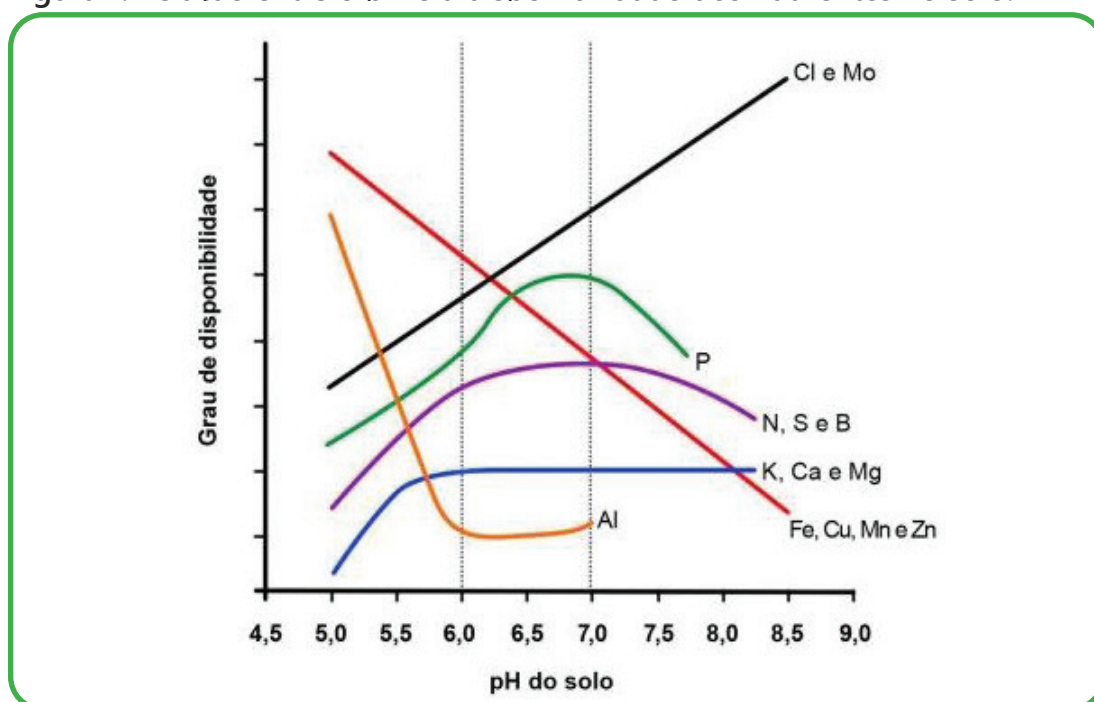
Muito se especula sobre o ideal nível de adubação a ser empregado nos viveiros, porém, Wilde *et al.* (1958) relataram que, na fase inicial de desenvolvimento antes de ir a campo, as mudas não devem receber altas doses de nutrientes, apenas uma adubação de manutenção, pois elevar o nível dos nutrientes nessa fase pode reduzir a taxa de pegamento no campo. Mudanças que são levadas ao campo com uma copa muito grande tendem a ser mais sensíveis a estresse hídrico, a ataques de insetos, a doenças e se tornam pouco adaptáveis aos ambientes utilizados para plantios comerciais de eucaliptos. A adubação com macronutrientes continua sendo de vital importância para que um povoamento de eucalipto tenha vigoroso desenvolvimento, além de permitir a planta maior resistência a fatores abióticos, como déficit hídrico, ataques de insetos, doenças entre outros (LACLAU, 2013).

Os solos utilizados no cultivo do eucalipto normalmente são solos com pH baixo, baixa disponibilidade de nutrientes e baixo teor de argila, ou seja, com alta drenagem hídrica (SIMÕES *et al.*, 1971). Mesmo ocorrendo uma reposição nutricional, as perdas provocadas pela lixiviação e/ou eluviação podem prejudicar o desenvolvimento da cultura, e ainda que realizada uma adubação de plantio, é necessária a realização de um monitoramento ao longo dos anos, realizando nesse processo análises foliares para identificar possível demanda de algum nutriente essencial pelo eucalipto. Por se tratar de uma espécie perene, que ficará alocada em um ambiente por 5 a 7 anos, é importante a realização de um preparo de solo que permita a manutenção das qualidades químicas desse solo por todo o ciclo do eucalipto (MATOS *et al.*, 2012).

Ferreira *et al.* (2001) e Malavolta (2006) descrevem, de maneira geral, que o aumento do pH reduz a disponibilidade de alguns nutrientes na solução do solo, como mostrado na Figura 1. Além disso, altas taxas de adubação fosfatada também podem provocar aparecimento de deficiência de zinco devido ao aumento do potencial de crescimento provocado pela alta disponibilidade do fósforo. Altos teores de matéria orgânica também podem dificultar a absorção do zinco pelas plantas, pois ele fica fixado nas cargas negativas presentes na matéria orgânica do solo (CAMARGO, 2006).

A partir de uma análise de solo, é possível identificar se pode haver resposta ou não de adubação desse micronutriente, observando se os teores dos micronutrientes no solo estão baixos ou, em alguns casos, teores médios em plantios com alto potencial produtivo (ASSIS, 2015).

Figura 1. Relação entre o pH e a disponibilidade dos nutrientes no solo.



Fonte: Malavolta (2006).

Quando se fala em manejo nutricional em plantios florestais, a análise química foliar e do solo são as ferramentas mais utilizadas na recomendação de adubação e no diagnóstico de deficiência de nutrientes (LACLAU, 2013) por refletirem de forma objetiva e clara a disponibilidade de nutrientes no solo, e se esses nutrientes estão sendo absorvidos pelas plantas.

Oliveira *et al.* (2001) relatam que um dos principais motivos pelo qual se analisam as folhas é pelo fato de serem o órgão que melhor reflete o estado nutricional da planta, e que respondem mais rapidamente e com maior grau de sensibilidade às variações no suprimento de elementos nutricionais, seja pelo estado do solo, seja devido a alguma adubação realizada.

4.1 Funções e demandas de zinco e cobre

O zinco é um micronutriente presente no metabolismo vegetal. Funciona como um ativador enzimático, e compõe a estrutura de enzimas, como a fosfolipase, dentre outras. Presente no metabolismo do RNA, o zinco é responsável pela ativação da RNA polimerase (responsável pela síntese do RNA). Por estar atrelado ao metabolismo do RNA, a deficiência de zinco pode diminuir a síntese de proteínas, dificultando o crescimento, principalmente nas regiões apicais (BRANCALIÃO; CAMPOS; BICUDO, 2015).

De acordo com Camargo (2006), o zinco é biodisponível na solução do solo, em uma faixa de pH levemente ácido, como Zn^{2+} ou em menor quantidade como $Zn(OH)^+$ ou $Zn(OH)_2$. A absorção de zinco ocorre pelo processo de fluxo

de massa, que está atrelado à presença de água no sistema solo planta, e que depende da taxa de transpiração das plantas para que ocorra de forma equilibrada (CAMARGO, 2006). Fatores como pH alto e teores de fósforo elevado podem inibir a absorção de zinco.

Por ter baixa mobilidade dentro da planta, os sintomas de deficiência de zinco aparecem em folhas novas, que ficam lanceoladas e pequenas, no surgimento de superbrotção da região apical, e na perda de dominância apical (SILVEIRA *et al.*, 2001). Normalmente a deficiência do zinco resulta na diminuição do conteúdo celular e no menor crescimento apical, devido a distúrbios no metabolismo das auxinas, essas responsáveis pelo alongamento celular antes das divisões celulares. Os sintomas de deficiência visual nas plantas caracterizam-se em folhas novas, que se tornam curtas, assimétricas e largas na parte média (CAMARGO, 2006).

De acordo com Ambrosini *et al.* (2016), o cobre é um micronutriente importante como ativador enzimático e na composição de algumas enzimas responsáveis no transporte de elétrons, como plastocianina, lacase, entre outras. Ele é um dos elementos mais importantes no processo de fotossíntese, em que cerca de 70% do cobre encontrado nos vegetais se encontram nos cloroplastos. Além disso, o cobre e o zinco compõem a enzima citocromo oxidase, que é responsável pelo transporte de elétrons dentro do processo de fosforilação oxidativa, ou seja, a deficiência desses elementos afeta funções primordiais dos vegetais.

Em pH menor que 8, as formas Cu^{2+} , $\text{Cu}_2(\text{OH})_2^{2+}$ e $\text{Cu}(\text{OH})^+$ são as mais encontradas na solução do solo (LINDSAY, 1979). A absorção de cobre ocorre preferencialmente pelo fluxo de massa, porém em menor escala por interceptação radicular (CAMARGO, 2006).

Sintomas de deficiência de cobre são observados normalmente nas partes mais jovens da planta, quando se exige uma correção pesada do pH do solo, com altas doses de corretivos e de adubações fosfatadas (CAMARGO, 2006). Caracterizados por folhas novas deformadas, com morte descendente dos ramos que ficam com aspecto de caídos, e em casos mais severos, podendo ocorrer a quebra do ponteiro (SILVEIRA *et al.*, 2001).

Apesar da disponibilidade desses nutrientes serem baixas em solos de cerrado, a quantidade existente disponível na solução do solo ainda costuma ser suficiente para suprir as demandas dos plantios comerciais (BAHIA; BRAGA, 1974).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cultura do eucalipto possui um grande potencial de crescimento, tendo em vista a necessidade cada vez maior de madeira e derivados, e regras de exploração de árvores nativas cada vez mais rigorosas. Com isso, o foco em se estudar e desenvolver materiais cada vez mais adaptados às realidades de solo,

clima e ambiente será de suma importância para que a atividade continue sendo rentável e tenha a oportunidade de expandir, seja em área, seja aumentando a produtividade. Para isso, técnicas de propagação devem ser empregadas e melhoradas, permitindo que os viveiros continuem atendendo uma demanda cada vez maior, não apenas em quantidade, mas também em qualidade de seus materiais genéticos.

REFERÊNCIAS

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2 ed. Viçosa, MG: UFV, 2009. 500 p.

ALVES, R. S.; RESENDE, M. D. V.; AZEVEDO, C. F.; SILVA, F. F.; ROCHA, J. R. A. S. C.; NUNES, A. C. P.; CARNEIRO, A. P. S.; SANTOS, G. A. Optimization of *Eucalyptus* breeding through random regression models allowing for reaction norms in response to environmental gradients. **Tree Genetics & Genomes**, [s. l.], v. 16, n. 38, p. 1-8, 2020b.

ALVES, R. S.; RESENDE, M. D. V.; ROCHA, J. R. A. S. C.; PEIXOTO, M. A.; TEODORO, P. E.; SILVA, F. F.; BHERING, L. L.; SANTOS, G. A. Quantifying individual variation in reaction norms using random regression models fitted through Legendre polynomials: application in eucalyptus breeding. **Bragantia**, Campinas, v. 79, n. 4, p. 360-376, 2020a.

AMBROSINI, V. G.; SORIANI, H. H.; ROSA, D. J.; TIECHER, T. L.; GIROTTO, E.; SIMÃO, G. D.; MELO, G. W. B.; ZALAMENA, J.; BRUNETTO, G. Impacto do excesso de cobre e zinco no solo sobre videiras e plantas de cobertura. In: MELO, G. W. B. de; ZALAMENA, J.; BRUNETTO, G.; CERETTA, C. A. **Calagem, adubação e contaminação em solos cultivados com videiras**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2016. p. 91-110. (Embrapa uva e Vinho, n. 100).

ASSIS, T. F. Melhoramento genético de Eucalyptus: desafios e perspectivas. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE SILVICULTURA, 3., Campinas, 2014. **Anais [...]**. Campinas: Malinovski, 2014. p. 113-134..

ABRAF. **Anuário estatístico da ABRAF**: ano base 2012. Brasília: ABRAF, 2013.

BAHIA, F. G. T. C.; BRAGA, J. M. I. influência da adubação fosfatada e calagem sobre a absorção de zinco em dois solos de Minas Gerais. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 21, n. 115, p. 167-192, 1974.

BRANCALIÃO, S. R.; CAMPOS, M.; BICUDO, S. J. Crescimento e desenvolvimento de plantas de mandioca em função da calagem e adubação com zinco. **Nucleus**, Ituverava, v. 12, n. 2, p. 175-182, 2015.

CAMARGO, O. A. Reações e interações de micronutrientes no solo. **InfoBilos**, [s. l.], 2006. Disponível em: http://www.infobilos.com/Artigos/2006_3/micronutrientes/Index.htm. Acesso em: 8 mar. 2021.

CUNHA, A. C. M. C. M.; PAIVA, H. N.; LEITE, H. G.; BARROS, N. F.; LEITE, F. P. Relações entre variáveis climáticas com produção e enraizamento de miniestacas de eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 2, p. 195-203, 2009.

DORES, A. M. B.; CHAGAS, F. B.; MATOS, R. L. G.; GONÇALVES, R. M. Panorama

setorial: setor florestal, celulose e papel. In: TORRES FILHO, E. T.; PUGA, F. P. **Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (Brasil):** Perspectivas do investimento 2007/2010. Rio de Janeiro: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social, 2007. p. [107]-134.

DUTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. A Micropropagação de Eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 58, p. 49-59, 2009.

FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P.; RAIJ, B.; ABREU, C. A. **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura.** Jaboticabal: CNPq: FAPESP: POTAFOS, 2001. 600 p.

FERRIANI, A. P.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I. Miniestaquia aplicada a espécies florestais. **Revista Agroambiente**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 102-109, 2010.

FRIAS, Y. A.; OLIVEIRA, O. G. T. M.; DELLAQUA, J. V. T.; PRADO, E. P.; LOPES, P. R. M.; LIMA, R. C.; CRUZ, C. D.; TOMAZ, R. S. Plant stand failures effect in genetic parameters estimation procedure in *Eucalyptus* sp. **International Journal for Innovation Education and Research**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 264-276, 2020.

GROSSI, F. **Adequação Nutricional do meio de cultura para crescimento e desenvolvimento de gemas de *Eucalyptus Sligna* Smith in vitro, procedência Itatinga.** 1995. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

GROSSI, F. **Aspectos da nutrição nitrogenada in vitro e atividade da redutase de nitrato em uma espécie de bromélia.** 2000. 116 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

IBÁ. **Relatório anual 2020:** Ano base 2019. FGV: São Paulo, 2020.

LACLAU, P. R. F. B. **Efeitos da adubação potássica sobre a adaptação à seca do *Eucalyptus grandis*.** 2013. 137 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

LI, Y.; SUONTAMA, M.; BURDON, R. D.; DUNGEY, H. S. Genotype by environment interactions in forest tree breeding: review of methodology and perspectives on research and application. **Tree Genetics & Genomes**, [s. l.], v. 13, n. 60, p.1-18, 2017.

LINDSAY, W. L. **Chemical equilibria in soils.** New York: John Wiley & Sons, 1979. p. 448-451.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas.** São Paulo: Agronômica Ceres, 2006.

MATOS, G. S. B.; SILVA, G. R.; GAMA, M. A. P.; VALE, R. S.; ROCHA, J. E. C. Desenvolvimento inicial e estado nutricional de clones de eucalipto no nordeste do Pará. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 42, n. 4, p. 491-500, 2012.

MCCOMB, J. A.; BENNETT, I. N. Forest and nut trees. 7. Eucalypts (*Eucalyptus* spp.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry**, [s. l.], v. 1, p. 340-362, 1986.

OLIVEIRA, A. C.; WEISS, D.; PINTO, L. S.; REISSMANN, C. B. **Procedimentos de coleta para análise foliar de essências florestais (araucária, erva-mate, palmito, eucalipto, pinus).** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, Projeto de Extensão Universitária Solo Planta, 2001.

- RESENDE, M. D. V. **Genética quantitativa e de populações**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2015.
- SCHUMACHER, M. V.; VIERA, M. **Silvicultura do eucalipto no Brasil**. Fundação de Apoio a Tecnologia e Ciência, Editora: UFSM, 2016.
- SILVEIRA, R. L. V. A.; HIGASHI, E. N.; SGARBI, F.; MINIZ, M. R. A. Seja o doutor do seu eucalipto. **Potafos**: Informações Agronômicas, n. 93, p. 1-32, 2001.
- SIMÕES, J. W.; SPELTZ, R. M.; SPELTZ, G. E.; MELLO, H. A. Adubação mineral na formação de mudas de eucalipto. **IPEF**, Piracicaba, n. 2/3, p. 35-49, 1971.
- WILDE, S. A. et al. Forest soils, their properties and relation to silviculture. **Forest soils, their properties and relation to silviculture**, 1958.
- XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal**: princípios e técnicas. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2009. 272 p.
- XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal**: princípios e técnicas. 2 ed. Viçosa, MG: UFV, 2013. 272 p.

CAPÍTULO 11

REFLORESTAMENTO EM ÁREAS DE CERRADO E MATA ATLÂNTICA DO ESTADO DE SÃO PAULO VISANDO EXPLORAÇÃO APÍCOLA

Vitor Corrêa de Mattos Barretto

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Daniel Nicodemo

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Cássia Regina de Avelar Gomes

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias (FCAV), Jaboticabal, São
Paulo, Brasil.

Tainá Angelica de Lima Freitas

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias (FCAV), Jaboticabal, São
Paulo, Brasil.

Matheus da Silva Araújo

Universidade de São Paulo, Escola
Superior de Agricultura Luiz de Queiroz
(ESALQ), Piracicaba, São Paulo, Brasil.

Flávia Risse de Mattos Barretto

Universidade de São Paulo, Escola
de Engenharia de São Carlos (EESC),
Universidade de São Paulo (USP), São
Carlos, São Paulo, Brasil.

Resumo

Adequações à legislação ambiental vigente e o maior reconhecimento da importância das áreas com mata nativa têm contribuído para o reflorestamento no estado de São Paulo. A possibilidade de se explorar economicamente essas áreas pelo produtor rural pode contribuir para a manutenção da cobertura vegetal e sua expansão. A sinergia existente entre as abelhas e as florestas nativas garante o equilíbrio dos ecossistemas pelos serviços ambientais realizados por esses importantes agentes polinizadores. Sendo assim, o cultivo de colônias de abelhas em áreas com florestas nativas estabelecidas ou recém implantadas pode contribuir com a conservação do meio ambiente, com a vantagem de ter baixo custo de implantação. Considerando-se o momento de definição das espécies que irão compor a flora de uma área a ser reflorestada, é importante utilizar espécies que forneçam matéria prima em abundância para que as abelhas possam elaborar os produtos apícolas. Com grande abundância e diversidade de plantas apícolas é possível produzir variados produtos ao longo dos 12 meses do ano. Para que isso ocorra, é fundamental conhecer o potencial apícola da flora, visando definir o número de colmeias a serem instaladas e o tipo de manejo a ser adotado. O presente capítulo tem como objetivo estimular a geração de renda em áreas reflorestadas em São Paulo, a partir da exploração racional de colmeias de abelhas, com destaque para as espécies vegetais que podem ser utilizadas em projetos de reflorestamento.

1 INTRODUÇÃO

O equilíbrio ambiental é condição *sine qua non* para a manutenção da sustentabilidade socioeconômica (MILLER; SPOOLMAN, 2013). Se, por alguns séculos, essa premissa foi desconsiderada e os impactos ambientais não foram claramente percebidos no Brasil, o desmatamento promovido, principalmente a partir do século XIX, embora necessário para a produção de alimentos e estabelecimento das cidades, resultou em prejuízos para a qualidade de vida do homem e dos demais seres vivos (HANSEN *et al.*, 2013; LAWRENCE; VANDECAR, 2014).

No estado de São Paulo, a área com vegetação nativa foi diminuída até o final do século XX. A menor taxa de cobertura vegetal paulista, 13,5%, foi observada em 1992. Desde então, tem ocorrido um crescimento da área com vegetação nativa por meio do reflorestamento, com cobertura de 22,9% do território em questão com florestas, no ano de 2020. Este aumento foi promovido apenas em regiões do bioma Mata Atlântica. Para o outro bioma presente em São Paulo, o Cerrado, não houve recuperação significativa das áreas desmatadas (FIORAVANTI, 2020).

A legislação ambiental foi criada em 1934, com o estabelecimento do primeiro Código Florestal Brasileiro, que passou por algumas atualizações, até que, em 25 de maio de 2012 foi decretada a lei federal nº 12.651, que dispõe sobre a proteção da vegetação nativa no Brasil. Embora essa versão vigente seja a mais permissiva quanto às taxas de desmatamento, espera-se que ela possa ser observada tanto pelo poder público fiscalizador quanto pelos produtores rurais, usuários da terra.

A evolução das leis ambientais ocorreu concomitantemente ao rápido crescimento populacional e à franca expansão da produção de alimentos. A agricultura convencional estabelecida nos anos 70 do século XX foi baseada na prática de monoculturas em grande escala, com elevado emprego de energias externas ao meio produtivo. Entretanto, no século XXI, a agricultura moderna tem considerado a presença de áreas nativas ao redor das áreas de cultivo como uma característica positiva para o ambiente produtivo local, o que pode contribuir para o aumento da eficiência dos sistemas produtivos (GLIESSMAN, 2000).

O aproveitamento econômico legal de áreas com vegetação nativa pode acelerar o reflorestamento exigido por lei, trazendo benefícios para o produtor rural, pelo incremento de renda e, para toda a sociedade, em virtude dos serviços ecossistêmicos disponibilizados pela natureza que, sendo assim, estará em situação de menor desequilíbrio (ZHANG *et al.*, 2007). Dentre as alternativas de exploração econômica de áreas com vegetação nativa já estabelecidas e aquelas que devem ser reflorestadas, destaca-se a criação de abelhas, uma atividade econômica de baixo impacto ambiental, que estimula a conservação das florestas e a expansão de suas áreas e não causa prejuízos ambientais (BORLACHENCO *et al.*, 2017).

A atuação das abelhas para coleta de alimento e outros materiais necessários para a manutenção das colônias pode ocorrer na área com plantas nativas e, ainda, na área ao redor com plantas cultivadas. Sendo assim, além da possibilidade de se obter mel e outros produtos das abelhas, ainda é possível se beneficiar do serviço de polinização realizado por esses insetos, incrementando a produção agrícola e a receita do produtor rural (IMPERATRIZ-FONSECA; NUNES-SILVA, 2010). As culturas de soja, laranja, café, entre outras cultivadas em São Paulo, podem ter a produtividade aumentada com a presença de abelhas (GIANNINI *et al.*, 2015). Logo, para otimizar a geração de renda do produtor rural, é interessante considerar o plantio de espécies arbóreas nativas com aptidão apícola nas áreas que devem ser reflorestadas.

2 A SINERGIA ENTRE ABELHAS, FLORESTAS E AGRICULTURA

A relação entre abelhas e plantas melíferas vem garantindo a manutenção dos ecossistemas naturais, devido à dependência dos polinizadores para a reprodução e ao fluxo gênico de muitas espécies vegetais que residem em diversos ecossistemas (KRUG; ALVES-DOS-SANTOS, 2008).

Das quase 40.000 espécies de polinizadores, sabe-se que mais da metade são abelhas, consideradas os principais insetos polinizadores, pois, além de ocorrerem em maior número, são responsáveis pela polinização de muitas espécies de plantas nativas ou agrícolas. A estimativa é que, das 1.300 culturas mais comercializadas no mundo, 900 dependam das abelhas para se reproduzirem e produzirem grãos e/ou frutos (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 2004).

Embora a abelha mais conhecida em território nacional seja a *Apis mellifera*, exótica, as abelhas nativas são os polinizadores mais importantes para a reprodução da maior parte de todas as angiospermas, em virtude da estreita relação desenvolvida ao longo de séculos com as plantas nativas da mesma região (ROUBIK, 1989). No Brasil, as 1.678 espécies de abelhas conhecidas são distribuídas em cinco famílias: Apidae (913), Halictidae (251), Colletidae (104), Andrenidae (82) e Megachilidae (328) (MOURE; URBAN; MELO, 2007), sendo que as abelhas solitárias compõem a maioria das espécies.

Para usar abelhas na agricultura, precisa-se de espécies com ampla distribuição geográfica, cujo manejo de criação e de multiplicação de ninhos sejam conhecidos. A *A. mellifera*, também conhecida como “abelha com ferrão” e “abelha do mel”, é apontada como o polinizador de maior importância agrícola no mundo, por ser uma espécie generalista, com muitas operárias por ninho, que comunicam umas às outras as fontes de alimento disponíveis (IMPERATRIZ-FONSECA *et al.*, 2012).

A perpetuação das matas e florestas e a produção mundial de grãos e frutos ficariam comprometidas sem a presença das abelhas, gerando

desequilíbrio nos ecossistemas e um grande impacto negativo na biodiversidade. Se a população de polinizadores efetivos e exclusivos de uma determinada planta for extinta, o sucesso reprodutivo e a manutenção da população dessa espécie vegetal não estarão mais garantidos e, em médio prazo, tal espécie poderá desaparecer (SCHLINDWEIN, 2004).

3 PLANTIO DE ÁRVORES NATIVAS COM APTIDÃO PARA PRODUÇÃO DE MEL E OUTROS PRODUTOS DAS ABELHAS

Os métodos de restauração ecológica ou florestal consistem em condução de regeneração natural, recuperação do solo, plantio de adensamento, plantio de enriquecimento e técnicas nucleadoras (núcleos ou "ilhas" de vegetação que promovem a sucessão ecológica, por meio da introdução de indivíduos, auxiliando na atração de animais e na dispersão de sementes), segundo McDonald *et al.* (2016). Entretanto, a técnica do plantio em área total é a mais utilizada, embora o custo seja mais elevado em relação às técnicas relatadas acima.

Uma alternativa viável é utilizar espécies arbóreas nativas melíferas no reflorestamento, com objetivo de exploração econômica nas Áreas de Preservação Permanente ou Reserva Legal, por ser esta uma atividade considerada de baixo impacto ambiental (Lei nº 12.651/2012, artigos 9º e 17º). A escolha das espécies arbóreas nativas regionais deve se basear em levantamentos da flora regional, com destaque para aquelas capazes de oferecer recursos florais disponíveis para as abelhas, considerando-se a variação entre os biomas e as estações do ano (SALIS *et al.*, 2015). Barbosa *et al.* (2017) apresentam uma lista de espécies indicadas para restauração ecológica para diversas regiões do estado de São Paulo, com informações sobre as características das espécies, como família/espécie, nome popular, altura média, hábito, grupo ecológico sucessional, grupo funcional, síndrome de dispersão, categoria de ameaça de extinção, biomas, ecossistemas e região do estado de São Paulo onde ocorre cada espécie.

As orientações sobre a quantidade mínima de 80 espécies florestais nativas de ocorrência regional, bem como sobre a proporção de espécies e de indivíduos para serem informados em projetos de restauração ecológica podem ser consultadas na Resolução SMA nº 32/2014, Anexo III (SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE DO ESTADO DE SÃO PAULO - SMA, 2014). Valeri, Nóbrega e Barretto (2004) tratam, de forma detalhada, a respeito do manejo e reflorestamento de Áreas de Preservação e fragmentos florestais.

Com o objetivo de agrupar e indicar algumas espécies arbóreas nativas dos biomas (Mata Atlântica e Cerrado), elaborou-se uma tabela com os nomes comuns, científicos e das famílias de árvores nativas melíferas, bem como o período de floração (Tabela 1). Para isso, foram realizadas consultas bibliográficas de páginas da Internet, legislação (resoluções), artigos

científicos e livros especializados (SILVA *et al.*, 2014; SALIS *et al.* (2015) e BARBOSA *et al.*, 2017).

Tabela 1. Relação de nomes comuns, científicos e famílias de árvores nativas melíferas do bioma Mata Atlântica e Cerrado, bem como a aptidão a néctar e/ou pólen para as abelhas e período de floração.

(continua)

Nome comum	Nome científico	Família	Aptidão	Período de Floração
Açoita-cavalo	<i>Luehea grandiflora</i>	Tiliaceae	Néctar e pólen	Out.- Nov.
Açoita-cavalo- -do-miúdo	<i>Luehea divaricata</i>	Tiliaceae	Néctar e pólen	Mar.-Jul.
Açoita-cavalo- -amarelo	<i>Luehea paniculata</i>	Tiliaceae	Néctar e pólen	Ago.-Set.
Angico-branco	<i>Anadenanthera colubrina</i>	Fabaceae	Néctar e pólen	Set.
Angico-verme- lho	<i>Anadenanthera peregrina</i> var. <i>falcata</i>	Fabaceae	Néctar e pólen	Set.-Dez.
Angico	<i>Parapiptadenia rigida</i>	Fabaceae	Néctar e pólen	Fev.-Mar.
Araçá-do-campo	<i>Psidium guineense</i>	Myrtaceae	Néctar e pólen	Várias épocas
Araribá-amarelo	<i>Centrolobium tomentosum</i>	Fabaceae	Néctar	Jan.-Mar.
Araticum- rugoso	<i>Rollinia sylvatica</i>	Annonaceae	Pólen	Set.-Out.
Aroeira	<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Anacardiaceae	Néctar e pólen	Jun.-Ago.
Aroeira- pimenteira	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Anacardiaceae	Néctar e pólen	Set.-Jan.
Bracatinga	<i>Mimosa scabrella</i>	Fabaceae	Néctar e pólen	Jun.-Ago.
Caju	<i>Anacardium occidentale</i>	Anacardiaceae	Néctar	Abr.; Mai.; Jul.- Dez.
Cambará	<i>Moquiniastrum polymorphum</i>	Asteraceae	Néctar e pólen	Out.-Dez.
Canafístula	<i>Senna spectabilis</i>	Fabaceae	Pólen	Fev.-Mar.
Canudo-de-pito	<i>Mabea fistulifera</i>	Euphorbiaceae	Néctar e pólen	Dez.-Jun.
Capixingui	<i>Croton floribundus</i>	Euphorbiaceae	Néctar e pólen	Jul.-Dez.
Cedro	<i>Cedrela fissilis</i>	Meliaceae	Néctar e pólen	Set.-Jan.
Cedro-do-brejo	<i>Cedrela odorata</i>	Meliaceae	Néctar e pólen	Dez.- Fev.

(continuação)

Nome comum	Nome científico	Família	Aptidão	Período de Floração
Cerejeira-do-rio- -grande	<i>Eugenia involucrata</i>	Myrtaceae	Néctar e pólen	Set.- Out.
Embaúba	<i>Cecropia pachystachya</i>	Urticaceae	Pólen	Nov.-Mai.
Embiruçu	<i>Pseudobombax grandiflorum</i>	Malvaceae	Néctar	Mai.-Jul.; Set.; Out.
Gabiroba	<i>Campomanesia pubescens.</i>	Myrtaceae	Pólen	Set.-Nov.
Goiaba	<i>Psidium guajava</i>	Myrtaceae	Néctar e pólen	Out.- Nov.
Guaçatonga	<i>Casearia sylvestris</i>	Salicaceae	Néctar e pólen	Jul.- Ago.
Guanandi	<i>Calophyllum brasiliense</i>	Calophyllaceae	Pólen	Mar.- Out.
Jameri	<i>Celtis iguanaea</i>	Cannabaceae	Pólen	Mar.-Abr.
Jenipapo	<i>Genipa americana</i>	Rubiaceae	Néctar	Mar.-Abr.; Ago.; Out.- Nov.
Jequitibá-branco	<i>Cariniana estrellensis</i>	Lecythidaceae	Pólen	Out.-Fev.
Louro-pardo	<i>Cordia trichotoma</i>	Boraginaceae	Néctar	Mai.-Jun.
Marmelinho-do- -cerrado	<i>Licania humilis</i>	Chrysobalana- ceae	Néctar e pólen	Set.
Maria-mole	<i>Dendropanax cuneatus</i>	Araliaceae	Néctar e pólen	Mai.-Jul.
Marinheiro	<i>Guarea guidonia</i>	Meliaceae	Néctar	Mar.-Abr.; Out.-Nov.
Mutambo	<i>Guazuma ulmifolia</i>	Malvaceae	Pólen	Set.-Dez.
Ingá-de-metro	<i>Inga edulis</i>	Fabaceae	Néctar	Dez.-Jan.
Ipê-amarelo	<i>Handroanthus chrysotrichus</i>	Bignoniaceae	Néctar	Jun.-Out.
Ipê-roxo	<i>Handroanthus impetiginosus</i>	Bignoniaceae	Néctar	Jun.-Set.
Ipê-branco	<i>Tabebuia roseo-alba</i>	Bignoniaceae	Néctar	Ag.-Out.
Paineira	<i>Ceiba speciosa</i>	Malvaceae	Néctar	Fev.-Jun.
Para-tudo	<i>Piptocarpha rotundifolia</i>	Asteraceae	Néctar e pólen	Mar.-Jul.
Pata-de-vaca	<i>Bauhinia longifolia</i>	Fabaceae	Néctar	Mar.-Mai.; Jul.-Set.
Pau-brasil	<i>Paubrasilia echinata</i>	Fabaceae	Néctar e pólen	Set.-Dez.
Pau-d'alho	<i>Gallesia integrifolia</i>	Phytolaccaceae	Néctar e pólen	Mar.-Abr.; Jul.-Ago.
Pau-de-bugre	<i>Lithrea brasilienses</i>	Anacardiaceae	Néctar e pólen	Jul.-Set.

(conclusão)

Nome comum	Nome científico	Família	Aptidão	Período de Floração
Pau-de-pombo	<i>Tapirira guianensis</i>	Anacardiaceae	Néctar e pólen	Jun.-Nov.
Pau-ferro	<i>Libidibia ferrea</i>	Fabaceae	Néctar	Dez.-Mai.
Pau-jacaré	<i>Piptadenia gonoacantha</i>	Fabaceae	Néctar e pólen	Set.
Pau-pólvora	<i>Trema micrantha</i>	Cannabaceae	Néctar e pólen	Out.-Jan.
Pau-santo	<i>Kielmeyera coriacea</i>	Clusiaceae	Pólen	Mar.-Jun.
Pau-viola	<i>Cytharexylum myrianthum</i>	Verbenaceae	Néctar	Nov.-Dez.
Pitanga	<i>Eugenia uniflora</i>	Myrtaceae	Pólen	Ago.-Set.
Quaresmeira	<i>Tibouchina granulosa</i>	Melastomataceae	Pólen	Nov.-Set.
Sangra-d'água	<i>Croton urucurana</i>	Euphorbiaceae	Néctar e pólen	Ago.; Dez.-Fev.
Sibipiruna	<i>Caesalpinia peltophoroides</i>	Fabaceae	Néctar e pólen	Set.-Nov.
Sucupira-preta	<i>Bowdichia virgilioides</i>	Fabaceae	Néctar	Ago.-Set.
Unha-de-gato	<i>Mimosa bimucronata</i>	Fabaceae	Néctar e pólen	Dez.-Mar.
Uvaia	<i>Eugenia uvalha</i>	Myrtaceae	Pólen	Ago.-Dez.
Tamanqueiro	<i>Aegiphila integrifolia</i>	Lamiaceae	Néctar e pólen	Out.-Jan.
Tamboril	<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	Fabaceae	Néctar e pólen	Set.

Fonte: elaborado pelos autores e adaptado de Silva *et al.* (2014), Salis *et al.* (2015) e Barbosa *et al.* (2017).

4 CULTIVO DE ABELHAS EM ÁREAS DE REFLORESTAMENTO

O mel brasileiro é demandado pelos principais mercados compradores mundiais, por ser livre de contaminantes e pelo excelente padrão de qualidade (RANGEL, 2011). Com uma vasta biodiversidade de flora apícola, são produzidos no Brasil méis de diversas floradas, durante todos os meses do ano, com cores, aromas e sabores únicos (SABBAG; NICODEMO, 2011). Segundo Caldas, Pinho e Zaluski (2018), a apicultura, criação de abelhas com ferrão, e a meliponicultura, criação de abelhas sem ferrão, além de fornecerem produtos da colmeia que podem ser comercializados, também agregam pela geração de emprego e renda a milhares de produtores.

A apicultura é a atividade de criação de abelhas da espécie *Apis mellifera*, abelhas que possuem ferrão, para fins de produção de mel, pólen, própolis, cera, geleia real e apitoxina ou para serviços de polinização (COUTO; COUTO,

2006). A criação de abelhas também contempla a criação de abelhas sem ferrão. Segundo Venturieri (2008), a meliponicultura pode ser definida como a criação de abelhas sem ferrão, também chamadas de meliponíneos, as quais possuem ferrão atrofiado, portanto, não ferroam. Podem ser cultivadas visando à obtenção de mel, própolis ou geoprópolis, cera, e pólen e para o serviço de polinização.

A regulamentação prevista na legislação para a prática da apicultura exige cadastro no sistema de Gestão de Defesa Animal e Vegetal (Gedave). Enquanto que, para a meliponicultura, além do cadastro no Gedave, deve ser feito um cadastro simplificado no Sistema Integrado de Gestão de Fauna Silvestre (Gefau/SIMA), conforme a Resolução 11/2021 de 4/02/2021 pela Secretaria de Infraestrutura e Meio Ambiente (SIMA). As abelhas das espécies Manduri (*Melipona marginata*), Mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*), Uruçu-amarela/Tujuba/Bugia (*Melipona rufiventris*), Guaraipo/Pé de Pau (*Melipona bicolor*), Urucu do chão (*Melipona quinquefasciata*), Mirins/plebéias (*Plebeia* spp.), Tubuna (*Scaptotrigona bipunctata*), Mandaguari (*Scaptotrigona depilis*), Tujumirim (*Scaptotrigona xanthotricha*), Borá (*Tetragona clavipes*), Marmelada (*Frieseomelita varia*) e Jatai (*Tetragonisca angustula*) são de ocorrência natural no estado de São Paulo e podem ser cultivadas pelos criadores paulistas de abelhas que estejam cadastrados no Gefau/Sima.

As abelhas visitam as flores para obter a maioria dos ingredientes que compõem a alimentação (RIBEIRO, 2018). As abelhas da espécie *A. mellifera* coletam os recursos alimentares em plantas de diferentes estratos botânicos, como árvores, arbustos e herbáceas. Por serem generalistas, concentram as coletas de recursos conforme a disponibilidade das plantas ao longo das estações do ano (SOUZA, 2019). Diferente da *A. mellifera*, as abelhas nativas não são generalistas e, por isso, são dependentes do ambiente onde vivem, o que está diretamente relacionado a algumas espécies vegetais, dos quais são obtidos recursos florais, de acordo com a região e o clima (VILLAS-BÔAS, 2012).

Como as áreas com vegetação nativa e aquelas que devem ser reflorestadas são circundadas por cultivos agrícolas, ressalta-se a importância de se considerar as espécies agrícolas na escolha das espécies de abelhas a serem cultivadas. Na região da nova Alta Paulista, poucos agricultores conhecem o potencial de exploração econômica das abelhas para o aumento das safras agrícolas por meio da polinização entomófila (CARVALHO; NICODEMO; LOPES, 2015). Na Tabela 2 é apresentada uma relação de espécies de abelhas sociais encontradas com ocorrência natural e interessantes para produção de mel e/ou para atuarem como agentes polinizadores no estado de São Paulo.

Tabela 2. Culturas agrícolas e espécies de abelhas que coletam néctar e ou pólen nas flores destas plantas no estado de São Paulo.

(continua)

Culturas	Espécies de abelhas indicadas		Fonte
	Nome científico	Nome popular	
Abóbora (Cucurbita spp.)	<i>Apis mellifera</i> , <i>Melipona quadrifasciata</i>	Abelha africanizada, Mandaçaia	Baptista, 2016; Nicodemo <i>et al.</i> , 2007; Torezani, 2015
Acerola (<i>Malpighia puniceifolia</i>)	<i>Apis mellifera</i> , <i>Melipona quadrifasciata</i> , <i>Tetragonisca angustula</i> , <i>Plebeia droryana</i>	Abelha africanizada, Mandaçaia, Jataí, Mirim droriana	Guedes <i>et al.</i> , 2011; Sazan <i>et al.</i> , 2014
Algodão (<i>Gossypium hirsutum</i>)	<i>Apis mellifera</i>	Abelha africanizada	Martins <i>et al.</i> , 2008; Isaacs e Kirk, 2010; Bommarco <i>et al.</i> , 2002; Witter, 2014
Eucalipto (<i>Eucalyptus globulus</i>)	<i>Apis mellifera</i>	Abelha africanizada	Lopes, Blochtein e Ott, 2007
Café (<i>Coffea arábica</i>)	<i>Apis mellifera</i> , <i>Tetragonisca angustula</i> , <i>Melipona quadrifasciata</i>	Abelha africanizada, Jataí, Mandaçaia	Malerbo-Souza, Nogueira-Couto e Couto, 2003; Malerbo-Souza e Silva, 2011
Girassol (<i>Helianthus annuus</i>)	<i>Apis mellifera</i> , <i>Friesomelitta varia</i>	Abelha africanizada e Marmelada	Ramos e Vieira, 2011; Isaacs e Kirk, 2010; Witter, 2014
Goiaba (<i>Psidium guajava</i>)	<i>Apis mellifera</i> , <i>Tetragonisca angustula</i> , <i>Melipona quadrifasciata</i>	Abelha africanizada, Jataí, Mandaçaia	Siqueira <i>et al.</i> , 2005; Guimarães, Pérez-Maluf e Castellani, 2009
Laranja (<i>Citrus sinensis</i> L.)	<i>Apis mellifera</i> , <i>Tetragonisca angustula</i>	Abelha africanizada, Jataí	Malerbo-Souza, Nogueira-Couto e Couto, 2003; Bosh <i>et al.</i> , 2002, Isaacs e Kirk, 2010; Witter, 2014
Melancia (<i>Citrullus lanatus</i>)	<i>Apis mellifera</i> , <i>Tetragonisca angustula</i>	Abelha africanizada, Jataí	Souza, Queiróz e Dias, 1999; Bomfim <i>et al.</i> , 2013
Morango (<i>Fragaria x ananassa</i>)	<i>Tetragonisca angustula</i> <i>Tetragonisca fiebrigi</i>	Jataí	Witter <i>et al.</i> , 2012
Pimentão (<i>Capsicum annum</i>)	<i>Apis mellifera</i> , <i>Tetragonisca angustula</i>	Abelha africanizada, Jataí	Roselino, Bispo dos Santos e Bego, 2010

(conclusão)

Culturas	Espécies de abelhas indicadas		Fonte
	Nome científico	Nome popular	
Soja (<i>Glycine max</i> L.)	<i>Apis mellifera</i>	Abelha africanizada	Gazzoni, 2017
Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	<i>Nannotrigona perilampoides</i> , <i>Melipona quadrifasciata</i> , <i>Melipona fasciculata</i>	Irai, Mandaçaia, Uruçu cinzenta	Del Sarto, Peruchetti e Campos, 2005; Bispo dos Santos <i>et al.</i> , 2009; Santos <i>et al.</i> , 2013.
Urucum (<i>Bixa orellana</i>)	<i>Apis mellifera</i> , <i>Tetragonisca angustula</i> , <i>Melipona quadrifasciata</i> <i>Melipona fuliginosa</i>	Abelha africanizada, Jataí, Mandaçaia, Mandury preta	Witter, 2014

Fonte: elaborado pelos autores.

A instalação de um apiário pode ser feita dentro de uma área de reserva legal ou próxima de uma área de preservação permanente, evitando-se problemas ambientais mesmo havendo divergências quanto à sua interpretação (BORLACHENCO *et al.*, 2017). Além disso, é importante considerar as normas de segurança para pessoas e animais, a disponibilidade de flora apícola e de água aos insetos e a acessibilidade do apicultor ou meliponicultor até as colmeias.

O local a ser escolhido para instalação de um apiário deverá ter flora apícola abundante que forneça néctar e pólen suficientes para as colmeias. O raio de voo das abelhas *Apis mellifera* para coleta de alimento é de cerca de 1.500 metros (SENAR, 2009). Para as abelhas nativas, segundo os estudos de Nogueira-Neto (1997), a distância de voo pode variar de 500 metros, no caso da abelha jataí, e até 2.500 metros, para a abelha mandaçaia. A distância de voo está atrelada ao tamanho do corpo da abelha, e, quanto maior o corpo, maior o raio de ação.

O conjunto de plantas que fornecem néctar e pólen para as abelhas é chamado de flora apícola ou pasto apícola. Esta composição florística pode ser natural, formada por plantas nativas, ou por culturas agrícolas e de reflorestamentos comerciais (BARBOSA *et al.*, 2007). Deve-se atentar para a flora de cada espécie vegetal, e se fornecem néctar e/ou pólen. É importante que o pasto apícola seja formado por plantas de várias espécies e que floresçam em diferentes épocas do ano, para garantir alimento suficiente durante maior período do ano (SENAR, 2009).

Deve haver água de uma fonte limpa e em quantidade suficiente para todas as colmeias. A água pode ser oriunda de um rio, açude, nascente ou mesmo de um bebedouro artificial feito pelo produtor, devendo ficar entre 200 e 500 metros das colmeias. Deve-se evitar águas paradas, visando diminuir a probabilidade de disseminação de doenças (CELLA; CUNHA, 2020).

Na instalação do apiário, devem-se observar as distâncias de segurança de 400 metros para escolas e residências rurais, criações de animais domésticos confinados, estradas e rodovias. É oportuno identificar o apiário com uma placa para evitar possíveis acidentes com pessoas (BARBOSA *et al.*, 2007).

Os locais para instalação dos meliponários e apiários devem ser protegidos de ventos fortes e do frio, evitando-se extremos de temperatura para as colônias. Além disso, fatores como insolação intensa e umidade excessiva também devem ser observados. As colmeias devem ser instaladas à meia sombra, podendo receber um pouco de incidência solar pela manhã e sombra à tarde. Ambientes demasiado úmidos devem ser evitados, pois, geram condições ideais para a ocorrência de doenças nas colmeias (COUTO; COUTO, 2006; WITTER; NUNES-SILVA, 2014).

As colmeias atraem vários inimigos que vêm em busca do mel. No manejo das colmeias, além de acompanhar o desenvolvimento das colônias, a produção de mel e conferir as condições ideais de fornecimento de alimento e água do campo, o apicultor ou meliponicultor deve se atentar também à segurança de sua criação em relação aos inimigos naturais como formigas, sapos e cupins. Colocar as caixas sobre cavaletes com 50 cm de altura do solo dificulta o alcance de alguns inimigos como o sapo, e colocar potes com óleo queimado ou graxa no pé dos cavaletes evita que formigas subam até a colmeia (BARBOSA *et al.*, 2007; SEBRAE, 2013).

O fumigador é um utensílio de grande importância para manejar as colmeias africanizadas. O material para queima deve ser de origem vegetal e livre de contaminantes, devendo proporcionar fumaça fria, densa e sem cheiro forte. Não se deve fazer uso de fezes secas ou de outros materiais de origem animal, nem de produtos derivados de petróleo, devido ao alto risco de contaminação dos produtos da colmeia, lembrando que, ao usar o fumigador, deve-se tomar muito cuidado com o risco de queimadas ao descartar o material usado, por isso, o local do apiário deve ser limpo (CELLA; CUNHA, 2020).

A quantidade de colmeias por apiário é determinada pela flora apícola da região. Quanto ao meliponário, a distância entre os cavaletes pode variar de 80 cm a 2 m, dependendo da espécie de abelha. Espécies agressivas e/ou territorialistas e com ninhos populosos exigem distâncias maiores, enquanto que as espécies com ninhos menores e mais dóceis podem ficar mais próximas umas das outras (VILLAS-BÔAS, 2012).

Com o crescimento da agricultura nos últimos anos, ocorreu o aumento do uso de agrotóxicos nas lavouras e, conseqüentemente, a geração de impactos na saúde humana e no meio ambiente. Mesmo em baixos níveis de concentração, os agrotóxicos podem resultar em efeitos letais, sendo crescente o registro de morte de enxames após pulverização aéreas em áreas de monocultivos de soja, cana-de-açúcar, laranja e algodão (CAMARGO *et al.*, 2017). É importante que o criador de abelhas possa fazer observações e ficar

atento aos comportamentos do enxame que podem representar intoxicação por agrotóxicos. Alguns sinais como abelhas mortas no entorno das caixas, redução no número de postura, diminuição da atividade de forrageamento, incapacidade de substituição da rainha, mortandade e má formação das larvas podem ser características de intoxicação por agrotóxico (GUSSONI; RIBEIRO, 2017).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A reposição de florestas nativas é uma responsabilidade ambiental que o agropecuarista possui e deve cumprir. A inserção de colônias de abelhas nessas áreas é uma alternativa interessante, pois a apicultura e a meliponicultura, além de serem atividades sustentáveis, podem contribuir para a recomposição da área, além de serem economicamente viáveis. Para isso, o empreendedor rural deve escolher espécies arbóreas nativas e com aptidão apícola, respeitando a legislação vigente no estado de São Paulo, sob orientação de normas legais e na utilização que essas poderão ou podem oferecer.

REFERÊNCIAS

- BAPTISTA, C. F. **Polinização de Cucurbita pepo (Cucurbitaceae) por *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) em cultivo protegido**. 2016. 32 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2016.
- BARBOSA, A. L.; PEREIRA, F. M.; VIEIRA NETO, J. M.; REGO, J. G. S.; LOPES, M. T. R.; CAMARGO, R. C. R. **Criação de abelhas (apicultura)**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2007. 113 p. (ABC da Agricultura Familiar, n. 18). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/126300/1/00081610.pdf>. Acesso em: 07 mar. 2021.
- BARBOSA, L. M.; SHIRASUNA, R. T.; LIMA, F. C.; ORTIZ, P. R. T.; BARBOSA, K. C.; BARBOSA, T. C. Lista de espécies indicadas para restauração ecológica para diversas regiões do Estado de São Paulo. In: BARBOSA, L. M. **Lista de espécies indicadas para restauração ecológica para diversas regiões do Estado de São Paulo**. São Paulo: Instituto de Botânica, 2017. p. 7-20.
- BISPO DOS SANTOS, S. A.; ROSELINO, A. C.; HRNCIR, M.; BEGO, L. R. Pollination of tomatoes by the stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). **Genetics and Molecular Research**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 751-757, 2009.
- BOMFIM, I. G. A.; CRUZ, D. O.; FREITAS, B. M.; ARAGÃO, F. A. S. **Polinização em melancia com e sem semente**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013. 53 p. (Documentos, n. 168).
- BOSCH J.; BOSCH J.; KEMP, W. P. Developing and establishing bee species as crop pollinators: the example of *Osmia* spp. (Hymenoptera: Megachilidae) and fruit trees. **Bulletin of Entomological Research**, [s. l.], v. 92, p. 3-16, 2002.

BORLACHENCO, N. G. C.; CEREDA, M. P.; ARAÚJO, G. M.; PADIAL, N. P. M. Aspectos legais da recuperação de áreas degradadas em áreas de preservação com apicultura de *Apis mellifera*. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, Florianópolis, v. 6, n. 2, p. 56-78, 2017.

CALDAS, C. A.; PINHO, M. P.; ZALUSKI, R. Impacto das principais classes de agrotóxicos utilizados mundialmente sobre a apicultura. In: MOSTRA CIENTÍFICA FAMEZ/UFMS, 11., 2018, Campo Grande. **Anais** [...]. Campo Grande: UFMS, 2018. p. 1-8. Disponível em: <https://famez.ufms.br/files/2015/09/Carlos-Amancio-Caldas.pdf>. Acesso em: 08 mar. 2021.

CAMARGO, R. C. R.; CANUTO, C. J.; MALAGODI-BRAGA, K. S.; MARQUES, A. P.; OLIVEIRA, P. F. C. Sistema agroflorestal planejado para integração com criação racional de abelhas. In: CANUTO, J. C. (ed.). **Sistemas agroflorestais: experiências e reflexões**. Brasília: Embrapa, 2017. p. 153-176. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/172820/1/2017CL11.pdf>. Acesso em: 11 mar. 2021.

CARVALHO, A.; NICODEMO, D.; LOPES, P. R. M. Nível de conhecimento de agricultores sobre a importância dos agentes polinizadores e implicações na produtividade agrícola. In: CONGRESSO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA DA UNESP, 8., 2015, [s. l.]. **Anais** [...]. [S. l.]: Unesp, 2015. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/142148>. Acesso em: 19 abr. 2021.

CELLA, I.; CUNHA, R. D. **Manejos para o controle de doenças, pragas e predadores das abelhas *Apis mellifera* no sul do Brasil**. Florianópolis: Epagri, 2020. (Boletim didático, n. 151).

COUTO, R. H. N.; COUTO, L. A. **Apicultura: manejo e produtos**. 3. ed. Jaboticabal: Funep, 2006. 191 p.

DEL SARTO, M. C. L.; PERUQUETTI R. C.; CAMPOS, L. A. O. Evaluation of the neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as pollinator of greenhouse tomatoes. **Journal of Economic Entomology**, [s. l.], v. 98, n. 2, p. 260-266, 2005.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. Conservation and management of pollinators for sustainable agriculture. The international response. In: FREITAS, B. M.; PEREIRA, J. O. P. (org). **Solitary Bees: conservation, rearing and management for pollination**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2004. p. 19-25.

FIORAVANTI, C. Estado de São Paulo registra aumento de 4,9% na área de vegetação nativa. **Revista Pesquisa Fapesp**, São Paulo, 2020. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/estado-de-sao-paulo-registra-aumento-de-49-na-area-de-vegetacao-nativa/#:~:text=A%20partir%20de%20imagens%20com,incluir%20os%20novos%20trechos%20identificados>. Acesso em: 11 mar. 2021.

GAZZONI, D.L. **Soja e abelha**. Brasília: Embrapa, 2017. 151 p.

GIANNINI, T. C.; CORDEIRO, G. D.; FREITAS, B. M.; SARAIVA, A. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, [s. l.], v. 108, n. 3, p. 849-857, 2015.

GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia**: processos ecológicos em agricultura sustentável. Porto Alegre: UFRGS, 2000. 653 p.

GUEDES, R. S.; ZANELLA, F. C. V.; MARTINS, C. F.; SCHLINDWEIN, C. Déficit de polinização da aceroleira no período seco no semiárido paraibano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 2, p. 465-471, 2011.

GUIMARÃES, R. A.; PÉREZ-MALUF, R.; CASTELLANI, M. A. Abelhas (Hymenoptera: Apoidea) visitantes das flores da goiaba em pomar comercial de Salinas, MG. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n.1, p. 23-27, 2009.

GUSSONI, W. J.; RIBEIRO, G. S. **Abelhas x Agrotóxicos**: informativo aos apicultores e meliponicultores. Mato Grosso do Sul: Iagro/Semagro, 2017. Disponível em: agraer.ms.gov.br/wp-content/uploads/2017/06/cartilha_abelhas_digital_final.pdf. Acesso em: 07 mar. 2021.

HANSEN, M. C.; POTAPOV, P. V.; MOORE, R.; HANCHER, M.; TURUBANOVA, S. A.; TYUKAVINA, A.; THAU, D.; STEHMAN, S. V.; GOETZ, S. J.; LOVELAND, T. R.; KOMMAREDDY, A.; EGOROV, A.; CHINI, L.; JUSTICE, C. O.; TOWNSHEND, J. R. G. High-Resolution Global Maps of 21st-Century Forest Cover Change. **Science**, [s. l.], v. 342, n. 6160, p. 850-853, 2013.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; CANHOS, D. A. L.; ALVES, D. A.; SARAIVA, A. M. **Polinizadores no Brasil**: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais. São Paulo: EDUSP, 2012. 488 p.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NUNES-SILVA, P. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o Código Florestal Brasileiro. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 10, n. 4, p. 59-62, 2010.

ISAACS, R.; KIRK, A. K. Pollination services provided to small and large highbush blueberry fields by wild and managed bees. **Journal of Applied Ecology**, [s. l.], v. 47, n. 4, p. 841-849, 2010.

KRUG, C.; ALVES-DOS-SANTOS, I. O Uso de Diferentes Métodos para Amostragem da Fauna de Abelhas (Hymenoptera: Apoidea), um Estudo em Floresta Ombrófila Mista em Santa Catarina. **Neotropical Entomology**, Piracicaba, v. 37, p. 3, p. 265-278, 2008.

LAWRENCE, D.; VANDECAR, K. Effects of tropical deforestation on climate and agriculture. **Nature Climate Change**, [s. l.], v. 5, p. 27-36, 2014.

LOPES, L. A.; BLOCHTEIN, B.; OTT, A. P. Diversidade de insetos antófilos em áreas com reflorestamento de eucalipto, município de Triunfo, Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia**: Série Zoologia, Porto Alegre, v. 97, n. 2, p. 181-193, 2007.

MALERBO-SOUZA, D. T.; NOGUEIRA-COUTO, R. H.; COUTO, L. A. Polinização em cultura de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck, var. *Pera-rio*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, n. 4, p. 237-242, 2003.

MALERBO-SOUZA, D. T.; SILVA, F. A. S. Comportamento forrageiro da abelha africanizada *Apis mellifera* L. no decorrer do ano. **Acta Scientiarum: Animal Sciences**, Maringá, v. 33, n. 2, p. 183-190, 2011.

MARTINS, C. F.; ZANELLA, F. C. V.; MEL, R. R.; CAMAROTTI, M. F. Visitantes florais e polinização do algodoieiro (*Gossypium hirsutum* L.) no semi-árido nordestino.

Revista Brasileira de oleaginosas e fibrosas, Campina Grande, v. 12, n. 3, p. 107-117, 2008.

MCDONALD, T.; GANN, G. D.; JONSON, J.; DIXON, K. W. **International standards for the practice of ecological restoration**: including principles and key concepts. Washington: Society for Ecological Restoration (SER), 2016. 48 p.

MILLER, G. T.; SPOOLMAN, S. E. **Ecologia e sustentabilidade**. 6 ed. São Paulo: Cengage Learning, 2013. 400 p.

MOURE, J. S.; URBAN, D.; MELO, G. A. R. **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region**. Curitiba: Sociedade Brasileira de Entomologia, 2007. 1058 p.

NICODEMO, D.; COUTO, R. H. N.; MALHEIROS, E. B.; JONG, D. Biologia floral em moranga (*Cucurbita maxima* Duch. var. "Exposição"). **Acta Scientiarum**. Agronomy, Maringá, v. 29, supl., p. 611-616, 2007.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Nogueirapis, 1997. 445 p.

RAMOS, A. R.; VIEIRA, G. H. da C. Abelhas visitantes da cultura do girassol em área de cerrado, no município de Cassilândia/MS. **Cultura Agronômica**, Ilha Solteira, v. 20, n. 2, p. 25-30, 2011.

RANGEL, R. Mel brasileiro conquista o mercado externo. Apicultura. **Inovação em pauta**, n. 10, 2011. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/31892/1/REVFINEPAPICULTURAPI.pdf>. Acesso em: 12 mar. 2021.

RIBEIRO, C. **Diversidade funcional de abelhas e de plantas em áreas restauradas na parte sul da floresta atlântica, no município de Antonina (PR)**. 2018. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2018. Disponível em: http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/4639/1/CT_PPGCTA_M_Ribeiro%2c_Caroline_2019.pdf. Acesso em: 10 mar. 2021.

ROSELINO, A. C.; BISPO DOS SANTOS, S. A.; BEGO, L. R. Qualidade dos frutos de pimentão (*Capsicum annuum* L.) a partir de flores polinizadas por abelhas sem ferrão (*Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier 1836 e *Melipona scutellaris* Latreille 1811) sob cultivo protegido. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 8, n. 2, p. 154-158, 2010.

ROUBIK, D. W. **Ecology and natural history of tropical bees**. Cambridge: Tropical Biology Series, 1989. 514 p.

SABBAG, O. J.; NICODEMO, D. Viabilidade econômica para produção de mel em propriedade familiar. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 1, p. 94-101, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/pat/v41n1/a08v41n1.pdf>. Acesso em: 08 mar. 2021.

SALIS, S. M.; JESUS, E. M.; REIS, V. D. A.; ALMEIDA, A. M.; PADILHA, D. R. C. Calendário floral de plantas melíferas nativas da Borda Oeste do Pantanal no Estado do Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, n. 10, p. 861-870, 2015. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2015001000861&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 11 mar. 2021.

SANTOS, R. I. R.; VENTURIERI, G. C.; CONTRERA, F. A. L.; VENTURIERI, A. Avaliação do impacto de *Melipona fasciculata* (Hymenoptera: Apidae) na formação de frutos do tomateiro *Lycopersicon lycopersicon* (Solanaceae). In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 17., 2013, Belém. **Anais** [...]. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2013. 1 CD-ROM. PIBIC 2013.

SAZAN, M. S.; QUEIROZ, E. P.; FERREIRA-CALIMAN, M. J.; PARRA-HINOJOSA, A.; SILVA, C. I.; FONSECA, V. L.; GARÓFALO, C. A. **Manejo de polinizadores da aceroleira**. Ribeirão Preto: Holos, 2014. 54 p.

SCHLINDWEIN, C. Are oligolectic bees always the most effective pollinators? In: MAGALHÃES, F. B.; PEREIRA, J. O. P. (ed.). **Solitary bees Conservation, Rearing and Management for Pollination**. Fortaleza: Imprensa Universitária da UFC, 2004. p. 231-240.

SEBRAE. **Conheça técnicas de manejo para a produção do mel**. [S. l.]: Sebrae, 2013. Disponível em: <https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/conheca-tecnicas-de-manejo-para-a-producao-do-mel,8068fa2da4c72410VgnVCM100000b272010aRCRD>. Acesso em: 11 mar. 2021.

SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE (São Paulo). Resolução SMA nº 32, de 3 de abril de 2014. **Estabelece as orientações, diretrizes e critérios sobre restauração ecológica no Estado de São Paulo, e dá providências correlatas**. Diário Oficial do Estado de São Paulo, seção 1, p. 36-37, 5 abr. 2014. Disponível em: <https://www.infraestruturameioambiente.sp.gov.br/legislacao/2014/04/resolucao-sma-32-2014>. Acesso em: 11 mar. 2021.

SENAR. **Abelhas *Apis Mellifera***: instalação do apiário. Brasília: SENAR, 2009. (Coleção SENAR, n. 141). Disponível em: <https://www.senar-ap.org.br/uploads/biblioteca/2015/06/abelhas-instalacao-do-apiario.pdf>. Acesso em: 09 mar. 2021.

SIQUEIRA, K. M. M.; MARTIN, C. F.; SCHLINDWEIN, C.; KILL, L. H. P. Polinizadores efetivos da goiaba (*Psidium guajava*) em área irrigada do submédio do Vale do São Francisco. In: ENCONTRO DE ZOOLOGIA DE NORDESTE, 15., 2005, Salvador. **Resumos** [...]. Salvador: Universidade do Estado da Bahia, 2005. p. 260.

SOUZA, C. A. **Implantação e manutenção da flora apícola no setor de apicultura da UFRB**. 2019. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Medicina Veterinária) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2019. Disponível em: http://www.repositoriodigital.ufrb.edu.br/bitstream/123456789/1790/1/TCC%20FORMEI_Vers%C3%A3o%20final_25.07.pdf. Acesso em: 08 mar. 2021.

SOUZA, F. F.; QUEIRÓZ, M. A.; DIAS, R. C. S. Melancia sem semente. Desenvolvimento e avaliação de híbridos triploides experimentais de melancia. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 9, n. 2, p. 90-95, 1999.

TOREZANI, K. R. S. **Polinização da aboboreira (*Cucurbita pepo* L.): um estudo sobre a comunidade de abelhas em sistemas orgânicos e convencionais de produção no Distrito Federal**. 2015. 65 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

SILVA, M. I.; IMPERATRIZ FONSECA, V. L.; GROPPPO, M.; BAUERMANN, S. G.; SARAIVA, A. M.; QUEIROZ, E. P.; EVALDT, A. C. P.; ALEIXO, K. P.; CASTRO, J. P.; CASTRO, M. M. N.; FARIA, L. B.; CALIMAN, M. J. F.; WOLFF, J. L.; PAULINO NETO,

H. F.; GARÓFALO, C. A. **Catálogo polínico das plantas usadas por abelhas no Câmpus da USP de Ribeirão Preto**. Ribeirão Preto: Holos, 2014. 153 p.

VALERI, S. V.; NÓBREGA, A. M. F.; BARRETTO, V. C. M. Manejo e reflorestamento de áreas de preservação permanente e fragmentos florestais. *In*: VALERI, S.V.; POLITANO, W.; SENÔ, K. C. A.; BARRETTO, A. L. N. M. (ed.). **Manejo e recuperação florestal**: legislação, uso da água e sistemas agroflorestais. Jaboticabal: FUNEP, 2004. Cap. 7, p. 144-175.

VENTURIERI, G. C. **Criação de abelhas Indígenas sem Ferrão**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2008. 162 p. Disponível em: https://www.embrapa.br/documents/1355163/40485433/0919_24_C3%A7%C3%A3o+de+abelhas+ind%C3%ADgenas+sem+ferr%C3%A3o_Curso_Melipon%C3%ADneos/7a59b28c-afbd-d386-3d19-1c3c92086af3. Acesso em: 12 mar. 2021.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual tecnológico**: mel de abelhas sem ferrão. 1. ed. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN) , 2012. 100 p. Disponível em: <https://www.semabelhasemalimento.com.br/wp-content/uploads/2015/02/Manual-Tecnico-Mel-de-Abelhas-sem-Ferrao.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2021.

WITTER, S. **As abelhas e a agricultura**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2014. 143 p.

WITTER, S.; NUNES-SILVA, P. **Manual de boas práticas para o manejo e conservação de abelhas nativas (meliponíneos)**. 1. ed. Porto Alegre: Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, 2014. 144 p.

WITTER, S.; RADIN, B.; LISBOA, B. B.; TEIXEIRA, J. S. G.; BLOCHTEIN, B.; FONSECA, V. L. I. Desempenho de cultivares de morango submetidas a diferentes tipos de polinização em cultivo protegido. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 47, n. 1, p. 58-65, 2012.

ZHANG, W.; RICKETTS, TAYLOR H.; KREMEN, C.; CARNEY, K.; SWINTON, S.M. Ecosystem services and dis-services to agriculture. **Ecological Economics**, [s. l.], v. 64, n. 2, p. 253-260, 2007.

CAPÍTULO 12

COLLETOTRICHUM EM SERINGUEIRA: ETIOLOGIA, COMPORTAMENTOS DE CLONES E A INFLUÊNCIA DO AMBIENTE

Marcela Pagoti Bergamini Lopes

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia do Câmpus
de Ilha Solteira, Ilha Solteira, São Paulo,
Brasil.

Izabela Ponso Magalhães

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Erivaldo José Scaloppi Junior

Agência Paulista de Tecnologia dos
Agronegócios (APTA), Centro de
Seringueira e Sistemas Agroflorestais,
Votuporanga, São Paulo, Brasil.

Ivan Herman Fischer

Agência Paulista de Tecnologia dos
Agronegócios (APTA), Centro Regional
Centro-Oeste, Bauru, São Paulo, Brasil.

Edson Luis Furtado

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas
(FCA), Botucatu, São Paulo, Brasil.

Ana Carolina Firmino

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Resumo

A seringueira é uma espécie nativa da região amazônica, amplamente cultivada no Brasil. A antracnose, causada por fungos do gênero *Colletotrichum* está presente nas principais áreas de plantio dessa espécie arbórea. Essa doença pode afetar diferentes tecidos da seringueira, acarretando o desfolhamento, a morte da gema apical e a seca descendentes dos ramos. Quando a doença ocorre no painel de sangria, pode haver comprometimento da produção de látex. Atualmente, sabe-se que a antracnose na seringueira pode ser causada por diferentes espécies de *Colletotrichum* pertencentes a três complexos: complexo *C. gloeosporioides*, *C. boninense* e complexo *C. acutatum*. Essa variabilidade de espécies pode dificultar o controle da doença, tanto químico quanto genético, já que ela apresenta sensibilidade diferenciada aos fungicidas, assim como os clones de seringueira mostram comportamento variado, de acordo com a espécie envolvida no patossistema. Em relação à influência do ambiente no desenvolvimento do fungo, vários trabalhos observaram que esse fator está ligado diretamente ao período de molhamento, sendo que quanto maior esse período, melhor é o desenvolvimento do fungo, principalmente nas faixas de temperatura de 20 a 35°C. Uma maior compreensão sobre a etiologia e sobre as condições ambientais favoráveis à antracnose da seringueira possibilita estudos direcionados, visando minimizar os danos causados pela doença.

1 INTRODUÇÃO

A seringueira (*Hevea brasiliensis*) é uma espécie oriunda da região amazônica, pertencente à família Euphorbiaceae. A espécie possui grande importância econômica devida à produção de látex, fonte de borracha natural (ALVARENGA; CARMO, 2008). Apesar da importância da borracha natural como matéria prima para a indústria em diversos segmentos, como os da indústria automobilística, de calçados, de adesivos e da área médica (SIERRA-HAYER, 2014), a produção brasileira de borracha natural representa apenas um terço da demanda nacional pelo produto, havendo necessidade da sua importação, com reflexos negativos na balança comercial do país. No ano de 2012, US\$ 1,1 bilhão foram gastos com a importação de borracha natural no Brasil (SCALOPPI JÚNIOR, 2015).

As maiores áreas de cultivo comercial de seringueira estão localizadas nos países do sudeste asiático, com destaque à Malásia, Indonésia e Tailândia. No Brasil, a seringueira é cultivada em 17 estados, desde a região Norte até o norte do Estado do Paraná (GASPAROTTO *et al.*, 2012). O setor, que emprega uma pessoa por quatro hectares, é responsável pela geração de cerca de 80 mil postos de trabalhos no país, o que indica a importância da cultura sob o aspecto social, ambiental e para a segurança e qualidade de vida dos produtores (SCALOPPI JUNIOR, 2015; SERINGUEIROS..., 2016). O Estado de São Paulo é o principal produtor de borracha natural do país, representando 60% da borracha natural produzida no Brasil (INFORMA ECONOMICS FNP, 2015; OLIVEIRA; GONÇALVES, 2019).

Alguns fatores são limitantes ao aumento da produtividade da cultura no Brasil, entre os quais estão os problemas fitossanitários. Dentre as doenças foliares mais importantes da seringueira, encontram-se o mal-das-folhas e a antracnose causadas por *Microcyclus ulei* e *Colletotrichum ssp.*, respectivamente (FURTADO; GASPAROTTO; PEREIRA, 2016).

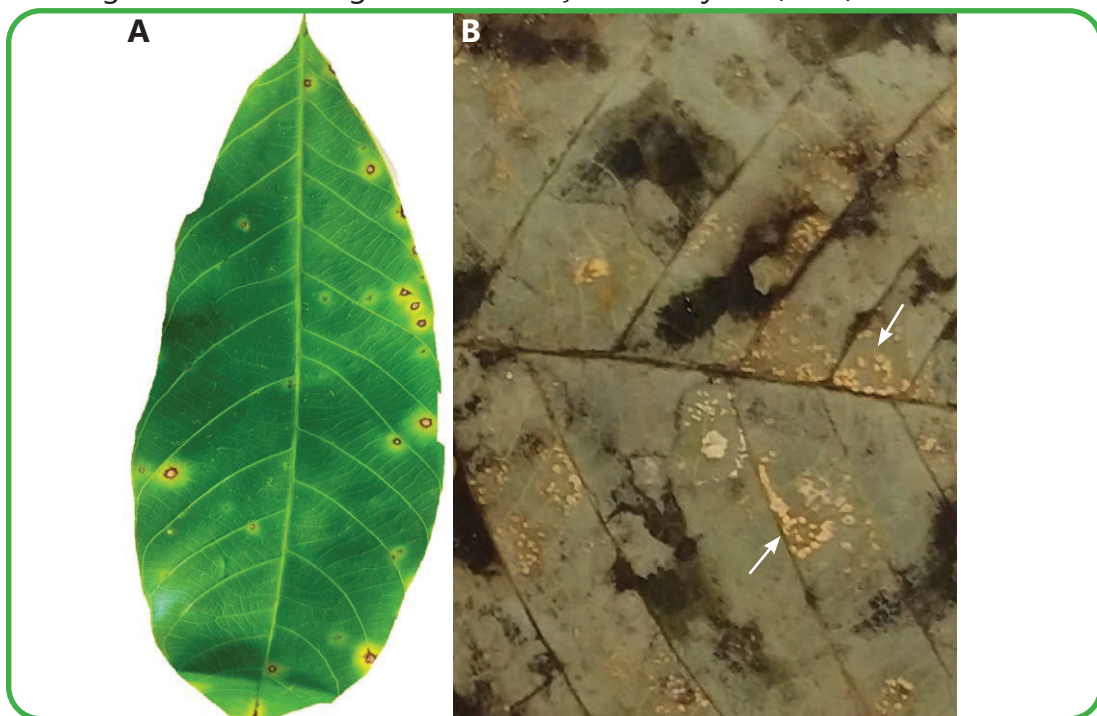
2 CARACTERÍSTICAS DA DOENÇA E DE SEU AGENTE CAUSAL

A antracnose é uma doença causada por fungos do gênero *Colletotrichum*, considerado, economicamente, um dos mais importantes gêneros de fitopatógenos no mundo, devido aos elevados danos causados em uma ampla gama de espécies vegetais, em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (SUTTON, 1992). No Estado de São Paulo, a doença foi primeiramente relatada em seringueiras do município de Porto Feliz, atacando folhas, ramos e inflorescência (SILVEIRA; CARDOSO, 1987). Em 1988, foi constatada no município de Tupã, causando danos ao painel de sangria de seringueiras (SILVEIRA; FURTADO; LOPES, 1992). Atualmente, ela está presente em todo território brasileiro, inclusive nos estados que se destacam na produção de latex, como Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e Espírito Santo e no norte do país, onde a antracnose ocorre associada ao mal-das-folhas ou

em plantas com estresse nutricional. Em latitude mais elevada, a antracnose promove danos severos em brotações novas, causando seca descendente e lesionando folhas, inflorescências e ponteiros (FURTADO; TRINDADE, 2005).

Diferentes tecidos da seringueira são afetados pela antracnose. Nas folhas, ramos e pecíolos, os sintomas se manifestam nas brotações novas, causando lesões marrom-avermelhada, necróticas e deprimidas que podem coalescer (Figura 1). Em condições de ataque severo, ocorrem o desfolhamento, a morte da gema apical e a seca descendentes dos ramos. Em todos os órgãos afetados, há grande produção de esporos, envoltos por uma mucilagem de coloração alaranjada (Figura 1), que tem como função a proteção desses esporos em condições ambientais desfavoráveis (FURTADO; TRINDADE, 2005). No painel de sangria, os sintomas se caracterizam pela presença de lesões secas e deprimidas, com forma elíptica, localizadas acima do corte de sangria (SILVEIRA; FURTADO; LOPES, 1992), que podem danificar grande parte do painel (FURTADO; TRINDADE, 2005).

Figura 1. A. Sintomas típicos de antracnose em folhas de seringueira. **B.** Mucilagem; uma mucilagem de coloração alaranjada (Seta).



Fonte: elaborado pelos autores.

A identificação de espécies de *Colletotrichum*, por muitos anos, foi baseada quase que exclusivamente em características fenotípicas, como aspectos culturais, morfológicos e fisiológicos. Entretanto, devido à plasticidade fenotípica apresentada pelas espécies dos fungos desse gênero, o uso integrado de métodos morfológicos e bioquímicos foram integrados

aos estudos taxonômicos desse importante grupo de fungos (MENEZES, 2006). Esse fato levou à identificação da espécie *C. gloeosporioides* apenas como agente causal da antracnose em seringueira durante muitos anos.

No decorrer dos anos, com os avanços nos estudos moleculares associados aos métodos baseados em critérios fenotípicos, a taxonomia do gênero *Colletotrichum* tem sido mais bem compreendida, e novas espécies têm sido propostas (DAMM *et al.*, 2012a; DAMM *et al.*, 2012b; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012). A análise de sequências de ácidos nucleicos é considerada a técnica mais confiável para a classificação de espécies de *Colletotrichum* (CAI *et al.*, 2009; CROUCH *et al.*, 2009; DAMM *et al.*, 2009; PRIHASTUTI *et al.*, 2009; CANNON *et al.*, 2012).

Dentre as regiões do genoma já estudadas para este gênero, a região do espaçador interno transcrito (ITS) é a que possui maior número de sequências depositadas. A análise filogenética utilizando dados dessa região é uma ferramenta útil para uma identificação preliminar da espécie de *Colletotrichum* ou para colocá-la em um complexo de espécie (CAI *et al.*, 2009). Recentemente, várias regiões do genoma de fungos do gênero *Colletotrichum* têm sido analisadas em conjunto com a ITS, entre as quais a β -tubulina, a calmodulina, a glutamina sintetase, a actina e o gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (PRIHASTUTI *et al.*, 2009). No estudo realizado por Damm *et al.* (2012a), as sequências de ITS analisadas separadamente distinguiram apenas 11 subclados no complexo de espécies *C. acutatum*, porém, puderam distinguir 29 subclados utilizando análise multilocus. Por sua vez, Weir, Johnston e Damm (2012), estudando o complexo de espécies *C. gloeosporioides* distinguiu 22 espécies, número superior ao obtido com a análise utilizando apenas a ITS. Esses trabalhos demonstraram que a análise multigênica é a técnica mais adequada para identificação de espécies de *Colletotrichum*.

Entre os agentes causais da antracnose na cultura da seringueira já relatados no Brasil estão *C. gloeosporioides* (SILVEIRA; CARDOSO, 1987), *C. acutatum* (SIERRA-HAYER, 2010) e *C. tamarillo* (MAGALHÃES *et al.*, 2021). Sarmiento (2013) caracterizou isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de seringais dos estados de Minas Gerais, Bahia, Mato Grosso e Manaus, utilizando análises morfológicas e moleculares, e constatou que eles pertencem a diferentes complexos de espécies (*C. acutatum*, *C. gloeosporioides* e *C. boninense*), embora não tenha sido possível identificar precisamente as espécies desses isolados. Recentemente, sete espécies diferentes (*C. acutatum*, *C. scovillei*, *C. gloeosporioides*, *C. siamense*, *C. fructicola*, *C. theobromicola* e *C. karsti*) desse patógeno foram identificadas em seringueiras no Brasil com base no sequenciamento de diferentes regiões do DNA do fungo (ANTONIO *et al.*, 2021; GOMES *et al.*, 2020).

Novas espécies de *Colletotrichum* em seringueira em outros países também têm sido relatadas. Na Índia e na Colômbia, a antracnose foi

associada com *C. laticiphilum*, enquanto no Sri Lanka ela foi associada com *C. citri*, *C. laticiphilum*, *C. nymphaeae* e *C. simmondsii*, além de *C. acutatum* (HUNUPOLAGAMA *et al.*, 2017). Na China, pesquisas recentes com fungos associados à antracnose de seringueira mostraram que *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* são complexos de espécies que predominam (SAHA *et al.*, 2002, CAO *et al.*, 2019).

A ocorrência de duas ou mais espécies de *Colletotrichum* parasitando um mesmo hospedeiro pode dificultar o controle da antracnose, tornando-a uma doença ainda mais importante. Esse fato se deve ao comportamento diferenciado entre espécies perante fungicidas como azoxistrobina, carbendazim, tiabendazol e tebuconazol (TOZZE JÚNIOR, 2007).

3 MÉTODOS DE CONTROLE DA DOENÇA

No caso da antracnose da seringueira, em folhas ou em painéis de sangrias, o controle químico tem sido recomendado somente em jardins clonais (SILVEIRA; FURTADO; LOPES, 1992; GASPAROTTO *et al.*, 2012). Mesmo assim, ainda deve-se levar em consideração o uso consciente desse método de controle, pois há somente dois produtos registrados pelo Ministério da Agricultura para uso na cultura no caso da antracnose (AGROFIT, 2021).

No campo, Guyot (1997, 1998) descreveu que o controle químico de *Colletotrichum* em seringueira envolve algumas restrições como: (a) a área foliar deve ser suficiente para permitir a ação eficaz de fungicida; (b) a epidemia não deve estar muito avançada quando o tratamento é iniciado; (c) a intervenção precisa ser muito rápida, muitas vezes é inviável por razões técnicas e econômicas; e (d) as copas das árvores devem estar o mais uniforme possível.

A desfolha antecipada de plantas de seringueiras através do uso de produtos como ethephon, em épocas chuvosas, é um método de controle de antracnose em algumas regiões fora do Brasil. A técnica de desfolhamento artificial foi desenvolvida na Ásia e, atualmente, é usada em Camarões, na Malásia e em algumas regiões do Gabão (GUYOT *et al.*, 2001). Com esse método, o crescimento das novas folhas fica concentrado em um determinado período. Dessa maneira, a maioria das folhas jovens pode ser produzida em períodos relativamente secos, durante o qual o fungo não tem a possibilidade de completar vários ciclos epidêmicos sucessivos, causando, dessa maneira, menos danos (GUYOT *et al.*, 2001). Esse método de controle, segundo a literatura, é mais eficaz do que o uso de fungicidas na seringueira, além de ser mais barato, pois é necessária apenas uma aplicação por ano. Ainda, onde o tratamento é usado, verificou-se um aumento da densidade foliar das plantas mais uniforme em relação às áreas em que se usa fungicida, e ocorre um efeito no longo prazo decorrente da melhora das condições fitossanitárias das árvores, com um aumento da produção estimado entre

450 e 500 kg por hectare durante 12 meses (GUYOT *et al.*, 2001).

O uso de materiais genéticos de seringueira resistentes a *Colletotrichum*, agente causador da antracnose da seringueira, é o método ideal de controle da doença nessa cultura perene, que fica exposta ao ataque de patógenos durante muitos anos no campo. Esse método tem como vantagens poder ser aplicado em largas áreas e possuir baixo impacto ambiental (CAMARGO, 2011).

4 COMPORTAMENTO DE CLONES DE SERINGUEIRA A *COLLETOTRICHUM*

Os trabalhos visando à seleção de clones resistentes à antracnose no Brasil praticamente são escassos. Furtado *et al.* (1994), avaliando o desfolhamento causado por *Colletotrichum* em diferentes regiões produtoras de seringueira com clones usualmente cultivados no Estado de São Paulo, observaram que, na região de Matão, os clones GT1, PR225 e IAN 873 foram menos desfolhados, sendo o GT1 o mais promissor. Na região de Piracicaba, o clone RRIM 600 se destacou quanto à tolerância à doença quando comparado com os clones GT1 e IAN 873, sendo que os clones RRIM 701, PR261, PB217 e PB235 foram os que sofreram maiores desfolhamentos. A variação no comportamento do clone conforme a região de plantio pode ser explicada pela variabilidade genética do fungo, que leva a isolados com interação diferenciada com seu hospedeiro, e pelos microclimas regionais que podem favorecer a expressão da doença no campo.

Existem indícios de que a resistência da seringueira à antracnose é do tipo quantitativa, já que são relatados graus de resistência entre os clones testados. Um trabalho recente desenvolvido por Antonio *et al.* (2021), na região de Votuporanga/SP/Brasil, verificou que, dentre os 22 clones estudados, houve diferentes níveis de severidade da doença no campo, sendo que o clone IAC507 e IAC505 se mostraram os mais resistentes, seguidos dos clones IAC502, RRIM937, PB235 e PB311, que apresentaram sintomas moderados. Nesse estudo, o clone RRIM600 apresentou maior suscetibilidade à doença, tanto em campo quanto em laboratório.

Resultados semelhantes foram observados em outros genótipos na China, tanto em campo quanto em viveiro, em 34 clones entre os anos de 1984 a 1989, por Xiao (1990). Tal autor relata que o desenvolvimento da infecção por *C. gloeosporioides* em diferentes clones de seringueira indicaram que, nos clones resistentes, houve um período de latência mais longo e menor esporegênese, o que levou a menor severidade da doença, em oposição a um período de incubação mais curto, esporegênese mais precoce e maior severidade da doença no caso de clones suscetíveis (XIAO, 1990). Magalhães *et al.* (2021) observou esses mesmos aspectos no patossistema *C. tamarillo*-Seringueira de plantas resistentes (IAC 502, IAC 507 e RRIM 937) e suscetíveis (RRIM 600).

O comportamento variado dos clones conforme espécie de *Colletotrichum* envolvida na doença é relatada por vários autores. Antonio *et al.* (2021) estudaram a interação de diferentes espécies de *Colletotrichum* com diferentes clones de seringueira, observando, por exemplo, que o clone PR255 se mostrou resistente ao isolado *C. acutatum* e suscetível ao isolado *C. fructicola*. Santos (2018), estudando trinta e nove genótipos de seringueira quanto à sensibilidade a quatro isolados pertencentes aos três complexos de espécies (*C. gloeosporioides*, *C. boninense* e *C. acutatum*), também demonstrou haver variabilidade nas reações dos clones conforme o isolado usado.

Saha *et al.* (2002) também demonstraram que existe diferenças na agressividade de isolados de *Colletotrichum*, conforme o clone de seringueira testado. Além da agressividade, os autores também concluíram que a morfologia dos sintomas era distinta entre as espécies, com *C. acutatum* provocando pontos salientes nas folhas enquanto *C. gloeosporioides* causava lesões semelhantes a manchas. Essas informações indicam que os processos de seleção de clones para plantio comercial de seringueira devem contemplar a capacidade de resistência do material à antracnose, atentando-se para a diferença de cada clone a uma determinada espécie que predomina na área ou na região (SARMIENTO, 2013). Juntamente à variabilidade genética das espécies de *Colletotrichum*, ainda é importante levar em consideração as condições ambientais nos estudos de resistência genética, pois ambas influenciarão no potencial de resistência de diferentes clones a antracnose, e, conseqüentemente, afetarão a severidade da doença (SAHA *et al.*, 2002).

5 INFLUÊNCIA DO AMBIENTE SOBRE O PATOSSITEMA COLLETOTRICHUM-SERINGUEIRA

O ambiente tem forte influência no ciclo de um patógeno em seu hospedeiro. No caso do ciclo de *Colletotrichum* na seringueira, sabe-se que as condições de umidade relativa do ar superiores a 90% durante 13 horas por dia favorecem a ocorrência severa da doença nessa cultura (GASPAROTTO *et al.*, 2012). De acordo com Wastie (1972), a temperatura ótima para o crescimento e esporulação de *C. gloeosporioides* de *H. brasiliensis* ocorre entre 26 e 32°C, com germinação de esporos superior a 90%, entre 21,5 e 30,5°C, sendo a viabilidade e germinação de esporos sensíveis à umidade atmosférica, decrescendo significativamente abaixo de 100% de umidade relativa do ar.

O comportamento das espécies de *Colletotrichum* pode ser distinto quanto à temperatura ótima para seu crescimento. Esse fato foi constatado por Adaskaveg e Hartin (1997) que, analisando o desenvolvimento de colônias em meio de cultura, distinguiram isolados de *C. gloeosporioides* que se desenvolveram melhor a 30°C, e de *C. acutatum* cujo crescimento da colônia foi mais intenso à temperatura de 25°C. Smith e Black (1990) também diferenciaram isolados de *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, pelo fato da

última espécie ter menor desenvolvimento sob a temperatura de 32°C.

Estudos realizados para verificação da influência de diferentes temperaturas e períodos de molhamento na pré-penetração e período de latência de *C. tamarillo* em clones de seringueira resistentes (IAC 507, IAC 502 e RRIM 937) e suscetível (RRIM 600) mostram que as porcentagens de germinação dos esporos e formação de apressórios são diretamente proporcionais ao período de molhamento, sendo mais expressivas sob temperaturas entre 20 a 35°C, independente do clone. Com 24 horas de molhamento, o clone RRIM 600 mostrou os maiores valores de germinação dos esporos e formação de apressórios, o que pode explicar sua suscetibilidade. O período de latência foi menor nos clones resistentes e teve influência da temperatura, visto que, quanto maior a temperatura menor era o período de latência do fungo na planta. No geral, os resultados apontam para um atraso no desenvolvimento de *C. tamarillo* nos clones resistentes, e isso pode contribuir para o atraso do crescimento de taxa de progressão da doença no campo, diminuindo assim o progresso da doença durante o desenvolvimento da cultura (MAGALHÃES *et al.*, 2021).

Segundo as informações do Centro de Seringueira e Recursos Florestais (2019), essa cultura aparentemente encontra condições ideais para desenvolvimento, representadas por temperatura média anual de $28\pm 2^{\circ}\text{C}$, pluviosidade anual de 2.000 a 4.000mm, distribuídas uniformemente durante todo o ano. A sazonalidade tropical nas regiões produtoras de látex, a partir de seringais comerciais, é caracterizada por verão úmido (outubro a março) e inverno seco (abril a setembro). A partir de novembro, o aumento das temperaturas e da demanda hídrica coincidente com maiores precipitações, que levam a maiores ocorrências de antracnose nas áreas, e podem causar uma desfolha intensa e morte de galhos, e, conseqüentemente, uma queda na produção da planta.

Alguns dados apontam que *Colletroctichum* de seringueira é capaz de explorar uma faixa de temperatura extensa, assim, pode se desenvolver em qualquer época do ano e período do dia, pois são raros e curtos os períodos em que as temperaturas ambientes ficam abaixo de 15°C ou acima de 40°C nos locais onde se localizam os plantios comerciais desta cultura. Tal fato pode dificultar o desenvolvimento de sistemas de previsão de doenças baseados na variável temperatura (MORAES, 2009; MAGALHÃES *et al.*, 2021). Desse modo, o que poderia colaborar no manejo da doença no campo seria o monitoramento da pluviosidade.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para o desenvolvimento ou adoção de um método eficaz ao controle da antracnose da seringueira, independentemente do tipo (químico, genético ou cultural), é imprescindível o conhecimento sobre quais espécies do patógeno

ocorrem e quais prevalecem, bem como qual a variabilidade da população do patógeno associada à antracnose da seringueira em uma determinada região.

Uma maior compreensão sobre a etiologia e as condições ambientais favoráveis à antracnose da seringueira possibilita estudos direcionados que visem minimizar os danos causados pela doença, contribuindo com a maior produtividade dos seringais e melhor atendimento às demandas pela borracha natural no mercado brasileiro.

Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP (2017/ 23927-3, 2018/18088-5 e 2020/11518-4), ao CNPq pela Bolsa concedida (CNPq 141686/2018-9) e a todos os alunos e professores envolvidos na pesquisa desse patossistema.

REFERÊNCIAS

- ADASKAVEG, J. E.; HARTIN, R. J. Characterization of *Colletotrichum acutatum* isolates causing anthracnose of almond and peach in California. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 87, n. 9, p. 979-987, 1997.
- AGROFIT. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 9 mar. 2021.
- ALVARENGA, A. A.; CARMO, C. A. F. **Seringueira**. Viçosa: EPAMIG, 2008.
- ANTONIO, G. L.; SCALOPPI JUNIOR, E. J.; FISHER, I. H.; FURTADO, E. L.; FIRMINO, A. C. Clonal resistance of rubber tree to *Colletotrichum* spp. **Forest Pathology**, 2021. DOI: 10.1111/EFP.12685.
- CAI, L.; HYDE, K. D.; TAYLOR, P. W. J.; WEIR, B. S.; WALLER, J.; ABANG, M. M.; ZHANG, J. Z.; YANG, Y. L.; PHOULIVONG, S.; LIU, Z. Y.; PRIHASTUTI, H.; SHIVAS, R. G.; MCKENZIE, E. H. C.; JOHNSTON, P. R. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. **Fungal Diversity**, [s. l.], v. 39, p. 183-204, 2009.
- CAMARGO, L. E. A. Genética da interação patógeno-hospedeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M. (org). **Manual e fitopatologia**: princípios e conceitos. Piracicaba: Ceres, 2011. p. 119-132.
- CANNON, P. F.; DAMM, U.; JOHNSTON, P. R.; WEIR, B. S. *Colletotrichum*: current status and future directions. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 73, n. 1, p. 181-213, 2012.
- CAO, X., XU, X., CHE, H., WEST, J. S., LUO, D. Three *Colletotrichum* species, including a new species, are associated to leaf anthracnose of rubber tree in Hainan, China. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 103, n. 1, p. 117-124, 2019.
- CENTRO DE SERINGUEIRA E RECURSOS FLORESTAIS. **Condições edafoclimáticas**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2019. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/areasdepesquisa/seringueira/edafoclimaticas.php>. Acesso em: 9 abr. 2019.

CROUCH, J. A.; CLARKE, B. B.; WHITE, J. F.; HILLMAN, B. I. Systematic analysis of the falcate-spored graminicolous *Colletotrichum* and a description of six new species of the fungus from warm season grasses. **Mycologia**, Madison, v. 101, n. 5, p. 717-732, 2009.

DAMM, U.; CANNON, P. F.; WOUTENBERG, J. H. C.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum acutatum* species complex. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 73, n. 1, p. 37-113, 2012a.

DAMM, U.; CANNON, P. F.; WOUTENBERG, J. H. C.; JOHNSTON, P. R.; WEIR, B. S.; TAN, Y. P.; SHIVAS, R. G.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum boninense* species complex. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 73, n. 1, p. 1-36, 2012b.

DAMM, U.; WOUTENBERG, J. H. C.; CANNON, P. F.; CROUS, P. W. *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. **Fungal Diversity**, [s. l.], v. 39, p. 45-87, 2009.

FURTADO, E. L.; GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J. C. R. Doenças da seringueira. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2016. v. 2, p. 647-656.

FURTADO, E. L.; SILVEIRA, A. R.; GONÇALVES, O. S.; COSTA, J. D.; WINDEL, W.; SEGNINI JUNIOR, I. Avaliação de cultivares de seringueira quanto ao desfolhamento causado por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., no Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, p. 339, 1994.

FURTADO, E. L.; TRINIDADE, D. R. Doenças da seringueira. In: KIMATI, H. *et al.* **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p. 559-569.

GASPAROTTO, L.; FERREIRA, F. A.; SANTOS, A. F.; PEREIRA, J. C. R.; FURTADO, E. L. Doenças das folhas. In: GASPAROTTO, L.; REZENDE PEREIRA, J. C. **Doenças da seringueira no Brasil**. 2. ed. Brasília: Editora Embrapa, 2012. cap. 3, p. 35-176.

GOMES, M. E.; LOPES, M. P. B.; FISCHER, I. H.; TOZZE JUNIOR, H. J.; FIRMINO, A. C. Identificação de espécies de *Colletotrichum* causadoras de antracnose em seringueira. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 32., 2020, São Paulo. **Anais** [...]. São Paulo: Unesp, 2020.

GUYOT, J. ESSAI DE LUTTE CONTRE LES MALADIES DE FEUILLES PAR DÉFOLIATION ARTIFICIELLE ET TRAITEMENT FONGICIDE SUR GT 1 À L'ANNÉE DESON OUVERTURE. In: **Rapport Annuel d'Activité 1997 du Centre d'Appui Technique à l'Hévéaculture Gabonaise**. [S. l.: s. n.], 1998. p. 9-11.

GUYOT, J. ESSAI FONGICIDE EN COMPLÉMENT DE LA DÉFOLIATION. In: **Rapport Annuel d'Activité 1996 du Centre d'Appui Technique à l'HeHveHaculture Gabonaise**. [S. l.: s. n.], 1997. p. 18.

GUYOT, J.; OMANDA, E. N.; NDOUTOUME, A.; OTSAGHE, A. A. M.; ENJALRIC, F.; ASSOUMOU, H. G. N. Effect of controlling *Colletotrichum* leaf fall of rubber tree on epidemic development and rubber production. **Crop Protection**, [s. l.], v. 20, n. 7, p. 581-590, 2001.

HUNUPOLAGAMA, D. M.; CHANDRASEKHARAN, N. V.; WIJESUNDERA, W. S. S.; KATHIARACHCHI, H. S.; FERNANDO, T. H. P. S.; WIJESUNDRERA, R. L. C. Unveiling

members of *Colletotrichum acutatum* species complex causing *Colletotrichum* leaf disease of *Hevea brasiliensis* in Sri Lanka. **Current Microbiology**, [s. l.], v. 74, n. 6, p. 747-756, 2017.

INFORMA ECONOMICS FNP. Seringueira. In: INFORMA ECONOMICS FNP. **Agrianual 2015**: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2015. p. 403-408.

MAGALHÃES, D. M. A.; GOMES, M. E.; SCALOPPI JUNIOR, E. J.; FISCHER, I. H.; FURTADO, E. L.; MOREIRA, B. R. A.; PRADO, E. P.; A. C. FIRMINO. Pré penetração e período de latência de *Colletotrichum tamarilloi* em clones de seringueira resistentes e suscetível sob diferentes condições ambientais. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 49, n. 131, 2021.

MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônoma**, Recife, v. 3, p.170-179, 2006.

MORAES, S. R. **Infecção e colonização de *Colletotrichum gloeosporioides* em goiaba e infecção de *Colletotrichum acutatum* em folhas de citros**. 2009. 114 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

OLIVEIRA, M. D. M.; GONÇALVES, E. C. P. Custo de Produção e Rentabilidade da Cultura da Seringueira: safra 2018/19. **Instituto de Economia Agrícola: Análises e Indicadores do Agronegócio**, São Paulo, v. 14, n.2, 2019.

PRIHASTUTI, H.; CAI, L.; CHEN, H.; MCKENZIE, E. H. C.; HYDE, K. D. Characterization of *Colletotrichum* species associated with coffee berries in Chiang Mai, Thailand. **Fungal Diversity**, [s. l.], v. 39, p. 89-109, 2009.

SAHA, T.; KUMAR, A.; RAVINDRAN, M.; JACOB, C. K. Identification of *Colletotrichum acutatum* from rubber using random amplified polymorphic DNAs and ribosomal DNA polymorphisms. **Mycological Research**, Londres, v. 106, n. 2, p. 215-221, 2002.

SANTOS, T. R. **Diversidade de fungos no ambiente de seringais no sudeste da Bahia e resistência de genótipos de seringueira à antracnose foliar**. 2018. 131 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2018.

SARMIENTO, S. S. **Identificação de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose foliar da seringueira**. 2013. 72 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2013.

SCALOPPI JÚNIOR, E. J. O poder público precisa olhar para os seringais. In: INFORMA ECONOMICS FNP. **Agrianual 2015**: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2015. p. 403-404.

SERINGUEIROS contribuem para a geração de emprego e renda. **Agrolink**, [s. l.], 2016. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/noticias/seringueiros-contribuem-para-a-geracao-deemprego-e-renda_347620.html. Acesso em: 9 mar. 2019.

SIERRA-HAYER, J. F. **Caracterização e controle de *Colletotrichum* spp. em seringueira (*Hevea brasiliensis*)**. 2010. 68 f. Dissertação (Mestrado em

Agronomia) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2010.

SIERRA-HAYER, J. F. **Variabilidade genética de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* em seringueira (*Hevea brasiliensis*) no Brasil.** 2014. 55 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2014.

SILVEIRA, A. P.; CARDOSO, R. M. G. Ocorrência de *Colletotrichum gloeosporioides* em seringueira (*Hevea brasiliensis*) no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 13, n. 1-2, p. 19, 1987.

SILVEIRA, A. P.; FURTADO, E. L.; LOPES, M. E. B. M. Antracnose: nova doença do painel de sangria da seringueira. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 18, n. 3/4, p. 195- 200, 1992.

SMITH, B. J.; BLACK, L. L. Morphological, cultural and pathogenic variation among *Colletotrichum* species isolated from strawberry. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 74, n. 1, p. 69-76, 1990.

SUTTON, B. C. The Genus *Glomerella* and it's anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J. A, JEGER, M. J. (eds). **Colletotrichum: biology, pathology and control.** Wallingford, U.K.: CAB International, 1992. p. 1-26.

TOZZE JÚNIOR, H. J. **Caracterização e identificação de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose do pimentão (*Capsicum annuum*) no Brasil.** 2007. 81 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

WASTIE, R. L. Secondary leaf fall of *Hevea brasiliensis*: factors affecting the production, germination and viability of spores of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Annals of Applied Biology**, [s. l.], v. 72, n. 3, p. 273-282, 1972.

WEIR, B. S.; JOHNSTON, P. R.; DAMM, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 73, p. 115-180, 2012.

XIAO, Q. Resistant behaviour of popular rubber clones in China to *Colletotrichum gloeosporioides*. **Chinese Journal of Tropical Crops**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 107-113, 1990.



CAPÍTULO 13

QUALIDADE DAS NASCENTES URBANAS DE DRACENA-SP

Sérgio Bispo Ramos

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Emanuel Bispo Ramos

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Vitor Corrêa de Mattos Barretto

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Fabio Sampaio Rosas

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Ronaldo da Silva Viana

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Lucas Aparecido Manzani Lisboa

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Resumo

A degradação dos recursos naturais pelo homem tem provocado preocupações nos gestores ambientais e em parte da sociedade, vinculadas à quantidade e à qualidade da água doce disponível no planeta. No Brasil, o desenvolvimento urbano-industrial-rural tem contribuído negativamente com a qualidade do meio ambiente, além de gerar graves conflitos socioambientais, como a ocupação e a impermeabilização desordenada do solo e a deterioração de nascentes. O conhecimento das reais condições dos recursos hídricos pela sociedade é a chave mestra do aprimoramento da educação ambiental e ferramenta importante na expressão da cidadania. Juntos com os parceiros envolvidos, os objetivos deste trabalho foram: fazer a caracterização macroscópica, verificar a qualidade das águas e avaliar os efeitos das atividades antrópicas nas nascentes urbanas de Dracena/SP. Para tanto, foram elaborados os respectivos planos de revitalização, por meio do preenchimento de planilhas para caracterização dos ambientes e realizadas as análises laboratoriais químicas, físicas e biológicas das amostras de água coletadas nas nascentes. Os respectivos diagnósticos das nascentes urbanas ficam, por meio desta publicação, disponíveis para contribuir com a melhoria da educação ambiental nas escolas, desejando que o tema contamine a forma de pensar de toda população dracenense.

1 INTRODUÇÃO

Embora as autoridades públicas brasileiras estejam se atentando à escassez da água doce do planeta e exigindo o cumprimento de leis ambientais cada vez mais severas, tem-se percebido ainda crescentes degradações das áreas de proteção ambiental e o aumento da descarga de agentes poluidores nas nascentes e nos cursos d'água, resultando na queda da qualidade da água potável disponível.

O assunto água tem atraído as atenções do mundo nos últimos anos, sobretudo pela sua acelerada deterioração provocada pelo homem, que afeta suas características físicas, químicas e biológicas, resultando na atual crise mundial, seja pela disponibilidade ou pela qualidade da água doce do planeta (ARAUJO *et al.*, 2009).

Tucci (2008) ressalta que o Brasil passa por um intenso processo de urbanização, acarretando problemas relacionados à infraestrutura de água, destacando: déficit do tratamento de esgoto; ocupação do leito de inundação ribeirinha; canalização dos rios urbanos; aumento da carga de resíduos urbanos; impermeabilização do solo; e deterioração da qualidade da água por falta de tratamento dos efluentes.

A proteção e a conservação das nascentes urbanas são problemas graves, atuais e recorrentes. A legislação específica não contempla a plenitude da necessidade de proteção das nascentes para a maior parte das zonas urbanas brasileiras devido à falta de operacionalização do aparato legal e também pelos diversos interesses especulativos e imobiliários do espaço urbano (MOURA, 1994).

Segundo Hall (1984), os impactos decorrentes da urbanização em um sistema hídrico podem ser explicados pelo aumento da densidade demográfica, que compromete a qualidade da água, e pelo aumento da densidade de construções, que tende a impermeabilizar o solo e modificar o sistema de drenagem, diminuindo a quantidade desse recurso natural. Felipe e Magalhães Jr. (2012) sugerem que uma das principais consequências das intervenções urbanas na dinâmica das nascentes são as alterações de vazão, que podem, em casos extremos, provocar o desaparecimento da nascente, sua transformação em nascente temporária ou sua migração para a jusante.

Santos (2004) destaca que o planejamento ambiental é um instrumento da gestão dos recursos hídricos e trata de um processo ordenado que envolve a coleta, a organização e a análise sistematizada das informações, por meio de procedimentos e métodos, para chegar a decisões ou as escolhas acerca das melhores alternativas para o aproveitamento dos recursos disponíveis. Objetiva a proteção das águas e a orientação das políticas públicas, em especial a política ambiental, o que possibilita o gerenciamento dos recursos hídricos e a garantia da sustentabilidade do desenvolvimento (GARCIA; LEAL, 2012).

Contudo, é imprescindível a participação da comunidade local no sucesso do projeto, uma vez que os benefícios gerados são destinados à

ela. A participação social é uma função educativa da maior importância, pois prepara o homem para assumir o governo como algo próprio de sua soberania (BORDENAVE, 1994).

2 METODOLOGIA

2.1 Formação do grupo de trabalho (GT)

Os alunos da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT) da Universidade Estadual Paulista (Unesp)-, participantes do Grupo de Estudos do Meio Ambiente e Recursos Hídricos (GEMARH), registrado no Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) como Grupo de Estudos e na FCAT como Grupo de Extensão, inicialmente entraram em contato com os parceiros do projeto e verificaram seus interesses em participar do Grupo de Trabalho (GT). O GEMARH, fundado em 2017, atua em projetos voltados ao meio ambiente, sobretudo os que envolvem o tema "água".

O Poder Executivo disponibilizou a Secretaria Municipal da Agricultura e do Meio Ambiente para acompanhar efetivamente os trabalhos de coleta de amostras de água, assim como a Empresa de Desenvolvimento de Água, Esgoto e Pavimentação de Dracena (EMDAEP), que realizou as análises físicas, químicas e biológicas das amostras coletadas.

As Escolas Estaduais de Ensino Médio de Dracena Eng. Isac Pereira Garcez, 9 de Julho, Professora Julieta Guedes Mendonça e Alfredo Machado, por meio de seus alunos, participaram da coleta das amostras de água e das avaliações macroscópicas das nascentes urbanas, preenchendo formulários específicos *in loco*.

A Sociedade Civil foi representada pelo Conselho Regional de Engenharia e Agronomia (CREA) de Dracena, que acompanhou os trabalhos realizados durante o período de estudos.

O Grupo de Trabalho providenciou toda logística de transporte, coleta, análises, levantamentos, estudos, relatórios e divulgação dos resultados.

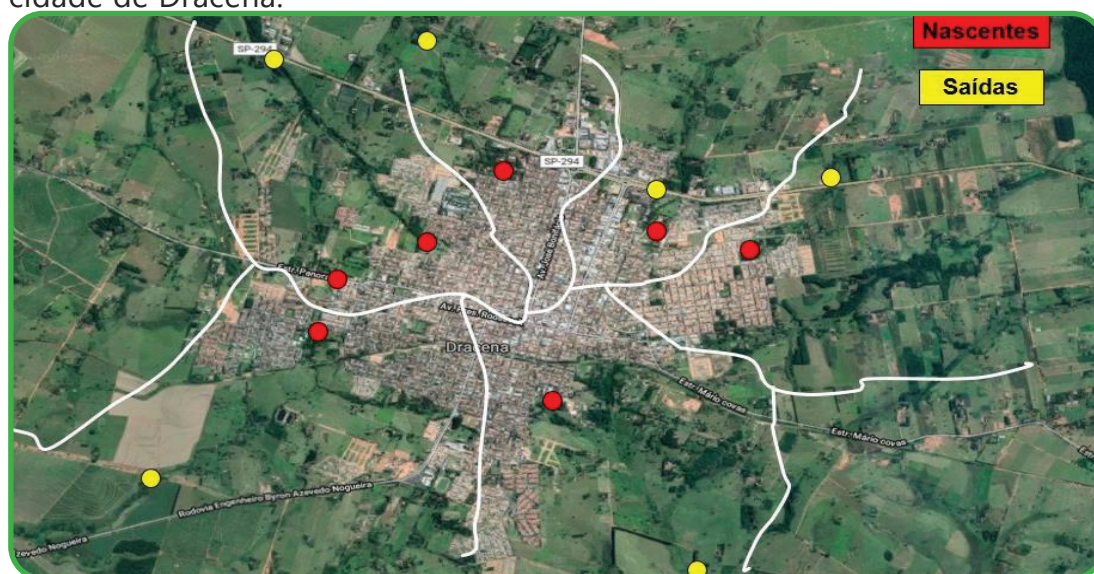
2.2 Identificação dos pontos para avaliações

Os locais das nascentes urbanas e os pontos onde os corpos d'água saem do plano de expansão urbana são identificados da seguinte forma: a nascente Palmeirinha possui coordenadas geográficas 21°28'53,42" S e 51°30'53,57" O, com ponto de saída no Bambuzal 21°28'30,88" S e 51°30'30,26" O; a nascente Feira Agropecuária e Industrial de Dracena (FAPIDRA) está a 21°28'24,53" S e 51°31'28,09" O, com ponto de saída na Ponte da Coimma 21°28'34,97" S e 51°31'17,35" O; a nascente Ipiranga fica a 21°28'24,53" S e 51°32'13,07" O, com ponto de saída na Ponte de Madeira 21°27'33,34" S e 51°32'38,18" O; a nascente APEOESP está a 21°29'21,56" S e 51°33'07,43" O, com saída no Laticínio 21°30'13,34" S e 51°33'53,31" O; a nascente da Zoonose está a 21°29'45,71" S e 51°31'37,24" O, com saída nas Três Coroas 21°31'10,17" S e

51°30'58,19" O; e as nascentes Kennedy a 21°28'46,88" S e 51°32'34,86" O e Pesqueiro a 21°28'50,08" S e 51°33'04,62" O, com saída na Ponte da Unesp a 21°27'45,66" S e 51°33'20,19" O.

Pelo fato de existirem outras nascentes urbanas em Dracena, ficou definido pelo GT, que seriam identificados os pontos de coleta de água e de avaliações macroscópicas considerando a compartimentação da rede de drenagem, de modo a abranger toda área geográfica da cidade (Figura 1).

Figura 1. Localização e compartimentação dos pontos de coleta de água da cidade de Dracena.



Fonte: elaborado pelos autores.

2.3 Avaliação das águas

As amostras de água dos locais identificados foram coletadas em quatro oportunidades, nos dias 06 de junho, 24 de julho, 17 de outubro e 21 de novembro de 2018, utilizando-se frascos higienizados com volume de 0,5L. Foram submetidas a análises químicas para determinação do pH, cloro e flúor; físicas, para quantificação da turbidez e cor e; biológica, para definição da presença de coliformes totais e fecais, conforme metodologia descrita por *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* publicação/0 da *American Public Health Association* (APHA) (STANDARD, 1985).

2.4 Avaliação macroscópica das nascentes

Esta avaliação visou dimensionar o impacto ambiental provocado pelo homem nas nascentes urbanas de Dracena. Para tanto, foi utilizada a metodologia desenvolvida por Gomes, Melo e Vale (2005), conforme orientações da Tabela 1. A somatória da pontuação dos parâmetros avaliados indicaram a classificação de cada nascente de acordo com a Tabela 2.

Tabela 1. Padrões para pontuação da qualidade macroscópica das nascentes urbanas de Dracena/SP.

Parâmetro	Pontuação		
	Ruim (1)	Médio (2)	Bom (3)
Cor da água	Escura	Clara	Transparente
Odor da água	Forte	Fraco	Sem cheiro
Lixo ao redor	Muito	Pouco	Sem lixo
Lixo na água	Muito	Pouco	Sem lixo
Espumas	Muita	Pouca	Sem espuma
Óleos	Muito	Pouco	Sem óleos
Esgoto na nascente	Doméstico	Superficial	Sem esgoto
Vegetação	Alta degradação	Baixa degradação	Preservada
Uso por animais	Presença	Apenas marcas	Não detectado
Uso por humanos	Presença	Apenas marcas	Não detectado
Proteção do local	Sem proteção	Com acesso	Sem acesso
Proximidade urbana	Menos de 50 m	Entre 50 e 100 m	Acima de 100 m
Tipo área de inserção	Ausente	Propriedade privada	Áreas protegidas

Fonte: elaborado pelos autores.

Tabela 2. Padrões para classificação das nascentes urbanas de Dracena/SP, em função da pontuação dos parâmetros ambientais macroscópicos.

Classes	Nível de qualidade	Pontuação
Classe A	Ótima	37 a 39 pontos
Classe B	Boa	34 a 36 pontos
Classe C	Razoável	31 a 33 pontos
Classe D	Ruim	28 a 30 pontos
Classe E	Péssima	Abaixo de 28 pontos

Fonte: elaborado pelos autores.

2.5 Apresentação dos resultados

Os resultados das análises, assim como das avaliações macroscópicas das nascentes de Dracena foram apresentados individualmente e descritivamente para todos os integrantes do GT no dia 10 de dezembro de 2018, em Oficina realizada no Auditório “Gabriel José Delgado Martins”, na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Câmpus de Dracena.

Nessa Oficina, discutiu-se as condições das nascentes urbanas de Dracena e foram levantadas alternativas para suas revitalizações. Os Planos de Revitalizações são apresentados mais adiante, de acordo com as interpretações dos alunos da Unesp-FCAT e das Escolas Estaduais de Ensino Médio da cidade.

3 PLANOS INDIVIDUAIS DE REVITALIZAÇÃO

Para melhor interpretação e discussão dos resultados colhidos neste trabalho, são apresentadas inicialmente as análises físicas, químicas e biológicas das nascentes urbanas (Tabela 3) e dos pontos de saída de água do plano de expansão urbana de Dracena (Tabela 4), assim como as avaliações ambientais macroscópicas de cada nascente (Tabela 5). Os parâmetros foram compilados e são utilizados para as considerações que justificam as categorias aplicadas individualmente a cada local estudado.

Tabela 3. Análises físicas, químicas e biológicas das nascentes urbanas da cidade de Dracena/SP.

Data de coleta	Nascente	pH	Cloro mg/L	Flúor mg/L	Cor	Turbidez NTU	Coliformes	
							Totais	Fecais
06/6	Palmeirinha	7,22	-	-	72,70	18,30	Pres.	Pres.
24/6		6,62	0,00	0,00	96,90	25,40	Pres.	Pres.
17/10		7,16	0,19	0,09	90,90	29,90	Pres.	Pres.
21/11		7,39	0,17	0,38	35,80	3,94	Pres.	Pres.
06/6	FAPIDRA	7,27	-	-	23,6	3,37	Pres.	Pres.
24/6		7,20	0,00	0,37	39,5	4,57	Pres.	Pres.
17/10		7,17	0,10	0,44	45,0	6,72	Pres.	Pres.
21/11		7,12	0,00	0,45	44,9	7,01	Pres.	Pres.
06/6	Ipiranga	7,28	-	-	19,6	1,52	Pres.	Pres.
24/6		7,24	0,00	0,31	25,3	2,04	Pres.	Aus.
17/10		7,15	0,05	0,38	21,3	3,66	Pres.	Aus.
21/11		7,21	0,00	0,39	19,4	2,33	Pres.	Pres.
06/6	APEOESP	6,73	-	-	106,0	31,50	Pres.	Pres.
24/6		7,10	0,00	0,14	220,0	113,00	Pres.	Pres.
17/10		6,87	0,00	0,74	29,1	7,46	Pres.	Pres.
21/11		6,95	0,00	0,17	37,6	4,09	Pres.	Pres.
06/6	Centro de Zoonose	7,19	-	-	207,0	35,60	Pres.	Pres.
24/6		7,00	0,00	0,00	195,0	52,50	Pres.	Pres.
17/10		7,07	0,64	0,00	260,0	40,00	Pres.	Pres.
21/11		6,71	0,00	0,00	261,0	42,10	Pres.	Pres.
06/6	Kennedy	7,02	-	-	189,0	62,40	Pres.	Pres.
24/6		6,79	0,00	0,39	170,0	95,00	Pres.	Pres.
17/10		6,84	0,33	0,22	139,0	35,80	Pres.	Pres.
21/11		7,40	0,00	1,77	145,0	35,40	Pres.	Pres.
06/6	Pesqueiro Neves	5,47	-	-	37,5	1,43	Pres.	Pres.
24/6		5,63	0,00	0,00	1,8	2,47	Pres.	Aus.
17/10		5,46	0,00	0,00	0,6	1,72	Pres.	Aus.
21/11		5,51	0,00	0,00	2,5	1,22	Pres.	Aus.

Fonte: elaborado pelos autores.

Tabela 4. Análises físicas, químicas e biológicas dos pontos de saída dos corpos d'água do plano de expansão urbano da cidade de Dracena/SP.

Data de coleta	Saída	pH	Cloro mg/L	Flúor mg/L	Cor	Turbidez NTU	Coliformes	
							Totais	Fecais
06/6	Bambuzal	7,12	-	-	75,40	8,40	Pres.	Pres.
24/6		7,09	0,00	0,28	61,10	6,60	Pres.	Pres.
17/10		7,19	0,15	0,18	96,30	30,50	Pres.	Pres.
21/11		7,19	0,00	0,23	34,10	3,79	Pres.	Pres.
06/6	Ponte da Coimma	7,30	-	-	18,2	1,93	Pres.	Pres.
24/6		7,32	0,00	0,64	25,7	2,51	Pres.	Pres.
17/10		7,19	0,00	0,70	32,2	6,63	Pres.	Pres.
21/11		7,22	0,19	0,28	94,2	17,30	Pres.	Pres.
06/6	Ponte de Madeira	7,00	-	-	25,7	5,30	Pres.	Pres.
24/6		6,95	0,00	0,00	18,4	4,34	Pres.	Pres.
17/10		6,96	0,00	0,06	46,3	7,11	Pres.	Pres.
21/11		6,83	0,12	0,05	42,5	6,16	Pres.	Pres.
06/6	Laticínio	7,18	-	-	190,0	64,40	Pres.	Pres.
24/6		7,29	0,00	0,00	227,0	85,50	Pres.	Pres.
17/10		7,20	0,60	0,29	197,0	34,70	Pres.	Pres.
21/11		7,20	0,00	0,38	202,0	34,20	Pres.	Pres.
06/6	Três Coroas	6,29	-	-	107,0	16,90	Pres.	Pres.
24/6		6,48	0,00	0,00	152,0	29,30	Pres.	Pres.
17/10		6,48	0,93	0,07	265,0	23,10	Pres.	Pres.
21/11		6,69	0,15	0,00	179,0	21,90	Pres.	Pres.
06/6	Ponte da UNESP	7,34	-	-	37,9	8,69	Pres.	Pres.
24/6		7,33	0,00	0,33	29,1	5,42	Pres.	Pres.
17/10		7,40	0,00	0,22	36,1	5,53	Pres.	Pres.
21/11		7,40	0,00	0,16	34,7	6,90	Pres.	Pres.

Fonte: elaborado pelos autores.

Tabela 5. Pontuações e classificação das nascente urbana de Dracena/SP, em função das avaliações ambientais macroscópicas. (1) Palmeirinha, (2) FAPIDRA, (3) Ipiranga, (4) APEOESP, (5) Zoonose, (6) Kennedy e (7) Pesqueiro Neves.

Parâmetro	Nascente urbana de Dracena/SP						
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
Cor da água	1	2	3	1	1	1	3
Odor da água	3	2	3	2	1	1	3
Lixo ao redor	2	1	2	1	3	1	3
Lixo na água	2	1	2	2	3	1	3
Espumas na água	2	1	3	2	2	1	3
Presença de óleos	2	2	2	1	2	1	3
Esgoto na nascente	3	2	3	2	3	1	3
Falta de vegetação	2	1	2	2	2	1	2
Uso por animais	3	3	3	3	1	3	3
Uso por humanos	2	2	2	2	1	1	3
Proteção do local	1	1	1	1	1	1	2
Proximidade urbana	1	1	1	1	2	1	2
Tipo inserção	1	1	1	1	2	1	2
Total	25	20	28	21	24	15	35
Classificação	D Ruim	E Péssima	D Ruim	E Péssima	D Ruim	E Péssima	B Boa

Fonte: elaborado pelos autores.

3.1 Revitalização da nascente Palmeirinha

A nascente Palmeirinha situa-se no Parque Municipal do Jardim Palmeiras em Dracena e apresenta diversos problemas relacionados à sua conservação, por se tratar de um local aberto e livre à entrada de pessoas e animais, ficando sujeita a frequentes intervenções ambientais danosas.

Recebe grande quantidade de água oriunda da coleta pluvial do bairro a montante, não possuindo a devida dissipação de energia em seu ponto de descarga dentro do parque. Também, acolhe águas clandestinas decorrentes dos escorrimientos superficiais das ruas adjacentes e águas pluviais provenientes de residências situadas ao seu redor, que as despejam de forma indevida. Esses fatores culminam com a produção de efeitos avassaladores de processos erosivos no local, culminando com o aparecimento de voçorocas e perdas de grande parte da vegetação.

Ainda, a nascente está com sua vazão enormemente prejudicada em função da insuficiente infiltração das águas das chuvas nas áreas de recarga, da proximidade urbana e da falta de proteção do local.

Avaliando os resultados das análises físicas, químicas e biológicas da nascente Palmeirinha (Tabela 3) e da saída no Bambuzal (Tabela 4), é possível observar que a cor da água sofreu ao longo do tempo, variação pouco expressiva. Entretanto, sua turbidez foi significativamente reduzida durante

a drenagem do corpo d'água, podendo-se inferir que houve depuração das águas no percurso estudado. Igualmente, é correto dizer que as águas analisadas estão biologicamente contaminadas, apresentando Coliformes Fecais e Totais em todas as amostras analisadas.

As piores pontuações observadas nos parâmetros ambientais macroscópicos para a nascente Palmeirinha foram: cor da água, proteção do local, proximidade urbana e tipo de inserção, sendo-lhe atribuída, por esse motivo, a classificação "D" ou ruim, conforme demonstrado na Tabela 5.

Baseado nessas análises e nas visitas *in loco* realizadas durante o período de estudo, o Grupo de Trabalho apresenta algumas sugestões para a revitalização da nascente Palmeirinha, a fim de melhorar a qualidade ambiental do parque que integra esse corpo d'água.

- a. Instalar dissipador de energia na saída dos tubos de coleta de água pluvial. Essa obra de engenharia deve ser dimensionada de tal forma que as águas oriundas de coleta pluvial percam a energia acumulada e sigam seu destino sem provocar erosões no Córrego Palmeirinha;
- b. Recompôr as margens do curso d'água para conter as erosões existentes e utilizar plantas com rápida formação radicular, de tal forma que as águas de escoamento superficial não provoquem novas erosões;
- c. Não permitir a entrada de águas clandestinas no Parque Municipal, decorrentes de escoamentos superficiais de áreas a montante da nascente;
- d. Acionar os moradores circundantes para que interrompam o despejo de água de suas residências diretamente no Parque Municipal;
- e. Cercar e isolar a nascente para evitar a entrada de pessoas e animais;
- f. Retirar o lixo existente no local;
- g. Promover campanha educativa para que as pessoas não joguem lixo no local e que promovam a conservação ambiental;
- h. Incentivar visitas ecológicas no Parque.

3.2 Revitalização da nascente FAPIDRA

A Nascente da Feira Agropecuária e Industrial de Dracena (FAPIDRA) é formada por outras nascentes do bairro e que foram canalizadas e direcionadas para o parque de exposições da FAPIDRA, quando de sua instalação na região.

Apresenta grande quantidade de lixo urbano, mais notadamente sacolas plásticas, latas de bebidas diversas e descartes domésticos. Ainda, na época chuvosa do ano, enfrenta processos erosivos em função da grande quantidade de água pluvial que recebe do bairro a montante.

Embora possua algumas árvores ao redor, a nascente FAPIDRA é desprovida de vegetação suficiente para a adequada preservação ambiental local e não dispõe de proteção contra a entrada de pessoas e animais.

Em relação à área de recarga da nascente, é possível observar que a

grande presença de residências e impermeabilizações diversas na região, não permite a livre e perfeita infiltração de água no solo, como ocorre em áreas abertas rurais. A falta de infiltração observada no local tem afetado negativamente o aumento do escoamento superficial e a redução da vazão da nascente.

Observou-se presença de Coliformes Fecais e Totais em todas as amostras coletadas e analisadas durante o período estudado na nascente da FAPIDRA (Tabela 3) e no ponto de saída da água na ponte da Coimma (Tabela 4).

Ainda, é possível que a contaminação biológica comprovada nas análises, ocorra mesmo antes da convergência das águas para o ponto comum na FAPIDRA, em função da diversidade de locais, falta de conhecimento desses pontos de captação e situações incontroláveis do ambiente.

Em relação à cor e à turbidez, percebe-se que as águas apresentaram aparência clara e transparente quando comparadas com as outras nascentes urbanas de Dracena. No período seco, relativos às duas primeiras coletas e análises das águas, a turbidez foi reduzida significativamente durante seu percurso da nascente até a saída do setor urbano, apontando e identificando processos de depuração ocorrido na rede de drenagem (Tabelas 3 e 4).

As piores pontuações observadas nos parâmetros ambientais macroscópicos para a nascente FAPIDRA foram: lixo ao redor da nascente, lixo na água, espumas na água, falta de vegetação, proteção do local, proximidade urbana e tipo de inserção, sendo-lhe atribuída então a classificação "E" ou péssima, conforme demonstrado na Tabela 5.

Baseado nessas análises e nas visitas *in loco* realizadas durante o período de estudo, o Grupo de Trabalho apresenta algumas sugestões para a revitalização da nascente da FAPIDRA, a fim de melhorar a qualidade ambiental local.

- a. Instalar dissipador de energia no ponto de convergência das nascentes formadoras da nascente principal e na saída dos tubos de coleta de água pluvial, a fim de se evitar processos erosivos no local;
- b. Recomposição da mata ripária conforme legislação vigente, com o objetivo de recuperar e conservar o curso natural do riacho;
- c. Retirar o lixo existente no local e criar mecanismos para se evitar a deposição de novos resíduos e impurezas, por meio de campanhas educativas;
- d. Incentivar a educação ambiental das pessoas que frequentam o local da Feira e/ou que moram nas redondezas da FAPIDRA.

3.3 Revitalização da nascente Ipiranga

A nascente do Jardim Ipiranga é composta por nascentes oriundas de outros bairros, que foram tubuladas e direcionadas para esse ponto, a fim de solucionar questões imobiliárias.

Nas duas primeiras avaliações do estudo, suas águas eram límpidas e existia conservação ambiental relativamente boa. Entretanto, a partir de setembro observou-se devastação das condições ambientais do local, com a deposição de grande quantidade de entulhos de construção, jogados em suas margens sem nenhum critério, promovendo aumento da possibilidade de assoreamento do corpo d'água e presença de processos erosivos em suas margens.

É possível observar que a nascente Ipiranga aponta a presença de Coliformes Totais em todas as quatro amostras coletadas e analisadas durante o período estudado. Entretanto, a nascente não exibiu Coliformes Fecais em duas oportunidades de coleta de água, mostrando o potencial qualitativo de suas águas. Tal fato permite observar que pequenas ações a serem executadas no local podem recuperar e revigorar a qualidade da água dessa nascente (Tabela 3).

Ainda, houve aumento significativo da turbidez em todas as avaliações realizadas, quando comparados os valores da nascente e da saída do curso d'água. Esse resultado aponta que essas águas foram poluídas e/ou contaminadas durante o percurso entre a nascente e o limite de expansão urbana de Dracena. A cor também sofreu acréscimo em sua tonalidade em três das quatro épocas de análises realizadas. É possível que a presença de animais que utilizam as pastagens em suas margens possa ter contribuído para o aumento desses índices, em função da deposição de suas fezes (Tabelas 3 e 4).

As piores pontuações observadas nos parâmetros ambientais macroscópicos para a nascente Ipiranga foram: proteção do local, proximidade urbana e tipo de inserção, sendo-lhe atribuída então a classificação "D" ou ruim, conforme demonstrado na Tabela 5.

Baseado nessas análises e nas visitas *in loco* realizadas durante o período de estudo, o Grupo de Trabalho apresenta algumas sugestões para a revitalização da nascente Ipiranga, a fim de melhorar sua qualidade ambiental.

- a. Efetuar a recomposição arbórea ao redor da nascente, a fim de se criar um ambiente mais propício à produção e conservação de água;
- b. Recuperar as margens do curso d'água, contendo erosões e evitar a formação de outras;
- c. Cercar e isolar a nascente para evitar a entrada de pessoas e animais;
- d. Retirar o lixo e entulhos de construção existentes no local, não permitindo outros depósitos futuros;
- e. Promover campanha educativa para que as pessoas não joguem lixo no local e que promovam a conservação ambiental.

3.4 Revitalização da nascente APEOESP

A nascente da APEOESP é formada pela drenagem de outras nascentes a montante do ponto de coleta de amostras de água, a fim de possibilitar a implantação dos bairros e viabilizar o crescimento do setor imobiliário da

região.

Durante as operações de coletas de água e avaliações macroscópicas da nascente foi possível observar a presença de grande quantidade de sacolinhas plásticas, lixo urbano e embalagens de produtos alimentícios no local. Verificou-se também expressiva quantidade de espuma na água.

O aparecimento de processos erosivos no local, culminando o desenvolvimento de voçorocas é decorrente da falta de amortecimento das águas que saem do sistema de coleta e a falta de dissipação de energia.

Em função do terreno íngreme e presença significativa de vegetação, a nascente APEOESP é de difícil acesso mas apresenta os efeitos nocivos da presença antrópica, devido aos descartes indevidos de seu lixo. Trata-se também de uma nascente aberta, sem proteção à entrada de pessoas e animais e sujeita à erosão e contaminação dos mais diversos tipos.

É possível observar que a nascente APEOESP e a Saída do corpo d'água do plano de expansão urbana apontam a presença de Coliformes Fecais e Totais em todas as amostras coletadas e analisadas durante o período estudado. A falta de controle da deposição da água, associada à presença de agentes contaminantes no local, impulsionam a contaminação e favorece a presença desses patógenos (Tabelas 3 e 4).

Embora constatarem-se elevados valores de cor e turbidez na nascente, esses parâmetros são acrescidos enormemente após a deposição dos efluentes oriundos da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE Mirassol), localizada à sua jusante e antes da saída do plano de expansão urbana.

As piores pontuações observadas nos parâmetros ambientais macroscópicos para a nascente APEOESP foram: cor da água, lixo ao redor da nascente, presença de óleos, uso por humanos, proteção do local e proximidade urbana, sendo-lhe atribuída então a classificação "E" ou péssima, conforme demonstrado na Tabela 5.

Baseado nessas análises e nas visitas *in loco* realizadas durante o período de estudo, o Grupo de Trabalho apresenta algumas sugestões para a revitalização da Nascente APEOESP, a fim de melhorar a qualidade ambiental local.

- a. Instalar dissipador de energia na saída dos tubos de coleta de água. Essa obra de engenharia deve ser dimensionada de tal forma que as águas oriundas das coletas das nascentes a montante e pluviais percam a energia acumulada e sigam seu destino sem provocar erosões a jusante da nascente;
- b. Recompôr as margens do curso d'água. Essa ação visa conter as erosões existentes e não permitir as formações de outras, por meio da recomposição vegetal nos pontos mais frágeis;
- c. Cercar e isolar a nascente para evitar a entrada de pessoas;
- d. Retirar o lixo existente no local;
- e. Promover campanhas educativas para que a população não jogue lixo no local e que desenvolva a conservação ambiental;
- f. Preservar a mata nativa ainda presente.

3.5 Revitalização da nascente Zoonose

A denominação da nascente Zoonose ficou estabelecida em função de sua proximidade ao Centro de Zoonose de Dracena, enquanto a Saída na Ponte Três Coroas foi escolhida por ser a mais acessível nessa micro bacia hidrográfica.

A nascente foi represada com o objetivo de dessedentação animal e, por isso mesmo, tem livre acesso de bovinos. Pela finalidade escolhida, a água apresenta intensa coloração esverdeada e alta turbidez (Tabela 3), que podem estar relacionadas à deposição de fezes desses animais. Ainda, pelo fato da nascente ser consideravelmente antropizada, ocorre a baixa presença de árvores ao seu redor.

É possível observar que a nascente Zoonose e a saída do corpo d'água do plano de expansão urbana apontam a presença de Coliformes Fecais e Totais em todas as amostras coletadas e analisadas durante o período estudado (Tabelas 3 e 4). Esse fato por si só contraindica seu consumo humano sem o tratamento prévio específico.

Ainda, é possível observar expressiva redução da turbidez quando comparados os valores da nascente e da saída do curso d'água (Tabelas 3 e 4). Esse resultado aponta que essas águas passaram por um processo de depuração durante o referido trajeto.

As piores pontuações observadas nos parâmetros ambientais macroscópicos para a nascente Zoonose foram: cor da água, odor da água, uso por animais, uso por humanos e proteção do local, sendo-lhe atribuída então a classificação "D" ou ruim, conforme demonstrado na Tabela 5.

Baseado nessas análises e nas visitas *in loco* realizadas durante o período de estudo, o Grupo de Trabalho apresenta algumas sugestões para a revitalização da nascente Zoonose, a fim de melhorar a qualidade ambiental local e adequar a dessedentação dos animais.

- a. Instalar um bebedouro a jusante para que os animais possam ser atendidos fora da nascente;
- b. Cercar a nascente para que os animais não tenham livre acesso a suas águas. Essa ação visa a não contaminação da água e também evitar processos erosivos por desmoronamento;
- c. Plantar árvores ao redor da nascente buscando a melhoria do ambiente sensitivo e aumento da vazão das águas;
- d. Não permitir a entrada de água de escoamento superficial oriunda das áreas a montante da nascente;
- e. Promover campanha ambiental educativa para as pessoas que vivem nas redondezas da nascente.

3.6 Revitalização das nascentes Kennedy e Pesqueiro Neves

Esta micro bacia é composta por duas nascentes ativas principais, Kennedy e Pesqueiro Neves, que se juntam formando o Córrego das Marrecas, portanto, se faz necessário que as respectivas avaliações sejam realizadas de

forma associada.

A nascente Kennedy apresenta grande quantidade de agentes poluidores e contaminantes. Trata-se de uma nascente aberta, muito assediada pelos moradores dos bairros adjacentes, com frequentes depósitos de entulhos de construção e resíduos domésticos.

Em relação à arborização, é importante destacar que a jusante da nascente do bairro Jardim Kennedy existe preservação da flora nativa em quantidade acima do que a legislação preconiza, entretanto, a montante e ao redor, a nascente está desprotegida pela deficiente mata ripária.

Contudo, o principal dano ambiental encontrado nessa nascente referente à contaminação das águas é, sem dúvida alguma, a destinação inadequada do esgotamento sanitário para esse ponto de coleta. Segundo os moradores do bairro, o recolhimento e direcionamento do esgoto para esse local foram realizados no passado, quando ainda não existiam moradias na região, a fim de solucionar deficiências existentes no centro mais antigo da cidade.

A nascente Pesqueiro Neves situa-se em propriedade particular utilizada comercialmente como pesqueiro. É resultado da junção de outras três nascentes próximas ao ponto de coleta de amostras, que foram drenadas para um ponto único de formação.

Entre as nascentes estudadas nesse projeto, a do Pesqueiro Neves é a mais limpa dentro do setor urbano de Dracena.

Embora as nascentes que abastecem a principal possuam boa qualidade de água durante boa parte do ano, é possível perceber que as vegetações nativas ripárias foram retiradas em suas maiores porções, podendo interferir na vazão e na qualidade futura de suas águas.

Ainda, essas nascentes primárias são de livre acesso e podem receber águas oriundas de escoamentos superficiais de regiões a montante.

As áreas de recargas da nascente do Pesqueiro Neves possuem livre possibilidade de infiltração das águas das chuvas, uma vez que são abertas e sem impedimentos físicos. Entretanto, tal observação poderá ficar prejudicada em função do crescimento imobiliário local, já que essas áreas a montante da nascente foram loteadas recentemente.

Fato interessante nessa micro bacia é que ela contém uma nascente considerada a de pior e outra apontada como a de melhor qualidade, a Kennedy e a do Pesqueiro Neves respectivamente. Por se juntarem e terem o mesmo ponto de saída, Ponte de Unesp, é possível verificar que as águas oriundas do Pesqueiro Neves ajudaram na depuração parcial das águas oriundas no Jardim Kennedy, tanto nas análises biológicas, como nos quesitos cor e turbidez. Outra observação pertinente é que a nascente Pesqueiro Neves apresentou ausência de Coliformes Fecais em três das quatro análises realizadas (Tabelas 3 e 4).

As piores pontuações observadas nos parâmetros ambientais macroscópicos para a nascente Kennedy foram: todos os parâmetros avaliados, exceto uso por animais, sendo-lhe atribuída a classificação "E" ou péssima,

conforme demonstrada na Tabela 5.

Baseado nessas análises e nas visitas *in loco* realizadas durante o período de estudo, o Grupo de Trabalho apresenta algumas sugestões para a revitalização da nascente Kennedy, a fim de melhorar a qualidade ambiental local.

- a. Recomposição da mata ciliar. Plantar e manter árvore nativas ao redor e a montante da nascente Kennedy, a fim de possibilitar a criação de um ambiente mais adequado. Ainda, com essa ação, será ampliada a capacidade de infiltração de água das chuvas na área de recarga, possibilitando assim sua revitalização;
- b. Cercar a nascente. Essa ação visa dificultar o depósito de entulhos e lixo domésticos nas águas e ao redor da mesma;
- c. Retirada de lixo. Limpar os arredores da nascente criando um ambiente mais saudável;
- d. Retirar o esgoto. Parar imediatamente com a deposição de esgoto sanitário doméstico na nascente do Jardim Kennedy, oriundo de outras regiões de Dracena. Essa ação pode ser realizada com a identificação dos tubos de direcionamento de esgoto e desvio para uma caixa específica a ser construída, para posterior bombeamento;
- e. Promover campanha educativa para que as pessoas não joguem lixo no local e promovam a conservação ambiental;
- f. Incentivar visitas ecológicas no novo ambiente.

A nascente Pesqueiro Neves não apresentou baixas pontuações nos parâmetros ambientais macroscópicos, sendo-lhe atribuída a classificação "B" ou boa, conforme demonstrada na Tabela 6.

Baseado nessas análises e nas visitas *in loco* realizadas durante o período de estudo, o Grupo de Trabalho apresenta algumas sugestões para a revitalização da nascente Pesqueiro Neves, a fim de melhorar a qualidade ambiental local.

- a. Aumentar o raio com vegetação ciliar nas nascentes abastecedoras;
- b. Cercar as nascentes abastecedoras para evitar a entrada de pessoas e animais;
- c. Incentivar programas de educação ambiental para crianças, jovens e adultos no local.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A nascente do Pesqueiro Neves se destacou, pois além de possuir as águas mais límpidas, em três ocasiões ainda esteve livre de Coliformes Fecais.

Nascentes Kennedy, Zoonose e APEOESP exibiram tonalidades de cor muito maiores que as outras nascentes e oscilaram durante os períodos de coletas e análises. A presença de materiais orgânicos nessas nascentes, oriundos de deposições incorretas de fezes, promove a mudança da cor e interfere na proliferação de agentes patogênicos.

As nascentes da APEOESP e Kennedy demonstraram altos valores de

turbidez nas duas primeiras avaliações e decréscimo nas duas últimas, em função da diluição ocorrida sazonalmente com o início das chuvas. Entretanto, para as nascentes da FAPIDRA, do Jardim Ipiranga e do Pesqueiro Neves, a turbidez se manteve reduzida e constante.

Em linhas gerais, as nascentes da cidade de Dracena precisam de uma atenção especial das autoridades, sobretudo no que diz respeito à retirada de lixo e construção de cercas nos locais, além de promover permanentemente e educação ambiental nas escolas e para a população em geral.

A instalação de dissipadores de energia ou construção de escadarias nas nascentes Palmeirinha e APEOESP se fazem necessárias, uma vez que o não controle desses pontos de despejos de água pluvial tem contribuído para o desenvolvimento de processos erosivos em suas margens.

De forma imediata, é necessária a paralização da deposição de esgoto na nascente Kennedy. Essa ação, associada à instalação de uma estação de bombeamento para o correto redirecionamento do esgoto à rede principal, são fundamentais para a revitalização da nascente.

Agradecimentos

A realização desse trabalho foi possível graças à PROEX, por meio dos projetos intitulados "Avaliação e plano de revitalização das nascentes urbanas de Dracena" e "Real situação das nascentes urbanas para a comunidade estudantil dracenense". Os agradecimentos estendem-se ao Eng. Agrônomo Jairo Corrêa Augusto da Silva.

REFERÊNCIAS

ARAUJO, L.E.; SOUSA, F.A.S.; MORAES NETO, J.M.; SOUTO, J.S.; REINALDO, L.R.L.R. Bacias hidrográficas e impactos ambientais. **Revista Eletrônica Qualitas**, Paraíba, v. 8, n.1, p. 1 -18, 2009.

BORDENAVE, J. E. D. **O que é Participação**. São Paulo: Brasiliense, 1994. 85 p.
FELIPPE, M. F.; MAGALHÃES JR, A. P. Impactos ambientais macroscópicos e qualidade das águas em nascentes de parques municipais em Belo Horizonte, MG. **Geografias**, Belo Horizonte, v. 8, n. 2, p. 8-23, 2012.

GARCIA, R. M.; LEAL, A. C. Planejamento ambiental e gestão das águas: Estudo aplicado à bacia hidrográfica do Ribeirão Taquaruçu, Sandovalina, São Paulo. **Fórum Ambiental da Alta Paulista**, Tupã, v. 8, n. 2, p. 86-102, 2012.

GOMES, P. M.; MELO, C.; VALE, V. S. Avaliação dos impactos ambientais em nascentes na cidade de Uberlândia-MG: análise macroscópica. **Sociedade & Natureza**, Uberlândia, v. 17, n. 32, p.103-120, 2005.

HALL, M. J. **Urban Hydrology**. London: Elsevier Applied Science, 1984.

MOURA, H. S. Habitação e produção do espaço em Belo Horizonte. In: MONTEMÓR, R. L. M. (coord). **Belo Horizonte: espaços e tempos** em construção. Belo Horizonte: CEDEPLAR: PBH, 1994. p. 51-77.

SANTOS, R. F. **Planejamento Ambiental**: teoria e prática. São Paulo: Oficina de textos, 2004.

STANDARD **methods for the examination of water and wastewater**. 16. ed. Washington: APHA, 1985.

TUCCI, C. E. M. Águas urbanas. **Estudos Avançados**, Porto Alegre, v. 22, n. 63, p. 97-112, 2008.

Imagem de Bohdan Chreptak por Pixabay.
(<https://pixabay.com/pt/photos/frango-pássaro-galinha-74176/?download>)





PARTE 3

PRODUÇÃO ANIMAL

- 14** Biologia molecular aplicada na avaliação imunológica de peixes
- 15** Saúde intestinal: uso do butirato de sódio como aditivo na alimentação de frangos de corte
- 16** Cogumelos como promotores de crescimento e seu papel no desempenho e resposta fisiológica de frangos de corte
- 17** Controle das helmintoses em animais de produção
- 18** Luteogênese e luteólise em fêmeas bovinas
- 19** Efeitos da suplementação lipídica na reprodução de fêmeas bovinas

CAPÍTULO 14

BIOLOGIA MOLECULAR APLICADA NA AVALIAÇÃO IMUNOLÓGICA DE PEIXES

Jaqueline Dalbello Biller

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Ingrid Camargo dos Reis

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Basia Schlichting Moromizato

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Flaviane Lopes

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Simone Andréia Assis Benetti

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Maria Camino Fierro Castro

Universitat of León, Facultad de C.C.
Biológicas y Ambientales, Vegazana,
León, Spain.

Resumo

A biologia molecular é a parte da ciência que estuda as propriedades e funções do DNA e RNA, suas complexidades, origens e interações, tais como as características genéticas. Explica como as informações contidas no DNA são transmitidas e permite a compreensão dos mecanismos da replicação, da transcrição, e da tradução do material genético, explorando em escalas moleculares o estudo da vida. O estudo de sequências genômicas pelas técnicas de biologia molecular permite a caracterização das espécies de animais, vegetais, bactérias, vírus, assim como a identificação de doenças genéticas, testes de paternidade, testes de DNA na área forense e a criação de indivíduos geneticamente modificados. Nas últimas décadas, o desenvolvimento de ferramentas da biologia molecular e outras novas biotecnologias permitiram o avanço de diversas tecnologias em várias áreas das ciências da vida, tais como a imunologia. O sistema imunológico é composto de células e proteínas que detectam uma ampla variedade de agentes, de vírus a parasitas e agravos, e dispara reações para a proteção do organismo. O uso de ferramentas de biologia molecular auxiliou as avaliações imunológicas.

1 INTRODUÇÃO À BIOLOGIA MOLECULAR

A biologia molecular é a parte da ciência que estuda as propriedades e funções do DNA e RNA, suas complexidades, origens e interações, tais como as características genéticas. Após a descoberta do DNA em 1953, por James Watson e Francis Crick, quando descreveram a dupla hélice do DNA, milhares de pesquisas em biologia molecular têm sido publicadas. Tais pesquisas levaram a novas descobertas e ao desenvolvimento de biotecnologias, como o mapeamento genético e o "Projeto Genoma Humano". O estudo da biologia molecular explica como as informações contidas no DNA são transmitidas. Em síntese, o fluxo das informações genéticas ocorre na seguinte sequência: DNA → RNA → PROTEÍNAS. O objetivo principal da biologia molecular é a compreensão dos mecanismos da replicação, transcrição, e tradução do material genético, explorando em escalas moleculares o estudo da vida.

2 TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR

As técnicas de biologia molecular são utilizadas para a obtenção, identificação e caracterização do material genético. Diversos métodos estão disponíveis para a obtenção de DNA e RNA, e a escolha do método depende do tipo do tecido a ser utilizado para a obtenção do ácido nucléico (composição, grau de agregação celular, entre outros), também da finalidade do experimento, da disponibilidade de equipamentos laboratoriais e dos reagentes. Segue abaixo descrição sucinta das técnicas prévias necessárias, como a extração e a purificação dos ácidos nucléicos, e os métodos mais utilizados em biologia molecular.

2.1 Extração de DNA

O estudo de sequências genômicas permite a caracterização das espécies de animais, vegetais, bactérias, vírus, assim como a identificação de doenças genéticas, testes de paternidade, testes de DNA na área forense e a criação de indivíduos geneticamente modificados. As informações úteis contidas nas sequências de bases do genoma dos organismos vivos podem, a partir do DNA, ser transcritas e traduzidas pelos RNAs, e as várias técnicas de biologia molecular nos permitem extrair, purificar e analisar esses genes. Após a extração do material genético, segue-se a purificação das moléculas alvo.

Após a coleta do material, que pode ser de várias fontes, como plantas inteiras ou partes dela, tecidos animais ou humanos, sangue, entre outros, é feita a extração do material genético utilizando procedimentos mecânicos, químicos ou ambos. Para obtenção do DNA ou RNA, é necessário separar as junções entre as células e também promover a lise das membranas celulares (membrana celular, membranas do núcleo ou mesmo de organelas) e parede celular, quando houver.

A lise mecânica é feita pela maceração do material, podendo ser realizada manualmente ou com o auxílio de equipamentos como o sonificador, a prensa francesa ou a agitação mecânica. A lise enzimática utiliza enzimas que podem digerir seletivamente a parede celular ou as membranas celulares. Esse método não é indicado para a análise de expressão gênica. Exemplos de enzimas que são usadas são a lisostatina (atua sobre parede celular de algumas bactérias), a glucanase, a quitinase, a celulase, entre outras.

Para o procedimento de lise química são usados detergentes que quebram os lipídeos da membrana celular, e são usados juntamente com sais caotrópicos com a função de desestabilizar as nucleases, como a guanidina e a ureia. Os métodos de extração feitos no próprio laboratório são chamados "*home made*" e são uma alternativa mais básica e de menor custo, mas também existem diversas empresas nacionais e internacionais que comercializam os reagentes ou os kits para extração do material genético, além de métodos e técnicas de extração mais avançadas.

2.2 Purificação de DNA

Após a extração, é necessário proceder à purificação do material genético e eliminar os ácidos nucleicos que não são do interesse do estudo. A fim de isolar o DNA, é necessário hidrolisar as moléculas de RNA com o uso de enzimas que as degradem, chamadas de RNases.

O passo seguinte é a purificação para a remoção dos resíduos que foram degradados na amostra. Esses resíduos são os componentes celulares, proteínas, RNAs e os reagentes utilizados nos passos anteriores. Existem três técnicas principais para essa função. A técnica de fenol e clorofórmio é utilizada para extração de DNA de grande peso molecular, chamado de gDNA, é um processo manual e pode ser demorado. A segunda técnica consiste no uso de colunas de centrifugação constituídas por matrizes sólidas de sílica ou outras resinas com a função de reter o ácido nucleico, sendo um método mais rápido que o anterior. A terceira técnica consiste no uso de "*beads*" magnéticos, que são pequenas esferas metálicas carregadas positivamente que se associam com o material genético, possibilitando, com o uso de ímã, fixar o conjunto "*bead-DNA*" na parede do tubo e retirar o material indesejado.

2.3 Extração e purificação de RNA

Moléculas de RNA estão presentes em todas as células e desempenham variadas funções. O RNA pode ser utilizado em muitas técnicas de biologia molecular, e sua análise fornece dados muito úteis sobre, por exemplo, a expressão gênica na qual se pode verificar se certo gene é ou não transcrito em RNA. O RNA é muito sensível à temperatura, então, a maceração é feita em nitrogênio líquido e também são usados tampões de extração contendo

cloreto de lítio e isotiocianato de guanidina para que as ribonucleases endógenas possam ser quebradas, mas as moléculas do ácido nucléico continuem estáveis. Também se utiliza fenol-clorofórmio em pH ácido, colunas de centrifugação e "*beads*" magnéticas para obtenção de moléculas de RNA. A extração e a purificação de RNAs podem ser feitas por diversas técnicas, tais como Northern Blotting, em que o alvo é analisado por eletroforese utilizando uma sonda hibridizada ao RNA.

Após os procedimentos de extração e purificação de DNA e RNA é necessário, muitas vezes, analisar quantidade de material genético purificado, a integridade das moléculas e a pureza dos produtos. Para isso, podem ser usados métodos como a fluorometria, eletroforese capilar e espectrofotometria.

2.4 Purificação de proteínas

As proteínas estão presentes em todas as células dos organismos, e seu estudo em biologia molecular tem grande utilidade tanto na área de pesquisas como em aplicações práticas. Exemplos de proteínas utilizadas são a hemoglobina, proteínas séricas como a albumina e a globulina, enzimas que auxiliam na digestão, anticorpos, entre outros.

A estrutura tridimensional das proteínas tem relação com a sua função e propriedade. Assim, para a realização do seu isolamento e purificação é necessário o uso de várias técnicas conjuntas com base nas suas propriedades como solubilidade, tamanho da molécula, carga elétrica, hidrofobicidade, especificidade estrutural (antígeno-anticorpo), função e estabilidade.

Para a extração das proteínas das células alvo, podem ser usadas técnicas de vibração ultrassônica, choque osmótico e macerações. Esse material bruto é chamado de extrato ou homogenato. Na primeira etapa são separadas por tamanho e peso molecular, utilizando repetidas centrifugações com velocidades e tempos específicos. A característica de solubilidade é utilizada para precipitação em função do pH, sendo que, no ponto isoelétrico, a solubilidade é reduzida. Por fim, diversas técnicas podem ser utilizadas para a separação de proteínas específicas, tais como a eletroforese, que irá separar as proteínas por tamanho e cargas elétricas. A coloração pode ser realizada com azul brilhante de coomassie ou nitrato de prata. A cromatografia pode ser por exclusão, troca iônica ou por afinidade.

2.5 Biblioteca de cDNA

A biblioteca de DNA complementar (cDNA) é uma alternativa para a biblioteca genômica, na qual um DNA complementar é formado a partir das informações contidas no mRNA, que apresentam apenas sequência codificadora de genes funcionais, sem a presença de introns (que são

sequências de nucleotídeos transcritos, mas não traduzidos). A síntese de cDNA é catalisada pela enzima transcriptase reversa, que sintetiza a fita simples de DNA a partir do mRNA que tenha uma cauda de poli (A) (sequência de várias bases adeninas) na extremidade 3'. Em seguida, é produzida a fita dupla do cDNA com a utilização da enzima DNA polimerase. A coleção de clones produzida pelos mRNA é chamada Biblioteca de cDNA. Essa biblioteca pode ser clonada, pela inserção em um vetor, que pode ser um plasmídeo ou um vírus.

2.6 Reação em cadeia da polimerase (PCR)

A reação de polimerização em cadeia (PCR) é uma técnica rápida que permite a amplificação de regiões do genoma a partir de mínimas quantidades de DNA/RNA, mesmo que degradado. Em vista disso, torna-se uma metodologia de escolha para a utilização em tecido fixado em formalina e incluído em blocos de parafina, além de outros materiais de arquivo e de fontes escassas de DNA/RNA. A técnica de PCR convencional detecta qualitativamente o DNA/RNA, e o PCR em tempo real (qRT-PCR) detecta quantitativamente o DNA/RNA.

A qRT-PCR é um método de custo relativamente baixo e não requer análises fluorescentes específicas. Além disso, vários genes de um conjunto de experimentos podem ser avaliados em uma única execução. Assim, além de fornecer um perfil comparativo para a expressão de um gene de interesse, esse método também pode fornecer informações sobre a abundância relativa de diferentes espécies de mRNA/DNA. O PCR em tempo real revolucionou a capacidade de medir as concentrações de DNA ou RNA, ultrapassando as limitações da PCR tradicional, permitindo a quantificação rápida e eficiente de produto de PCR durante cada ciclo de amplificação.

2.7 Eletroforese

A técnica de eletroforese é usada para descrever a migração de uma partícula carregada sob influência de um campo elétrico. Permite a separação dos diferentes tipos de proteínas séricas ou plasmáticas, determinando as proporções relativas, sob condições de corrente elétrica constantes. A força de deslocamento de uma partícula é resultado da carga efetiva, da molaridade do tampão e da resistência do meio usado como suporte (agar, acetato, gel capilar). Como as proteínas possuem cargas positivas e negativas, a mobilidade eletroforética é diretamente proporcional à carga da partícula, e é inversamente proporcional à viscosidade do meio, sendo assim uma técnica laboratorial simples que fraciona proteínas presentes em diversos tipos de fluido, levando em consideração suas cargas elétricas e/ou seu peso molecular. O resultado da eletroforese pode ser comparado com os padrões de peso moleculares comerciais, e, dessa forma, é possível determinar os

pesos moleculares das proteínas contidas na amostra avaliada.

2.8 Western Blotting

A técnica de Western Blotting identifica proteínas específicas através do uso de anticorpos específicos. Tal técnica requer previamente a separação das proteínas por peso molecular através do uso da eletroforese. Em seguida, as proteínas separadas no gel são transferidas para uma membrana de nitrocelulose e a detecção da proteína de interesse ocorre pela adição de um anticorpo específico à proteína de interesse. Foi criada na década de 70, e possibilitou que proteínas separadas por eletroforese fossem detectadas, caracterizadas e quantificadas. O método determinou grande avanço no estudo de diversas enfermidades animais, principalmente por se tratar de um exame de alta sensibilidade e especificidade, além de ser um método de rápida execução, precisão e ser acessível aos laboratórios de pesquisa e de serviço de rotina diagnóstica. A técnica de Western Blotting também pode ser denominada *protein immunoblot*, e consiste na detecção de proteínas específicas em amostras de lisados celulares ou de tecidos.

2.9 Sequenciamento genético

O sequenciamento genético objetiva transcrever a ordem exata dos nucleotídeos em uma cadeia de DNA ou RNA. São utilizados vários procedimentos, que foram modificados e melhorados com o passar do tempo para otimizar e tornar mais rápidos esses processos. O sequenciamento pode ser realizado em material genético de organismos procariontes e também eucariontes complexos, chegando às sequências de genomas inteiros.

Na década de 70, Alan Maxam e Walter Gilbert, e depois Alan Coulson e Frederick Sanger desenvolveram métodos de separação dos nucleotídeos pelo tamanho utilizando a eletroforese em gel. Os primeiros utilizaram a clivagem química da molécula e marcavam a terminação 5' com agentes radioativos como ^{32}P e ^{35}S . Sanger e Coulson sintetizavam a cadeia de nucleotídeos com uso de DNA polimerase e didesoxinucleotídeos (ddNTPs) que, quando adicionados, bloqueiam a adição de novos nucleotídeos. Passaram a utilizar marcador fluorescente nos ddNTPs para facilitar a visualização e, posteriormente, foi usada uma cor para cada nucleotídeo específico, facilitando a leitura e possibilitando maior número de leituras diferentes em um mesmo processo. Entretanto, essa técnica tem a capacidade de sequenciar poucos genes por vez.

A partir de 2005, surgiram as técnicas de sequenciamento de nova geração (NGS), do inglês *Next Generation Sequencing*), que utilizam equipamentos e procedimentos diferentes e podem processar um número enorme de fragmentos de DNA por vez (até bilhões).

3 BASES MOLECULARES DO SISTEMA IMUNE DE PEIXES

O sistema imunológico é composto por células e proteínas que detectam uma ampla variedade de agentes, de vírus a parasitas e agravos, para proteger o animal contra doenças. É dividido em inato e adquirido. O sistema inato defende o hospedeiro da infecção, invasão ou agravos por outros organismos de uma maneira não específica. Isso significa que as células do sistema inato reconhecem e respondem aos patógenos de maneira genérica. É considerada a base da defesa imune em invertebrados e vertebrados inferiores. Desempenha uma função de instrução para a resposta imune adquirida e na homeostase e, portanto, é igualmente importante em vertebrados superiores. Por sua vez, o sistema adquirido é composto de células especializadas que ele processa para eliminar ou prevenir desafios patogênicos e para promover memória imune. Desempenha função vital na proteção contra infecções, gerando células de memória e receptores específicos solúveis e ligados à membrana que permitem a eliminação rápida e eficiente dos patógenos específicos.

3.1 Sistema inato

Os organismos multicelulares necessitam de mecanismos de defesa que atuam contra infecções microbianas na eliminação de agentes invasores e de células danificadas. Tal mecanismo é conhecido como imunidade inata ou imunidade inespecífica. A imunidade inata é referida como a primeira linha de defesa do hospedeiro contra infecções. Bloqueia a invasão de microrganismos através de barreiras epiteliais, destruindo os invasores que entram no organismo, sendo capaz de limitar e conter contaminações, conferindo-lhe proteção contra infecções ao longo desse período. Contrariamente, a resposta imune adaptativa necessita, para reagir a um microrganismo não identificado, ser ativada anteriormente pelo antígeno e, posteriormente desencadear as etapas de proliferação e diferenciação celular, portanto, é lenta.

A primeira barreira contra infecções encontrada em peixes é a sua epiderme, seguido das superfícies mucosas da pele (que são produtoras de mucina, uma glicoproteína responsável pela formação do muco), formada por células epiteliais aplainadas, que se encontram organizadas em subcamadas que contêm células produtoras de muco, suas escamas (dependendo das espécies) e as brânquias (ELLIS *et al.*, 2001).

As células de defesa exercem funções essenciais no sistema imune inato, pois elas estão localizadas em diferentes tecidos e desempenham diferentes funções no hospedeiro. As células de defesa são agrupadas em duas grandes categorias, as células linfóides (cuja maioria são mediadoras de respostas imunes adaptativas) e as células não linfóides, também chamadas de células mielóides. Estão envolvidas na eliminação de células ou partículas estranhas

ao organismo pelos mecanismos de inflamação ou pela citotoxicidade (DALMO *et al.*, 1996; NEUMANN *et al.*, 2001).

Os componentes humorais podem ser classificados de acordo com as suas especificidades de reconhecimento de padrões ou funções efetoras. A transferrina atua como um inibidor de crescimento de bactérias quando o ferro disponível essencial é convertido para a manutenção bacteriana. Bactérias patogênicas podem produzir agentes quelantes para superar esse mecanismo de defesa (LANGSTON; JOHNSTONE; ELLI, 2001). A transferrina também é uma proteína de fase aguda produzida durante a resposta inflamatória para remover o ferro do tecido danificado, além de ser um ativador de macrófagos de peixes (STAFFORD; BELOSEVIC, 2003).

Várias enzimas líticas, agindo individualmente ou em cascata, são importantes elementos de defesa, especialmente contra bactérias. Essas são hidrolases (a lisozima e a quitinase), as catepsinas, a via lítica do sistema complemento e outras enzimas bacteriolíticas/hemolíticas encontradas em tecidos e fluidos corporais de peixes (ALEXANDER; INGRAM, 1992). A lisozima é um parâmetro importante na defesa imunológica de invertebrados e vertebrados. A lisozima é bactericida, e embora seja principalmente associada à defesa contra bactérias Gram positivas, as bactérias Gram negativas também podem ser lisadas por esta enzima. A lisozima também é conhecida por ativar o sistema complemento e os fagócitos. Está presente no muco, no tecido linfóide, no plasma e em outros fluidos corporais da maioria das espécies de peixes (YOUSIF *et al.*, 1991).

Os receptores de reconhecimento de padrões são usados pelo sistema imune inato para detectar microrganismos e células danificadas. São expressos por fagócitos, células dendríticas e muitos outros tipos de células, e estão localizados em diferentes compartimentos celulares, nos quais os microrganismos ou seus produtos podem ser encontrados. Esses receptores estão presentes na superfície celular, onde detectam microrganismos extracelulares, em vesículas (endossomas) nas quais os produtos microbianos são ingeridos; e receptores no citosol, onde funcionam como sensores de microrganismos citoplasmáticos e produtos de dano celular. Esses receptores para *Pathogen-associated molecular pattern* (PAMPs) e *Damage-associated molecular pattern* (DAMPs) pertencem a várias famílias de proteínas.

3.2 Sistema adquirido

Os peixes são organismos heterogêneos que apresentam uma diversificação de características que permitem evolução. São vertebrados que demonstram melhor a união das respostas imunológicas inata e adaptativa. O sistema específico apareceu há 450 milhões de anos, depois do sistema inato, em todos os vertebrados, com exceção dos Agnathas que são peixes sem mandíbula (TORT *et al.*, 2003).

Os peixes são organismos aquáticos e estão frequentemente expostos a diversos microorganismos, estimulando diferentes mecanismos de defesa. O sistema imune dos peixes é formado por tecidos linfóides que aparecem durante o desenvolvimento larval, sendo eles: timo, rim cranial, baço, e tecidos linfóides associados à mucosa. Esses órgãos têm a função de produzir moléculas capazes de proteger o indivíduo contra microorganismos infecciosos, danos no tecido e doenças. Junto com a imunidade inata, há a formação de respostas contra infecções chamada de imunidade adaptativa ou adquirida (ABBAS *et al.*, 2020).

A principal característica do sistema imune adquirido é a especificidade para distinguir e gerar a memória imunológica. Ele é capaz de reconhecer e gerar respostas imunológicas contra diversos microorganismos e moléculas. A imunidade adquirida é constituída por linfócitos T (TCR-célula T receptor) e linfócito B (BCR-célula B receptor), sendo responsáveis pela apresentação de antígenos e formação de anticorpos, respectivamente (BILLER-TAKAHASHI; URBINATI, 2014).

Os linfócitos T são produzidos principalmente pelo timo e, como o linfócito B, ao entrar em contato com o agente invasor, podem se diferenciar em células auxiliares, citotóxicas e de memória, sendo as células de memória responsáveis em responder à uma segunda invasão. Elas têm papel fundamental nas respostas específicas por atuarem estimulando macrófagos na produção de espécies reativas de oxigênio. Os linfócitos B são produzidos principalmente pelo rim cranial, e eles produzem até 50% de todas as células sanguíneas, entretanto, podem variar de acordo com a espécie de peixe (TIZARD, 2002).

Os anticorpos são presentes em todo o organismo como no sistema digestório, brânquias e pele, lugares específicos para evitar a adesão de bactérias na superfície celular. Alguns sistemas dependem dos anticorpos para serem ativados, tais como o sistema de complemento, que é ativado pela via clássica e leva à formação de poros na parede celular de patógenos, gerando danos nas membranas (ELLIS, 2001).

Na presença de um antígeno, o corpo reconhece a substância estranha e processa, através do sistema inato, por células como macrófagos, células dendríticas e linfócitos B para desencadear a resposta imunológica e depois a resposta da memória. Após o processamento da substância em moléculas menores, será apresentado ao linfócito T responsáveis pelo reconhecimento do antígeno, na presença de um componente humoral específico, chamado de complexo de histocompatibilidade. Depois do reconhecimento feito, o linfócito T secreta citocinas, que têm a função de ativar outras células, como o linfócito B, os linfócitos citotóxicos, os macrófagos, etc, com a finalidade de eliminar o microorganismo (BILLER-TAKAHASHI; URBINATI, 2014).

As citocinas são moléculas essenciais para a comunicação do sistema imune com as respostas de defesa, e elas são divididas em famílias, tais

como interferon (IFN), interleucinas (IL), quimiocinas, fatores de estimulação de colônias (CFS) e fator de necrose tumoral (TNF). As citocinas estão presentes nos mecanismos de defesa contra invasão por microrganismos, e são amplamente liberadas durante a inflamação pelo tecido lesionado. As citocinas também fazem parte do processo de hematopoese, pois fazem todo o controle celular. Quando os anticorpos reconhecem os microrganismos específicos, conectam-se e ativam a fagocitose. A fagocitose também é um dos mecanismos do sistema imune inato, mas é fundamental para o início dos processos do sistema imune adquirido (BILLER-TAKAHASHI, 2014; SAVAN; IGAWA; SAKAI, 2003).

4 ESTUDOS APLICADOS: UTILIZAÇÃO DE FERRAMENTAS DA BIOLOGIA MOLECULAR PARA A AVALIAÇÃO DO SISTEMA IMUNE EM PEIXES

4.1 Resposta inata: aplicações

O sistema imune inato é a primeira linha de defesa contra patógenos, e precede a resposta adaptativa. Apresenta um caráter de instrução de como a defesa será instalada e pode determinar a natureza da resposta adaptativa, bem como ser essencial para a manutenção da homeostase fisiológica. Os componentes do sistema de defesa têm sido estudados pela avaliação do transcriptoma desses genes, usando tecnologias como o qRT-PCR e pelo sequenciamento NGS, e que fornecem novos conhecimentos sobre respostas imunes (SPAINK *et al.*, 2014).

As respostas inatas, frente à infecção bacteriana, podem ser avaliadas pelas ferramentas ômicas, como na determinação de genes que são expressos diferencialmente entre grupos de controle e desafiados. No estudo com salmão (*Salmo salar*) foi observado que o desafio com LPS promoveu a diminuição da expressão dos genes Mn-SOD, GPx1, HSP27 e HSP70, demonstrando a ação sobre genes do sistema antioxidantes e relacionados ao estresse (STENBERG *et al.*, 2019).

Outro trabalho interessante utilizou ferramentas ômicas, e concluiu que a exposição precoce por infecção por *Aeromonas salmonicida* em zebra-fish pode estimular a expressão do gene mpx e a diminuição de tfa e genes pró-inflamatórios ptgs2a, indicando que essas alterações no início da vida podem promover consequências no estado de saúde dos peixes na vida adulta (CORNET *et al.*, 2020).

A análise da expressão de genes do sistema imune de peixes também tem sido tema de diversos estudos, uma vez que essas substâncias são importantes reguladores da defesa do sistema imune e seu profundo conhecimento permite o desenvolvimento de protocolos alimentares, bem como o uso de suplementos dietéticos, componentes imunoestimulantes e até para a avaliação de vacinas para aquicultura. Por exemplo, juvenis de garoupas híbridas (*Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *Epinephelus lanceolatus*♂)

foram alimentadas com proteína de arroz, e foi observada uma diminuição da expressão dos genes TLR22, MyD88, TNF- α , IL 2, IL-6, IL-8 e TGF- β , sugerindo que esse protocolo alimentar pode suprimir a ocorrência de inflamação (HE et al., 2021). Biswas *et al.* (2012) avaliaram os efeitos de derivados de leveduras contendo nucleotídeos e β -glucano sobre a expressão de genes que codificam as IL-1 β , IL-10, IL-1, TNF- α , quimiocinas e interferon (IFN)- α e γ em *Cyprinus carpio* L e observaram que esse imunoestimulante aumentou a expressão dos genes das citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-12, TNF- α , e quimiocinas) e diminuiu a anti-inflamatória (IL-10).

Estudos semelhantes foram conduzidos e o transcriptoma do fator C3 do sistema complemento, e das proteínas de fase aguda da inflamação (hepcidina, precerebelina e transferrina) em *Oncorhynchus mykiss*, submetidas ao banho com 100 μ ml⁻¹ de β -glucano, apresentaram aumento após 24 horas, por outro lado, banhos com altas doses, tais como 1000 μ ml⁻¹ de β -glucano promoveram uma diminuição da expressão dos genes estudados (CHETTRI; KANIA; BUCHMANN, 2013). Esses e outros estudos indicam os imunoestimulantes como uma alternativa ao uso de quimioterápicos na aquicultura, e a análise do transcriptoma é uma ferramenta que pode influenciar a interpretação das respostas obtidas nos experimentos.

4.2 Resposta adquirida: aplicações

Como em mamíferos, a resposta imune específica requer o reconhecimento de elementos próprios e estranhos (antígenos), e é caracterizada pela especificidade do antígeno e o desenvolvimento de memória imunológica. Essa resposta específica é composta por dois elementos principais: a resposta humoral, com a produção de anticorpos que inibem a adesão e a invasão das células por bactérias, neutralizam as toxinas bacterianas e ativam o complemento, mediada por linfócitos, e a resposta celular, mediada por linfócitos T (ELLIS, 1999).

A aplicação mais importante do conhecimento do funcionamento do sistema imunológico específico é o desenvolvimento de vacinas para o controle de doenças infecciosas. A vacinação é uma alternativa real e uma necessidade ligada ao desenvolvimento da aquicultura. As técnicas de imunoprofilaxia, como a vacinação e a imunoestimulação, são técnicas com grandes perspectivas na aquicultura e estão substituindo os métodos tradicionais baseados na quimioterapia. No entanto, ainda existem algumas doenças contra as quais não existem vacinas eficazes, como as causadas por vírus e outros patógenos intracelulares. Especialmente, algumas bactérias que são patógenos intracelulares facultativos parecem ser capazes de escapar da ação de agentes quimioterápicos ou de vacinas e, em certas circunstâncias, como em condições de estresse, os peixes portadores sofrem e transmitem a doença (EVELYN, 1997).

Os imunoestimulantes podem, por si próprios, ativar mecanismos de defesa inespecíficos ou, quando administrados em conjunto com vacinas, ativar defesas inespecíficas e elevar a resposta específica. Esses métodos de controle de doenças permitem atingir maior produção com menor impacto ambiental e melhor qualidade de peixes para consumo humano e, acima de tudo, evitar o aparecimento de cepas resistentes a antibióticos. Além disso, são um método de escolha para doenças virais e bacterianas para as quais não existem vacinas eficazes (AUSTIN; AUSTIN, 1999).

Os primeiros ensaios de vacinação registrados datam de 1938, quando Snieszko *et al.* (1938) publicaram um artigo sobre a hidropisia infecciosa em carpas causada por *Aeromonas punctata*. Eles mostraram que os peixes desenvolvem imunidade protetora após a injeção de bactérias mortas. Wilhelm Schäperclaus e seu grupo de pesquisa desenvolveram métodos para a vacinação comercial de peixes por injeção i.p. (intraperitoneal), que favoreceu a cultura da carpa na Europa Central (SCHÄPERCLAUS, 1972).

Outros tipos de vacinas são as administradas por via oral, sendo a primeira delas publicada por Duff (1942). Foi demonstrado que a alimentação com uma dieta contendo bactérias *Aeromonas salmonicida* mortas por clorofórmio induz à proteção contra furunculose após a exposição por injeção ou após o contato com peixes clinicamente doentes. A maioria das vacinas foi desenvolvida contra doenças bacterianas e sua eficácia em peixes está bem documentada na literatura. No entanto, as infecções causadas por microrganismos intracelulares são desafiadoras, incluindo vírus e bactérias intracelulares.

Em 1951, as vacinas contra os vírus foram testadas pela primeira vez, Goncharov (1951) descreveu, em seu trabalho, a imunização eficaz por injeção i.p. de vírus mortos com formalina isolados de carpa krasnucha (viremia de primavera da carpa). Vacinas atenuadas (aqueles que previamente enfraqueceram os microorganismos) e / ou vacinas de DNA (um novo tipo de vacina) parecem ser uma solução possível para infecções virais.

A vacinação com DNA apareceu pela primeira vez em 1992, quando ratos foram injetados intradermicamente com um plasmídeo de DNA que codifica o hormônio do crescimento humano e descobriu-se que geravam anticorpos específicos (TANG *et al.*, 1992). Cinco anos depois, apareceu o primeiro estudo em peixes com vacinas de DNA (ANDERSON, 1996). As construções de plasmídeo que codificam a glicoproteína viral provaram ser extremamente eficientes na proteção de peixes contra rabdovírus (KURATH *et al.*, 2007) e várias vacinas de DNA estão atualmente licenciadas.

Em 2005, a vacina APEX-IHN (Novartis / Elanco) para proteger o salmão do Atlântico contra o vírus da necrose hematopoética infecciosa (IHNV) foi licenciada para uso comercial na aquicultura em todo o mundo, e, em 2017, a CLYNAV (Elanco), uma vacina de DNA que codifica poliproteínas contra a infecção pelo vírus da doença do pâncreas do salmão (SPDV) no salmão do

Atlântico, *Salmo salar*, recebeu autorização de introdução no mercado da Comissão Europeia, através da Agência Europeia de Medicamentos (EMA) para utilização na União Europeia.

A maioria das vacinas de DNA atualmente em estudo tem como objetivo o combate a doenças virais ou parasitas intracelulares, já que as vacinas convencionais têm sido eficientes para doenças bacterianas e podem ser geradas de forma simples e econômica a partir de culturas de bactérias inteiras inativadas (EVENSEN; LEONG, 2013). Além disso, os genomas de uma grande variedade de espécies de peixes estão agora disponíveis e a redução dos custos de sequenciamento de todo o genoma de diferentes espécies de peixes, e os genomas de patógenos específicos permitem o desenho de vacinas visando diversas espécies.

As sequências de proteínas do patógeno são examinadas, e as vacinas candidatas em potencial são examinadas. No entanto, modificações genéticas específicas permitem melhor controle e segurança do que mutações aleatórias em vacinas de bactérias vivas (FREY, 2007). Hoje, tecnologias de edição de genoma, como CRISPR / Cas9 (CRISPR significa repetições palíndromicas curtas agrupadas regularmente espaçadas e Cas9 significa proteína 9 associada a CRISPR) podem ser usadas para fazer alterações específicas em um genoma e oferece novas possibilidades. Já existem estudos em peixes com essa técnica para aumentar a imunidade e a resistência a doenças por meio da edição do genoma (CHAKRAPANI *et al.*, 2016).

O desenvolvimento de vacinas de RNA também deve ser levado em consideração, uma vez que podem apresentar resultados promissores na aquicultura e gerar menos problemas com relação à sua segurança biológica do que as vacinas de DNA. No entanto, a edição de genes por meio do CRISPR é uma ferramenta cujo potencial ainda não foi desenvolvido e que pode mudar o progresso das vacinas (PARDI *et al.*, 2018).

A eficácia das vacinas depende, em grande medida, da dose e da via de administração. A vacinação por imersão ou banho é outro tipo de vacinação baseada na absorção de antígenos pelas brânquias, pela pele e pela linha lateral (HORNE *et al.*, 1982). Atualmente, a maioria das vacinas para peixes é administrada por injeção, que é o método mais eficaz em comparação com as vias oral e de imersão. Por outro lado, a administração de vacinas com nanopartículas tornou-se um novo campo de estudo e de aplicação muito importante.

As nanopartículas têm potencial como veículos de administração de antígenos vacinais e também permitem a liberação prolongada de antígenos, reduzindo assim a necessidade de vacinações de reforço. As nanopartículas estabilizam os antígenos da vacina e atuam como adjuvantes (GREGORY; TITBALL; WILLIAMSON, 2013). O conhecimento do sistema imunológico, do genoma e do uso de novas técnicas está abrindo novas possibilidades nunca antes utilizadas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de técnicas de biologia molecular promoveu grande avanço para a pesquisa científica e para a vida das pessoas. O estudo para a obtenção, a identificação e a caracterização do material genético aumentou a qualidade e aplicabilidades das pesquisas. A aplicação de técnicas de biologia molecular permitiu grandes avanços para imunologia, permitindo mais efetividade nos estudos com avaliações imunológicas.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI S. **Basic Immunology. Functions and disorders of the immune system**. 6. ed. Philadelphia: Saunders, 2020. 323 p.
- ALEXANDER, J. B.; INGRAM, G. A. Non-specific non-cellular defense mechanisms of fish. **Annual Review of Fish Diseases**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 249-279, 1992.
- ANDERSON, D. P. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: Applications to aquaculture. **Annual Review of Fish Diseases**, [s. l.], v. 2, p. 281-307, 1992.
- AUSTIN, B. A.; AUSTIN, D. A. Pathogenicity. In: Giacomo Zaccone, C. Perrière, A. Mathis, B.G. Kapoor. **Bacterial Fish Pathogens: Disease of farmed and Wild Fish**. Chichester, UK: Praxis Publishing Ltd, 1999. p. 243-280.
- BILLER-TAKAHASHI, J. D.; TAKAHASHI, L. S.; PILARSHI, F.; SEBASTIÃO, F. A. URBINATI, E. C. Serum bactericidal activity as indicator of innate immunity in pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 65, n. 6, p. 1745-1751, 2014.
- BILLER-TAKAHASHI, J. D.; URBINATI, E. C. Fish immunology: the modification and manipulation of the innate immune system: Brazilian studies. **Brazilian Journal of Biology**, v. 86, p. 75-87, 2014.
- BISWAS, G.; KORENAGA, H.; TAKAYAMA, H.; KONO, T.; SHIMOKAWA, H.; SAKAI, M. Cytokine responses in the common carp, *Cyprinus carpio* L. treated with baker's yeast extract. **Aquaculture Research**, [s. l.], v. 356-357, p. 169-175, 2012.
- CHAKRAPANI, V.; PATRA S.K.; PANDA, R. P.; RASAL, K. D.; JAYASANKAR, P.; BARMAN, H. K. Establishing targeted carp TLR22 gene disruption via homologous recombination using CRISPR/Cas9. **Developmental & Comparative Immunology**, [s. l.], v. 61, p. 242-247, 2016.
- CHETTRI, J. K.; KANIA, P. W.; BUCHMANN, K. Immunomodulation of rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*) fry by bath exposure to a β -glucan from *Euglena gracilis*. **Aquaculture Research**, [s. l.], v. 44, p. 1407-1415, 2013.
- CORNET, V.; DOUXFILS, J.; MANDIKI, S. N. M.; KESTEMONT, P. Early-life infection with a bacterial pathogen increases expression levels of innate immunity related genes during adulthood in zebrafish. **Developmental and Comparative Immunology**, [s. l.], v. 108, n. 103672, p. 1-11, 2020.
- DALMO, R. A.; INGEBRIGSTEN, R. K.; SVEINBJORNSSON, B.; SELJELID, R. Accumulation of immunomodulatory laminarin (beta (1,3) - D-glucan) in the heart,

spleen and kidney of Atlantic cod, *Gadus morhua*. **Journal of Fish Diseases**, [s. l.], v. 19, n. 2, p. 129-136, 1996.

DUFF, D. C. B. The oral immunization of trout against *Bacterium salmonicida*. **The Journal of Immunology**, [s. l.], v. 44, n. 1, p. 87-94, 1942.

ELLIS, A. E. Fish host's innate defense mechanism against viruses and bacteria. **Developmental and Comparative Immunology**, [s. l.], v. 25, n. 8-9, p. 827-839, 2001.

EVELYN, T. P. A historical review of fish vaccinology. **Developments in Biological Standardization**, [s. l.], v. 90, p. 3-12, 1997.

EVENSEN, Ø.; LEONG, J. A. C. DNA vaccines against viral diseases of farmed fish. **Fish Shellfish Immunology**, [s. l.], v. 35, n. 6, p. 1751-1758, 2013.

FREY, J. Biological safety concepts of genetically modified live bacterial vaccines. **Vaccine**, [s. l.], v. 25, n. 30, p. 5598-5605, 2007.

GONCHAROV, G. D. Immunization of fish [in Russian]. **Doklady Akademii Nauk SSSR**, [s. l.], v. 78, p. 585-586, 1951.

GREGORY, A. E.; TITBALL, R.; WILLIAMSON, D. Vaccine delivery using nanoparticles. **Cellular and Infection Microbiology**, v. 3, p. 1-13, 2013.

HE, Y.; GUO, X.; TAN, B.; DONG, X.; YANG, Q.; LIU, H.; ZHANG, S.; CHI, S. Replacing fish meal with fermented rice protein in diets for hybrid groupers (*Epinephelus Fuscoguttatus*♀ × *Epinephelus Lanceolatus*♂): Effects on growth, digestive and absorption capacities, inflammatory-related gene expression, and intestinal microbiota. **Aquaculture Reports**, [s. l.], v. 19, p. 1-10, 2021.

HORNE, M. T.; TATNER, M.; MCDERMONT S.; AGIUS, C.; WARD. P. Vaccination of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, at low temperatures and the long persistence of protection. **Journal of Fish Diseases**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 343-345, 1982.

KURATH, G.; PURCELL, M. K.; GARVER, K. A. Fish rhabdovirus models for understanding host response to DNA vaccines, CAB Rev. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resource**, [s. l.], v. 12, p. 2-12, 2007.

YOUSIF, A. N.; ALBRIGHT, L. J.; EVELYN, T. P. T. Occurrence of lysozyme in the eggs of coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. **Diseases of Aquatic Organisms**, [s. l.], v. 10, p. 45-49, 1991.

LANGSTON, A. L.; JOHNSTONE, R.; ELLI, A. R. The kinetics of the hypoferremic response and changes in the levels of complement complementary activity in diploid and triploid Atlantic salmon, after injection of lipopolysaccharide. **Fish and Shellfish Immunology**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 333-345, 2001.

NEUMANN, N. F.; STAFFORD, J. L.; BARREDA, D.; AINSWORTH, A. J.; BELOSEVIC, M. Antimicrobial mechanisms of fish phagocytes and their role in host defense. **Developmental and Comparative Immunology**, [s. l.], v. 25, n. 8-9, p. 807-825, 2001.

PARDI, N.; HOGAN, M. J.; PORTER, F. W.; WEISSMAN, D. mRNA vaccines, a new era

in vaccinology. **Nature Reviews Drug Discovery**, [s. l.], v. 17, p. 261-279, 2018.

SAVAN, R.; IGAWA, D.; SAKAI, M. Cloning, characterization and expression analysis of interleukin-10 from the common carp, *Cyprinus carpio* L. **European Journal of Biochemistry**, [s. l.], v. 270, n. 23, p. 4647-4654, 2003.

SCHÄPERCLAUS, W. Orale und parenterale active Immunisierung von Karpfen gegen *Aeromonas punctata*. **Archiv für Experimentelle Veterinärmedizin**, Hirzel, v. 26, p. 863e74, 1972.

SNIESZKO, S.; PIOTROWSKA, W.; KOCYLOWSKI, B.; MAREK, K. Mémoires de l'Institut d'Ichthyobiologie et Pisciculture de la Station de Pisciculture Expérimentale à Mydlniki de l'Université Jagiellonienne à Cracovie. **Vaccines for fish in aquaculture**, v.1, n.38, 1938.

SPAINK, H. P.; JANSEN, H. J.; DIRKS, R. P. Advances in genomics of bony fish. **Briefings in Functional Genomics**, Oxford, v. 13, n. 2, p. 144-156, 2014.

STAFFORD, J. L.; BELOSEVIC, M. Transferrin and the innate immune response of fish: identification of a new macrophage activation mechanism. **Developmental and Comparative Immunology**, [s. l.], v. 27, n. 6-7, p. 539-554, 2003.

STENBERG, O. K.; HOLEN, E.; PIEMONTESE, L.; LILAND, N. S.; LOCK, E.; ESPE, M.; BELGHIT, I. Effect of dietary replacement of fish meal with insect meal on in vitro bacterial and viral induced gene response in Atlantic salmon (*Salmo salar*) head kidney leukocytes. **Fish and Shellfish Immunology**, [s. l.], v. 91, p. 223-232, 2019.

TANG, D.; DEVIT, M.; JOHNSTON, S. A. Genetic immunization is a simple method for eliciting an immune response. **Nature**, [s. l.], v. 356, n. 6365, p. 152-154, 1992.

TIZARD, I. R. Imunologia veterinária: uma introdução. **Pesquisa veterinária Brasileira**, 6. ed. São Paulo: Editora Roca, 2002. p. 532.

TORT, L.; BALASCH, J. C.; MACHENZIE, S. Fish immune system. A crossroads between innate and adaptative responses. **Inmunología**, [s. l.], v. 22, n. 3, p. 277-286, 2003.



CAPÍTULO 15

SAÚDE INTESTINAL: USO DE BUTIRATO DE SÓDIO COMO ADITIVO NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

Valquíria Cação Cruz-Polycarpo

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Bárbara Fernanda da Silva Barbosa

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Gabrieli Andressa de Lima

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Robert Guaracy Aparecido Cardoso Araújo

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Gustavo do Valle Polycarpo

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Jaqueline Dalbello Biller

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Resumo

Com a finalidade de controlar patógenos prejudiciais aos processos de digestão e absorção dos nutrientes, os antibióticos têm sido adicionados nas dietas dos animais, gerando melhorias nas variáveis zootécnicas como ganho de peso, conversão alimentar, consumo de ração e eficiência produtiva. Porém, diante da preocupação dos consumidores em relação ao uso de antibióticos na alimentação animal, bem como com a qualidade dos produtos, exigindo alimentos mais saudáveis e com ausência de resíduos químicos, torna-se necessária a busca por aditivos alternativos aos antibióticos que auxiliem, por meio de mecanismos específicos, a superar tais desafios sanitários. Assim, pesquisas permitem demonstrar que o ácido butírico é capaz de melhorar a microbiota intestinal, prevenindo efeitos negativos na estrutura como a diminuição das vilosidades do intestino, restringindo o aproveitamento de nutrientes via dieta. Dessa forma, o uso de aditivos na criação de frangos de corte torna-se interessante para a melhora da digestão e absorção de nutrientes, e, conseqüentemente, para o desempenho dos animais. Todavia, o uso desse ácido na sua forma protegida vem sendo bastante explorada, pois este, em sua forma livre, é rapidamente absorvido nos primeiros segmentos do trato gastrointestinal (TGI), chegando em quantidades insuficientes aos intestinos delgado (ID) e grosso. Por isso, o butirato de sódio (BS) torna-se uma alternativa viável para que o ácido butírico passe inteiro pela primeira parte do TGI, e somente se dissocie por completo quando chegar ao ID. Ao atingir o ID, o BS, que, por sua vez, favorece o desenvolvimento dos microrganismos benéficos, melhora a digestão e a absorção de nutrientes, potencializa a ação das enzimas digestivas, melhora o sistema imune e torna o animal mais resistente à infecções e doenças do TGI, como salmonelose e coccidiose, que possam vir a acometê-lo. O BS vem sendo bastante estudado, porém, ainda não há um consenso sobre a melhor dose a ser utilizada nas rações animais. Por ser um importante aditivo, é necessária a realização de mais pesquisas visando afunilar os resultados encontrados. Este capítulo abordará o BS na nutrição de frangos de corte, sua importância na saúde e integridade intestinal e seus benefícios promovidos no sistema imune.

1 INTRODUÇÃO

A manutenção da saúde intestinal de frangos de corte criados em programas livres de antibióticos, atualmente, é um desafio enfrentado pelos nutricionistas, considerando que uma boa sanidade do trato gastrointestinal (TGI) está associada ao crescimento e ao desenvolvimento das aves. Quando suas funções intestinais são afetadas, a digestão e a absorção de nutrientes são prejudicadas, comprometendo a sua saúde e o seu desempenho zootécnico (SUGIHARTO, 2016).

Devido à crescente preocupação de que o uso contínuo dos antibióticos nas dietas avícolas causaria a proliferação e transmissão de bactérias resistentes através das cadeias alimentares, em 2006, a União Europeia proibiu o uso de antibióticos como promotores de crescimento. Tal fato fez com que os nutricionistas buscassem alternativas para beneficiar o desempenho e a saúde geral das aves, sem que houvesse um comprometimento à segurança e à qualidade dos alimentos (BRENES; ROURA, 2010).

Desde a década de 1950, os antibióticos têm sido utilizados como aditivos promotores de crescimento, com o objetivo de estabilizar a microbiota intestinal, prevenir doenças subclínicas e, consequentemente, melhorar a eficiência alimentar das aves (HASSAN *et al.*, 2010; ATTIA; AL-HARTHI; EL-KELAWY, 2019; SALEH; AMBER; MOHAMMED, 2020). A retirada dos antibióticos das dietas impactou na diminuição da produtividade e na viabilidade da produção de frangos de corte. Tal fato impulsionou a procura por aditivos alternativos que auxiliem na superação de problemas entéricos e mantenham o desempenho zootécnico dos animais (PELÍCIA *et al.*, 2011; SUGIHARTO, 2016).

Uma das alternativas estudadas dentre os aditivos é o ácido butírico, que comumente está associado a sais, principalmente de cálcio e sódio. Devido à sua natureza volátil e ao seu cheiro pungente, ele é rapidamente absorvido na parte superior do TGI, além de afetar negativamente o odor da ração inclusive, reduzindo sua palatabilidade (VAN DER WIELEN *et al.*, 2000; ANDREOPOULOU; TSIOURIS; GEORGOPOULOU, 2014; KACZMAREK *et al.*, 2016).

Estudos permitiram demonstrar que o butirato de sódio pode desempenhar um papel importante no epitélio intestinal, sendo considerada a principal fonte de energia para os enterócitos, necessária para o desenvolvimento do tecido linfóide associado ao intestino (GALT) (SHAHIR *et al.*, 2013), além de ser eficaz contra espécies de microorganismos intestinais intolerantes a ácidos, como *Salmonella*, *Clostridium perfringens* e *E. coli* (KWAN; RICKE, 2005), e de auxiliar na digestão de proteínas (JANKOWSKI *et al.*, 2012).

2 SAÚDE INTESTINAL EM FRANGOS DE CORTE

A relação entre a ave e o microrganismo é conhecida como simbiose, relação em que ambas vivem associadas sem trazer prejuízos. A microbiota intestinal é composta por microrganismos benéficos, mas também patogênicos, e está intimamente relacionada com o desempenho e o estado imunológico das aves (MAIORKA *et al.*, 2004). Os microrganismos benéficos auxiliam na digestão e na absorção dos nutrientes, tornando o animal mais saudável e menos susceptível às enfermidades, promovendo ainda melhor conversão alimentar e desempenho zootécnico. Porém, quando microrganismos patogênicos prejudicam o animal, o equilíbrio simbiótico é afetado, havendo um comprometimento no uso de nutrientes e energia para sobrevivência dos microrganismos benéficos (CANALLI *et al.*, 1996).

A saúde intestinal é crucial para a manutenção geral e o bem-estar de animais de produção. A absorção eficiente dos nutrientes provenientes da ração é, em grande parte, determinada pela integridade intestinal (DUCATELLE *et al.*, 2018). É necessário entender e ter controle sobre as possíveis mudanças da microbiota intestinal para adequar o manejo e incluir aditivos que possam alterar e regular de forma positiva a diversidade microbiana presente no intestino. Assim, pode-se obter o máximo aproveitamento do potencial genético dos animais, melhorando o desempenho zootécnico, diminuindo os efeitos das perdas causadas por estresse ou por doenças que acometam os animais (SANTOS *et al.*, 2012). Logo, um bom desempenho zootécnico está diretamente relacionado com a saúde intestinal das aves. Desse modo, mesmo que sejam fornecidas rações de boa qualidade e ambientes adequados, na ausência de um intestino saudável, não será possível obter elevada produção (SOUZA *et al.*, 2020).

O epitélio intestinal tem a função de digestão e de absorção, representando também uma importante barreira entre a luz intestinal e a corrente sanguínea. Substâncias nocivas e imunogênicas podem promover danos e perdas na integridade da barreira epitelial, resultando em um desequilíbrio na homeostase do organismo (GOTTARDO *et al.*, 2016; KRAIESKI *et al.*, 2017).

A sanidade do intestino se baseia no equilíbrio entre a mucosa e o conteúdo luminal, em que as características estruturais e funcionais da mucosa estejam íntegras, proporcionando um ambiente adequado para uma microbiota rica em espécies benéficas, resultando em um balanço entre microrganismos comensais e patogênicos (CARRASCO; CASANOVA; FERNÁNDEZ MIYAKAWA, 2019). Deste modo, o TGI se mantém eficiente, ou seja, as funções digestivas, assimilação e absorção de nutrientes e resposta imune eficazes auxiliam o organismo animal para uma melhor eficiência alimentar, um balanço energético adequado e maiores taxas de crescimento, resultando em altas performances produtivas (OVIEDO-RONDÓN, 2019).

As modificações na microbiota podem ser causadas por diversos fatores,

dentre eles: estresse e bem-estar (densidade de alojamento, temperatura, ventilação); alimentação (acesso à ração e água, mudanças de ingredientes, qualidade); cama (umidade, reutilização, remoção, material); intervenções para a manutenção da saúde (antibióticos, vacinas, aditivos); nutrição (componentes da ração, tamanho da partícula, micronutrientes, fonte protéica). Além dos fatores que causam a modificação da microbiota intestinal, é de extrema importância o cuidado com a biosegurança do matrizeiro. A qualidade e a segurança ofertadas às matrizes interfere diretamente nos pintos, podendo resultar em perdas produtivas futuras.

Quanto mais precocemente ocorrer o estabelecimento dos microrganismos (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Clostridiaceae*) no intestino, maior será a produção de ácidos graxos de cadeia curta (especialmente acetato, propionato, butirato). Tal aumento estabelecerá um ambiente com pH ácido, que se torna desfavorável para as bactérias patogênicas. Tais bactérias patogênicas apresentam alta permeabilidade em sua membrana, condição que favorece a entrada de hidrogênio, resultando na morte da bactéria por exaustão (BARNES, 1979; HINTON *et al.*, 1990).

É necessário entender e ter o controle sobre as possíveis mudanças da microbiota intestinal para adequar e incluir aditivos que possam alterar e regular de forma positiva a diversidade microbiana presente no intestino. Desse modo, é possível obter o máximo aproveitamento do potencial dos animais, melhorando o desempenho zootécnico, diminuindo os efeitos das perdas causadas por estresse ou por doenças que acometam os animais (SANTOS *et al.*, 2012).

O avanço do uso de aditivos na alimentação de monogástricos, especialmente em aves, tem permitido aos nutricionistas buscarem alternativas que permitam melhor aproveitamento dos alimentos, de dentro para fora, aliando aditivos e seu funcionamento na microbiota, de forma a melhorar o desempenho dos animais. Dentre os diversos tipos existentes no mercado atual, é necessário buscar novas pesquisas que visem garantir a efetividade desses produtos perante a melhoria na produção avícola, garantindo assim maior lucratividade do segmento (VALENTIM *et al.*, 2019).

Considerando o ciclo de criação das aves, a renovação das células intestinais representa uma grande parcela de tempo dentro da criação (42 dias). Desse modo, o cuidado e o controle com patógenos ou fatores infecciosos que possam afetar a saúde intestinal são de extrema importância para que os frangos de corte consigam o máximo aproveitamento dos nutrientes e, conseqüentemente, maior desempenho.

3 EFEITOS DO BUTIRATO DE SÓDIO SOBRE A INTEGRIDADE INTESTINAL

O butirato de sódio (BS) é um ácido graxo de cadeia curta formado

após o ácido butírico ser quelatado pelo mineral sódio (Na^+), e sua fórmula molecular é $\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2\text{Na}$. Por ser mais estável, possuir odor menos intenso, e proporcionar efeitos positivos no desempenho e na integridade intestinal, é o mais utilizado em dietas para frangos de corte (JIANG *et al.*, 2015; QAISRANI *et al.*, 2015; LAN *et al.*, 2020).

O desenvolvimento do epitélio intestinal é estimulado pelo BS devido aos benefícios que ele proporciona no organismo das aves, como estimular a restituição da célula epitelial e estimular o crescimento da mucosa intestinal (HU; GUO, 2007).

O ácido butírico tem efeito direto na proliferação, na maturação e na diferenciação das células da mucosa, porque pode influenciar a expressão gênica e a síntese protéica, além do crescimento das alturas das vilosidades, fazendo com que haja aumento da superfície de absorção no intestino delgado e a otimização da utilização dos nutrientes (SENGUPTA; MUIR; GIBSON, 2006).

A altura das vilosidades determina a maturidade funcional dos enterócitos que chegam ao ápice das vilosidades. Quando as vilosidades se apresentam mais curtas, os enterócitos atingem o ápice mais rápido. Nesse momento, sua capacidade secretora de enzimas está menos desenvolvida, ocasionando uma menor eficiência na absorção de nutrientes (BROOM, 2015).

O BS é uma fonte energética preferencial para as células intestinais, atuando sobre o crescimento e a integridade da mucosa, favorecendo a absorção de nutrientes e atuando positivamente sobre a atividade da microbiota intestinal, favorecendo microrganismos benéficos e controlando os patogênicos (KESSLER, 2005).

Incluir o BS nas dietas pode diminuir o pH gástrico, o que acelera a conversão do pepsinogênio em pepsina, aumentando então a taxa de absorção dos nutrientes como proteínas e minerais (YOUN *et al.*, 2005). Além disso, o BS limita o crescimento de patógenos, e, portanto, reduz a quantidade de toxinas que causam alterações na morfologia das vilosidades e criptas (FERNÁNDEZ-RUBIO *et al.*, 2009; SIKANDAR *et al.*, 2017). A presença de microrganismos patogênicos no TGI eleva a competição por nutrientes, acelera a passagem do alimento, aumenta a descamação de células intestinais e estimula a secreção de mucina pelas células caliciformes, causando processos inflamatórios crônicos na mucosa intestinal. Com isso, há uma diminuição da altura das vilosidades, o aumento da renovação celular e a diminuição nas capacidades digestivas (APAJLAHTI, 2005; PELICANO *et al.*, 2003; KHAN, 2013).

O BS também possui fortes propriedades anti-inflamatórias, além de ter o potencial de ativar diversas vias fisiológicas quando presente ao longo do TGI. Para que o butirato esteja disponível como molécula no intestino, é necessário que este ácido orgânico seja revestido adequadamente, e, assim,

liberado gradativamente após sua ingestão. O butirato liberado ao longo do intestino pode ativar vias de sinalização que não são normalmente ativadas pelos antibióticos, ele fortalece o revestimento epitelial do trato digestivo, aumenta a secreção de fluidos digestivos e pode ser utilizado por outros órgãos como o fígado, sendo fonte de energia e modulador de processos de detoxificação (GOOSSENS, 2021).

4 MODULAÇÃO DO BUTIRATO DE SÓDIO NA IMUNIDADE

O sistema imunológico é um dos sistemas mais importantes e complexos do corpo. Por um lado, protege o organismo contra infecções e injúrias, em contrapartida, quando isso acontece, principalmente em casos graves, ocorre um gasto de energia para que o animal se recupere, o que ocasiona um problema, já que esse gasto irá refletir em piores resultados de desempenho (KOUTSOS; KLASING, 2014).

O intestino tem funções padrões, desde a digestão e a absorção de nutrientes, mas também tem importante função imunológica, visto que a mucosa intestinal é exposta a diversos antígenos, sendo necessária a seleção de quais partículas são inofensivas e quais devem ser atacadas. Assim, torna-se crucial um balanço eficaz entre a resposta dada pelo organismo e a sua tolerância diante dessas exposições. Desse modo, para otimizar e melhorar a saúde intestinal das aves, é importante conhecer as estruturas que compõem o órgão, pois um intestino íntegro e saudável protege e dá suporte ao sistema imune dos animais em situações de exposição a patógenos, atuando na produção de células de defesa e na manutenção da homeostase (MOWAT, 2003; TARDOCCI *et al.*, 2019).

O BS desempenha papel fundamental na manutenção da barreira intestinal. O crescimento das vilosidades é estimulado pela ação de duas vias do ácido butírico: a proliferação e a diferenciação celular são estimuladas, enquanto que a apoptose é inibida. Um revestimento intestinal ideal é a barreira perfeita contra patógenos e toxinas, o que torna o animal mais resistente, já que intestino é a principal barreira de defesa, e quando ela é danificada, o sistema imune recruta células de defesa para proteger e restabelecer o organismo. Em alguns casos, apenas essas células não são suficientes para auxiliar no combate ao agente invasor, e então, nesse caso entra em ação o GALT, que intervém junto aos leucócitos para que o animal consiga se restabelecer dos danos causados pelos patógenos (CRUVINEL *et al.*, 2010). O GALT é composto por estruturas únicas como a Bursa de Fabricius, as tonsilas cecais e as Placas de Peyer, e é responsável por induzir respostas imunes contra antígenos bacterianos, virais e parasitários, que muitas vezes são introduzidos através do trato digestivo (BAR-SHIRA; SKLAN; FRIEDMAN, 2003).

As interações entre a microbiota e as células da mucosa intestinal

influenciam o funcionamento do intestino. Essa interação afeta a digestão, a manutenção da integridade da barreira intestinal e a homeostase imunológica (SCHOKKER *et al.*, 2017). O ácido butírico promove a melhora da saúde intestinal, resultando na absorção de mais nutrientes por todo o TGI, pois é utilizado como fonte de energia para os enterócitos, células absorptivas presentes no intestino, evitando que reações inflamatórias em excesso aumentem o consumo de energia e nutrientes para reestabelecer o organismo (IMRAN *et al.*, 2018).

Vale ressaltar que o intestino representa o maior órgão linfóide do organismo e um importante local de reações imunológicas. As ações benéficas que a microbiota intestinal exerce vão desde promover funções antibacterianas, imunomoduladoras e metabólicas até manter a integridade da mucosa e controlar a proliferação de bactérias patogênicas (BORTOLUZZI *et al.*, 2019). O sistema imune tem papel essencial na defesa do organismo, assim, o uso do BS pode atuar como uma das formas de fortalecer o sistema imunológico e prevenir doenças infecciosas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização do butirato tem sido uma opção aos antibióticos promotores de crescimento, tornando eficiente a utilização dos nutrientes contidos nos ingredientes da ração sem oferecer riscos à saúde dos consumidores. Assim sendo, a utilização de aditivos funcionais, como o butirato, pode ser uma importante estratégia na redução do uso de promotores de crescimento, enquanto também otimizam a integridade intestinal, modulam o microbioma e o sistema imune, limitando assim o uso dos antibióticos.

REFERÊNCIAS

- ANDREOPOULOU, M.; TSIOURIS, V.; GEORGOPOULOU, I. Effects of organic acids on the gut ecosystem and on the performance of broiler chickens. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, [s. l.], v. 65, n. 4, p. 289-302, 2014.
- APAJLAHTI, J. Comparative gut microflora, metabolic challenges and potential opportunities. **Journal of Applied Poultry Research**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 444-453, 2005.
- ATTIA, Y. A.; AL-HARTHI, M.; EL-KELAWY, M. Utilization of essential oils as natural growth promoter for broiler chickens. **Italian Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 1005-1012, 2019.
- BARNES, E. M. The intestinal microflora of poultry and game birds during life and after storage. **Journal of Applied Microbiology**, [s. l.], v. 46, n. 3, p. 407-419, 1979.
- BAR-SHIRA, E.; SKLAN, D.; FRIEDMAN, A. Establishment of immune competence in the avian GALT during the immediate post-hatch period. **Developmental & Comparative Immunology**, [s. l.], v. 27, n. 2, p. 147-157, 2003.

BORTOLUZZI, C.; SCAPINI, L. B.; RIBEIRO, M. V.; PIVETTA, M. R.; BUZIM, R.; FERNANDES, J. I. M. Effects of β -mannanase supplementation on the intestinal microbiota composition of broiler chickens challenged with a coccidiosis vaccine. **Livestock Science**, [s. l.], v. 228, p. 187-194, 2019.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. **Animal feed science and technology**, [s. l.], v. 158, n. 1-2, p. 1-14, 2010.

BROOM, L. J. Organic acids for improving intestinal health of poultry. **World's Poultry Science Journal**, [s. l.], v. 71, p. 630-642, 2015.

CANALLI, L. S.; FLEMMING, J. S.; MIRA, R. T.; BRASILE, L. F. Alteração da microbiota intestinal de frangos de corte pela utilização de probiótico na alimentação. **Revista do Setor de Ciências Agrária**, Curitiba, v. 15, n. 1, p. 125-132, 1996.

CARRASCO, J. M. D.; CASANOVA, N. A.; FERNÁNDEZ MIYAKAWA, M. E. Microbiota, gut health and chicken productivity: what is the connection? **Microorganisms**, [s. l.], v. 7, n. 10, p. 374, 2019.

CRUVINEL, W. D. M.; MESQUITA JÚNIOR, D.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S. D.; SILVA, N. P. D.; ANDRADE, L. E. C. Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 50, n. 4, p. 434-447, 2010.

DUCATELLE, R.; GOOSSENS, E.; DE MEYER, F.; EECKHAUT, V.; ANTONISSEN, G.; HAESBROUCK, F.; VAN IMMERSEEL, F. Biomarkers for monitoring intestinal health in poultry: present status and future perspectives. **Veterinary research**, [s. l.], v. 49, n. 1, p. 1-9, 2018.

FERNÁNDEZ-RUBIO, C.; ORDÓÑEZ, C.; ABAD-GONZÁLEZ, J.; GARCIA-GALLEGU, A.; PILAR HONRUBIA, M.; JOSE MALLO, J.; BALAÑA-FOUCE, R. Butyric acid-based feed additives help protect broiler chickens from *Salmonella* Enteritidis infection. **Poultry Science**, [s. l.], v. 88, n. 5, p. 943-948, 2009.

GOOSSENS, T. Reduzindo a utilização de antibióticos: qual o papel do butirato como aditivo alternativo? **Adisseo**: a Bluestar Company, [s. l.], 2021. Disponível em: https://pt.engormix.com/avicultura/artigos/reduzindo-utilizacao-antibioticos-qual-t46494.htm?utm_source=notification&utm_medium=email&utm_campaign=0-1-0&smld=0a5678082af94655af52cb7cf9f4ebaf&src_ga=1. Acesso em: 26 fev. 2021.

GOTTARDO, E. T.; PROKOSKI, K.; HORN, D.; VIOTT, A. D.; SANTOS, T. C.; FERNANDES, J. I. M. Regeneration of the intestinal mucosa in *Eimeria* and *E. Coli* challenged broilers supplemented with amino acids. **Poultry science**, [s. l.], v. 95, n. 5, p. 1056-1065, 2016.

HASSAN, H.; MOHAMED, M.; YOUSSEF, A. W.; HASSAN, E. R. Effect of using organic acids to substitute antibiotic growth promoters on performance and intestinal microflora of broilers. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, [s. l.], v. 23, n. 10, p. 1348-1353, 2010.

HINTON, A. J.; CORRIER, D. E.; SPATES, G. E.; NORMAN, J. O.; ZIPRIN, R. L.; BEIER, R. C.; DELOACH, J. R. Biological control of *Salmonella typhimurium* in young chickens. **Avian Diseases**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 626-633, 1990.

HU, Z.; GUO, Y. Effects of dietary sodium butyrate supplementation on the intestinal morphological structure, absorptive function and gut flora in chickens. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 132, n. 3-4, p. 240-249, 2007.

IMRAN, M.; AHMED, S.; DITTA, Y. A.; MEHMOOD, S.; RASOOL, Z.; ZIA, M. W. Effects of microencapsulated butyric acid supplementation on growth performance and ileal digestibility of protein, gut health and immunity in broilers. **Indian Journal of Animal Research**, [s. l.], v. 52, n. 11, p. 1618-1622, 2018.

JANKOWSKI, J.; JUŚKIEWICZ, J.; LICHTOROWICZ, K.; ZDUNCZYK, Z. Effects of the dietary level and source of sodium on growth performance, gastrointestinal digestion and meat characteristics in turkeys. **Animal Feed Science Technology**, [s. l.], v. 178, n. 1-2, p. 74-83, 2012.

JIANG, Y.; ZHANG, W.; GAO, F.; ZHOU, G. Effect of sodium butyrate on intestinal inflammatory response to lipopolysaccharide in broiler chickens. **Canadian Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 95, n. 3, p. 389-395, 2015.

KACZMAREK, S. A.; BARRI, A.; HEJDYSZ, M.; RUTKOWSKI, A. Effect of different doses of coated butyric acid on growth performance and energy utilization in broilers. **Poultry Science**, [s. l.], v. 95, n. 4, p. 851-859, 2016.

KESSLER, A. M. Butirato de sódio: aspectos fisiológicos de uma molécula multifuncional na nutrição animal. **Pork World**, São Paulo, v. 5, n. 29, p. 32-36, 2005.

KHAN, S. H. Probiotic microorganisms: identification, metabolic and physiological impact on poultry. **World's Poultry Science Journal**, [s. l.], v. 69, n. 3, p. 601-612, 2013.

KOUTSOS, E. A.; KLASING, K. C. **Factors modulating the avian immune system: avian immunology**. 2. ed. [S. l.]: [s. n.], 2014. Cap. 17. p. 299-313.

KRAIESKI, A. L.; HAYASHI, R. M.; SANCHES, A.; ALMEIDA, G. C.; SANTIN, E. Effect of aflatoxin experimental ingestion and Eimeira vaccine challenges on intestinal histopathology and immune cellular dynamic of broilers: applying an Intestinal Health Index. **Poultry Science**, [s. l.], v. 96, n. 5, p. 1078-1087, 2017.

KWAN, Y. M.; RICKE, S. C. Induction of acid resistance of Salmonella typhimurium by exposure to short chain fatty acids. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 64, n. 9, p. 3458-3463, 2005.

LAN, R.; LI, S. Q.; ZHAO, Z.; AN, L. L. Sodium butyrate as an effective feed additive to improve growth performance and gastrointestinal development in broilers. **Veterinary medicine and science**, [s. l.], v. 6, n. 3, p. 491-499, 2020.

MAIORKA, A.; SANTIN, A. M. E.; BORGES, S. A.; OPALINSKI, M.; SILVA, A. V. F. Emprego de uma mistura de ácidos fumárico, láctico, cítrico e ascórbico em dietas iniciais de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 9, n. 1, p. 31-37 2004.

MOWAT, A. M. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. **Nature Reviews Immunology**, [s. l.], v. 3, n. 4, p. 331-341, 2003.

OVIEDO-RONDÓN, E. O. Holistic view of intestinal health in poultry. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 250, p. 1-8, 2019.

PELICANO, E. R. L.; DE SOUZA, P. A.; DE SOUZA, H. B. A.; OBA, A.; NORKUS, E. A.; KODAWARA, L. M.; DE LIMA, T. M. A. Effect of different probiotics on broiler carcass and meat quality. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 5, n. 3, p. 207-214, 2003.

PELÍCIA, V. C.; ZAVARIZE, K. C.; DUCATTI, C.; STRADIOTTI, A. C.; PEZZATO, A. C.; ARAUJO, P. C.; MITUO, M. A. O.; MADEIRA, L. A.; SARTORI, J. R. Nucleotídeos na dieta de frangos de corte e seus efeitos sobre taxa de turnover da mucosa intestinal antes e após lesões causadas por coccidiose. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 9, p. 1652-1659, 2011.

QAISRANI, S. N.; VAN KRIMPEN, M. M.; KWAKKE, I. R. P.; VERSTEGEN, M. W. A.; HENDRIKS, W. H. Diet structure, butyric acid, and fermentable carbohydrates influence growth performance, gut morphology, and cecal fermentation characteristics in broilers. **Poultry Science**, [s. l.], v. 94, n. 9, p. 2152-2164, 2015.

SALEH, A. A.; AMBER, K.; MOHAMMED, A. A. Dietary supplementation with avilamycin and *Lactobacillus acidophilus* effects growth performance and the expression of growth-related genes in broilers. **Animal Production Science**, [s. l.], v. 60, n. 14, p. 1704-1710, 2020.

SANTOS, I. I.; CORÇÃO, G.; KESSLER, A. M.; LARANJEIRA, V.S.; LIMA, M.S.; Microbiota ileal de frangos de corte submetidos a diferentes dietas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 3, p. 643-647, 2012.

SCHOKKER, D.; JANSMAN, A. J.; VENINGA, G.; DE BRUIN, N.; VASTENHOUW, S. A.; DE BREE, F. M.; SMITS, M. A. Perturbation of microbiota in one-day old broiler chickens with antibiotic for 24 hours negatively affects intestinal immune development. **BMC Genomics**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 1-14, 2017.

SENGUPTA, S.; MUIR, J. G.; GIBSON, P. R. Does butyrate protect from colorectal cancer? **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, [s. l.], v. 21, p. 209-218, 2006.

SHAHIR, M. H.; MORADI, S.; AFSARIAN, O.; ESMAELIPOUR, O. Effects of cereal type, enzyme and sodium butyrate addition on growth performance, carcass traits and intestinal morphology of broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 15, n. 3, p. 169-286, 2013.

SIKANDAR, A.; ZANEB, H.; YOUNUS, M.; MASOOD, S.; ASLAM, A.; ASHRAF, S.; ADIL, M.; REHMAN, H. Protective effect of sodium butyrate on growth performance, immune responses and gut mucosal morphometry in salmonella-challenged broiler chickens. **International Journal of Agriculture and Biology**, [s. l.], v. 19, p. 1387-1393, 2017.

SOUZA, C. S.; VIEITES, F. M.; JUSTINO, L. R.; DE LIMA, M. F.; CHAVES, A. S.; SILVA CARDOSO, V.; LIMA, C. A. R. Importância da saúde intestinal em frangos de corte. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. e86932475-e86932475, 2020.

SUGIHARTO, S. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 99-111, 2016.

TARDOCCHI, C. F. T.; FERREIRA, I. M.; MENDONÇA, M. O.; FREITAS, I. S.; SALVADOR, A. P. Saúde intestinal e produtividade de frangos de corte e galinhas poedeiras.

Nutritime, Viçosa, v. 16, n. 5, p. 8538-8545, 2019.

VALENTIM, J. K.; RODRIGUES, R. F. M.; BITTENCOURT, T. M.; LIMA, H. J. D. A.; RESENDE, G. A. Implicações sobre o uso de promotores de crescimento na dieta de frangos de corte. **Nutritime**, Viçosa, v.15, n.4, p. 8191-8199, 2019.

VAN DER WIELEN, P. W.; BIESTERVELD, S.; NOTERMANS, S.; HOFSTRA, H.; URLINGS, B. A.; VAN KNAPEN, F. Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 66, n. 6, p. 2536-2540, 2000.

YOUN, B. S.; NAM, K. T.; CHANG, K. M.; HWANG, S. G.; CHOEL, S. Effects of wood vinegar addition for meat quality improvement of old layer. **Korea Journal of Poultry Science**, [s. l.], v. 32, p. 101-106, 2005.

CAPÍTULO 16

COGUMELOS COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO E O SEU PAPEL NO DESEMPENHO E RESPOSTA FISIOLÓGICA DE FRANGOS DE CORTE

Valquíria Cação Cruz-Polycarpo

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Bárbara Fernanda da Silva Barbosa

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Gabrieli Andressa de Lima

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Robert Guaracy Aparecido Cardoso Araújo

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Gustavo do Valle Polycarpo

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Diego Cunha Zied

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Jaqueline Dalbello Biller

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Resumo

A preocupação dos produtores e consumidores com o uso de antibióticos nas rações para frangos de corte vem ganhando destaque há alguns anos. A redução do uso de quimioterápicos na produção animal, como terapêutico ou como promotor de crescimento, vem sendo amplamente difundida. Baseado na alegação de que, por mais apropriados e conservadores que sejam, ainda contribuem para o desenvolvimento da resistência, seu uso desnecessário e excessivo torna-se um grande problema. É necessária uma atenção às diversas estratégias que objetivam minimizar a necessidade do uso de antibióticos nas dietas, tais como um maior foco no acompanhamento veterinário, restrições de biosegurança e melhor gerenciamento da produção e o uso de aditivos que possam substituir os antibióticos, mantendo desempenho similar. Alguns aditivos podem ter efeitos benéficos para a saúde intestinal, e podem mitigar os danos causados por patógenos, reduzindo assim a necessidade do uso rotineiro de quimioterápicos para combater as infecções entéricas. A alimentação com certos tipos de cogumelos pode trazer efeitos benéficos sobre a saúde intestinal, desempenho e imunidade em frangos de corte. Os fungos basidiomicetos são excelentes fontes de proteínas, vitaminas, minerais, ácidos graxos, além de compostos bioativos. Entre eles estão os polissacarídeos, glucanos e blazeispirol, relatados como tendo propriedades de reforço imunológico. Muitas espécies de cogumelos vêm sendo pesquisadas, porém, suas partes e os níveis eficazes para inclusão ainda estão sendo estudados. Os resultados descritos na literatura são altamente variáveis de acordo com a espécie de cogumelo, a linhagem, o sexo, o ambiente, o manejo, os ingredientes da ração, o desafio sanitário, entre outros. Diante de tal contexto, o presente capítulo destacará o papel dos cogumelos como um suplemento alimentar natural que, potencialmente, pode melhorar o desempenho de crescimento, a imunidade e o estado geral de saúde em frangos de corte.

1 INTRODUÇÃO

O aumento da produtividade e a intensificação da criação de frangos de corte tornou necessário o uso de antibióticos para proteger o organismo animal de patógenos, e consequentemente, melhorar seu desempenho produtivo. Porém, devido à restrição desses antibióticos em 2006 pela União Européia, houve a necessidade de se buscar alternativas que possam substituí-los, considerando haver evidências de que o seu uso desmedido pode trazer o surgimento de microrganismos resistentes (SALAZAR *et al.*, 2008). Nesse contexto, busca-se produtos naturais que possam substituir os antibióticos, sem trazer o efeito da resistência bacteriana, e que auxiliem na melhora da performance produtiva animal (KHAN; MUKHTAR; IQBAL, 2019; LIMA *et al.*, 2020).

Uma linha de pesquisa que tem ganhado espaço é a utilização de substâncias bioativas, extraídas de determinadas espécies de fungos basidiomicetos, referidos popularmente como cogumelos medicinais (WONG *et al.*, 1994). Os cogumelos têm sido muito utilizados como fonte de compostos bioativos de valor medicinal que podem ser utilizados nas dietas, pois são ricos em fibras e apresentam baixa concentração de gordura e energia (MANZI; AGUZZI; PIZZOFERRATO, 2001).

Os cogumelos comestíveis têm várias propriedades nutricionais, palatáveis e funcionais, e o consumo consistente pode trazer benefícios à saúde, pois são considerados fontes de nutrientes importantes, incluindo fibras alimentares, minerais e vitaminas. Estudos provaram que vários cogumelos exibem uma série de bioatividades notáveis, como antitumoral, anti-hiperglicêmica, anti-inflamatória, antibacteriana e atividade imunorregulatória, o que potencialmente pode contribuir para reduzir alguns desafios na produção de frangos (ENSHASY *et al.*, 2013; MUSZYŃSKA *et al.*, 2018; ROBINSON *et al.*, 2018).

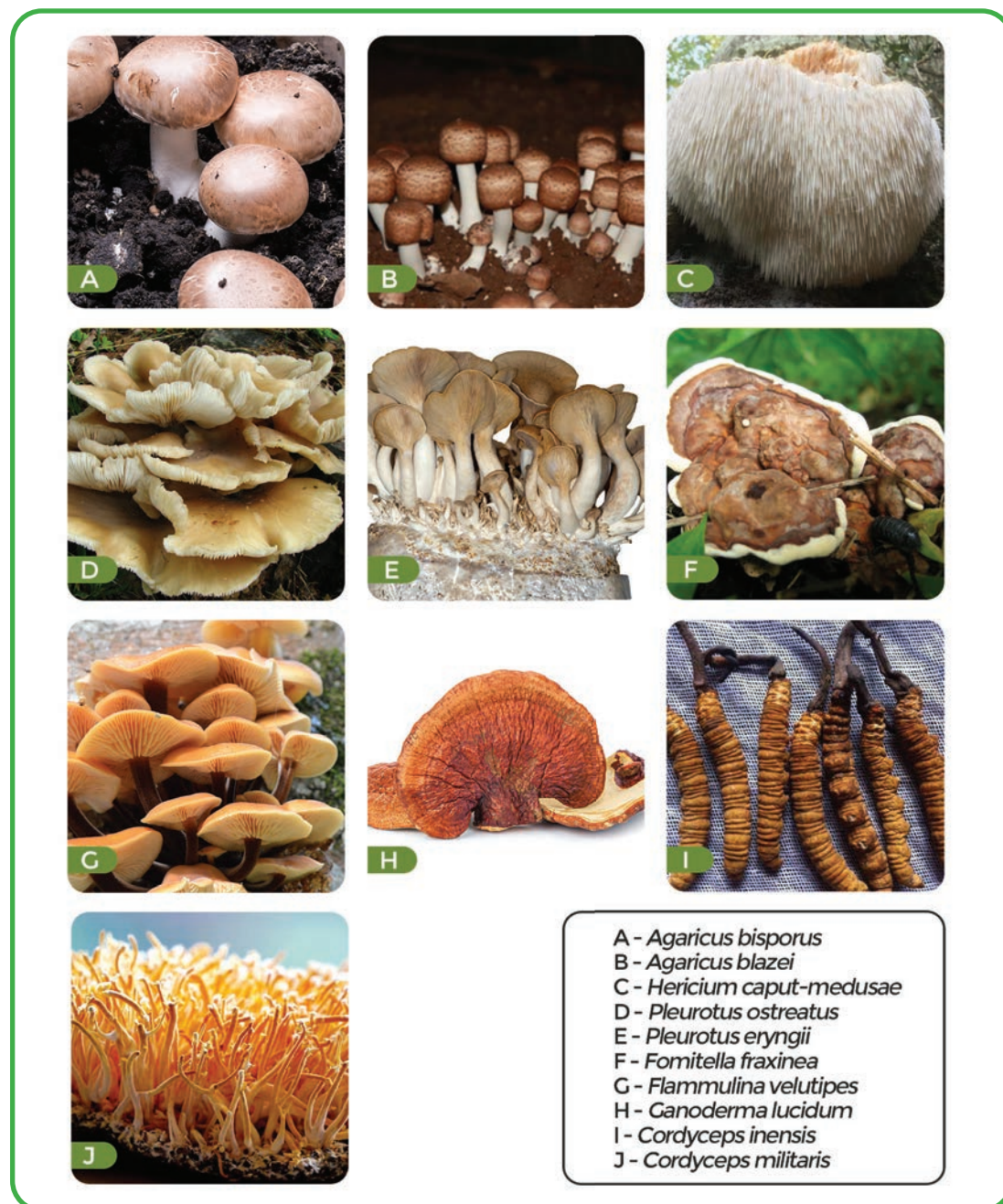
Os cogumelos contêm vários compostos biologicamente ativos, como ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido clorogênico, naringenina, hesperetina e biochanina-A (ALAM *et al.*, 2010). A presença de açúcares e fibra bruta indigestível, frações de carboidratos ou polissacarídeos e baixo teor de gordura desempenham um papel benéfico no trato digestório das aves, aumentando o crescimento de bactérias benéficas no trato gastrointestinal, e, dessa maneira, estimulando o aumento das vilosidades intestinais, e, consequentemente, uma melhor digestão e absorção de nutrientes (SUNDU *et al.*, 2006).

2 COMPOSIÇÃO E AÇÃO DOS COGUMELOS

Os cogumelos são ricos em componentes nutricionais e em propriedades farmacológicas (ADAMS *et al.*, 2019). Muitas espécies de cogumelos, como, por exemplo, *Lentinula edodes*, *Agaricus bisporus*, *Agaricus blazei*, *Herichium*

caput-medusae, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii*, *Fomitella fraxinea*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum*, *Cordyceps inensis* e *Cordyceps militaris* (Figura 1) são constituídos por substâncias capazes de afetar positivamente o desempenho e o estado de saúde das aves (BEDERSKA-LOJEWASKA *et al.*, 2017).

Figura 1. Exemplos de diferentes cogumelos com características benéficas na alimentação.



Fonte: elaborado pelos autores.

Os corpos frutíferos de fungos basidiomicetos possuem um bom teor de proteína, níveis naturalmente mais altos de fibra bruta, alto teor de vitamina B (B1, B2, B6 e ácido pantotênico), vitamina C, e vitaminas lipossolúveis, minerais como selênio, cobre e potássio, baixo teor de gordura e praticamente nenhum colesterol. Eles ainda são fontes de substâncias naturais em que as superfícies celulares do micélio secretam antibióticos, conhecidos como exsudatos, a maioria dos quais são metabólitos secundários (WILLIS; ISIKHUEMHEN; IBRAHIM, 2007; WILLIS *et al.*, 2009; GHORAI *et al.*, 2009; MUSZYŃSKA *et al.*, 2016).

Compostos bioativos podem reduzir o efeito de patógenos e beneficiar a saúde intestinal, aumentando a proliferação de linfócitos B e T e a síntese de imunoglobulinas, além de reduzir o colesterol (FANG; LIN, 2003; GUO *et al.*, 2004; FIRENZUOLI; GORI; LOMBARDO, 2008; GIANNENAS *et al.*, 2010). A presença de açúcares e fibra bruta indigestível, frações de carboidratos ou polissacarídeos e baixo teor de gordura desempenham um papel benéfico no trato digestivo das aves, aumentando assim o crescimento de bactérias benéficas, como espécies de *Bifidobacterium* (SUNDU *et al.*, 2006).

Acredita-se que o cogumelo possa ser classificado como um novo tipo de prebiótico devido à presença de diversos tipos de carboidratos, muitos deles resistentes à hidrólise por enzimas gástricas (AIDA *et al.*, 2009). Polissacarídeos semelhantes ao glicogênio e polissacarídeos antitumorais, heteromananos, xiloglucanos e lentinanos foram identificados em cogumelos (HOBBS, 2000).

Entre os componentes funcionais presentes nos cogumelos, os compostos fenólicos, ergosteróis, adenosina, flavonóides, polissacarídeos e os triterpenóides, ácido vanílico, derivados do ácido cinâmico (ácido cafeico, ácido p-hidroxibenzóico, ácido gálico e ácido protocatecuico) têm forte capacidade antioxidante. Estudos têm demonstrado que os triterpenóides têm a função de prevenir o dano oxidativo causado pelos radicais livres e podem prevenir ou retardar o aparecimento de doenças (FERREIRA *et al.*, 2007; YU *et al.*, 2007; ZHOU *et al.*, 2010; SMINA *et al.*, 2011; YIN, 2012).

3 EFEITO NO DESEMPENHO, MICROBIOTA E IMUNIDADE DE FRANGOS DE CORTE

Por décadas, os antibióticos têm sido amplamente empregados na alimentação de aves como substâncias promotoras de crescimento. No entanto, o uso excessivo e indiscriminado de antimicrobianos pode originar microrganismos resistentes aos antibióticos em humanos (MARSHALL; LEVY, 2011). Por razões semelhantes, em 2006, a União Europeia optou por proibir o uso de antibióticos como promotores de crescimento na alimentação de frangos de corte. Por outro lado, a ausência de promotores de crescimento pode causar diversos desafios em relação à enterite devido ao desequilíbrio da microbiota intestinal (HUYGHEBAERT; DUCATELLE; VAN IMMERSEEL,

2011). No entanto, esse problema pode ser superado com aditivos naturais para substituir os antibióticos.

Os aditivos naturais utilizados na dieta dos frangos objetivam manter a saúde da microbiota do trato intestinal dos frangos, diminuindo a quantidade de microrganismos patogênicos, consequentemente, melhorando o desempenho das aves, além de diminuir os problemas entéricos causados pela ausência de antibióticos promotores de crescimento. Pesquisas com frangos de corte utilizando aditivos naturais sobre o desempenho, microbiota intestinal e imunidade, mostram resultados contraditórios. A principal explicação para isso seria a heterogeneidade entre os experimentos, pois diferenças nas condições de criação podem gerar respostas adversas. Exemplo disso é o baixo desafio microbiológico das condições experimentais em que essas pesquisas são conduzidas, proporcionando situações inadequadas de avaliação. O volume de informações, somado aos resultados muitas vezes conflitantes, causa discussões e polêmicas inconclusivas sobre o assunto. Assim, pesquisas têm buscado estudar os efeitos dos aditivos na alimentação dos frangos com o objetivo de encontrar alternativas para substituir os antibióticos.

Dentre os aditivos naturais mais estudados estão os cogumelos, que são extraídos de espécies de fungos basidiomicetos, popularmente conhecidos como cogumelos medicinais (WONG *et al.*, 1994; BEDERSKA-LOJEWASKA *et al.*, 2017). Esses fungos contêm substâncias bioativas, como glucanos, blazeispirol e proteoglicanos, que são caracterizados como estimulantes imunológicos gastrintestinais e podem melhorar o sistema imunológico (SELEGEAN; PUTZ; RUGEA, 2009; STADLER; HOFFMEISTER, 2015). Esses compostos, incluídos nas rações de frangos de corte, funcionam como promotores de crescimento devido às substâncias produzidas por esses cogumelos, capazes de influenciar o desempenho, a microbiota intestinal e o sistema imunológico dos frangos (MACHADO *et al.*, 2007; KHAN; MUKHTAR; IQBAL, 2019; LIMA *et al.*, 2020).

A nutrição, quando aliada à imunidade, auxilia na modulação da saúde do animal por meio dos nutrientes da dieta fornecidos em quantidade necessária para a manutenção e homeostase, propiciando que o animal reaja a possíveis infecções e doenças, através das células de defesa, que auxiliam o organismo a se reestabelecer (GRIMBLE, 2002). As perdas de desempenho animal ocasionadas por uma resposta inflamatória ocorrem não só pelo gasto de energia das células imunes ao tentar proteger o organismo, mas também pela anorexia, perda de massa corpórea, tecido adiposo, entre outros (KOUTSOS; KLASING, 2014).

Os cogumelos pertencem a um dos principais grupos de microrganismos eucarióticos, os fungos, os quais possuem parede celular definida, heterotróficos, imóveis, macroscópicos e se reproduzem por meio de esporos, podendo ser unicelulares ou multicelulares (PELCZAR *et al.*, 1996). Dentre os

cogumelos comestíveis, o popularmente conhecido como cogumelo ostra (*Pleurotus spp.*), possui excelente valor nutricional, alto teor de proteínas, fibras alimentares, fósforo e baixo teor de lipídios (FURLANI; GODOY, 2007). O cogumelo do sol (*Agaricus Subrufescens*), possui alto teor de β -glucanos, ergosterol, agaritina, lectina, piroglutamato de sódio e ácido cumárico (WISITRASSAMEEWONG *et al.*, 2012; SABINO FERRARI *et al.*, 2020), além de apresentarem atividades antioxidantes potentes (BARROS *et al.*, 2007; LIU *et al.*, 2013).

Os componentes imunoativos em plantas e fungos incluem polissacarídeos, glicosídeos, alcalóides, óleos voláteis e ácidos orgânicos, efetivos para a modulação do sistema imune (GUO *et al.*, 2004).

Como relatam Mentel *et al.* (1994), os cogumelos medicinais apresentam importantes polissacarídeos como α -glucanos (1 $\rightarrow$ 3) e β -glucanos (1 $\rightarrow$ 3) e (1 $\rightarrow$ 6), considerados moduladores significativos do sistema imunológico. Este mecanismo de ação envolve a redução ou inibição da biossíntese de prostaglandinas e imunoglobulinas, que pode levar à diminuição da ativação de linfócitos T, células NK e macrófagos (RATHORE; PRASAD; SHARMA, 2017).

Os resultados obtidos na tentativa de substituir os antimicrobianos por cogumelos medicinais estão cada vez mais promissores, independente da forma de utilização dos cogumelos ser purificada ou não, se são oriundos dos basidiomas ou do micélio vegetativo, ou do mesmo caldo de cultivo do micélio em meio líquido (MACHADO *et al.*, 2007).

Vários são os trabalhos com frangos de corte que demonstram que os cogumelos podem ter um impacto positivo sobre o desempenho animal, melhora da microbiota intestinal, modulação da resposta imune, aumento da atividade antioxidante do tecido, influenciando na morfologia intestinal e melhora do perfil lipídico (GUO *et al.*, 2004; WILLIS; ISIKHUEMHEN; IBRAHIM, 2007; GIANNENAS *et al.*, 2010, 2011; TOGHYANI *et al.*, 2012; FARD; TOGHYANI; TABEIDIAN, 2014; SHANG *et al.*, 2014; SHAMSI *et al.*, 2015; CAMAY, 2016; FANHANI *et al.*, 2016; ADETUNJI; ADEJUMO, 2019; MAHFUZ *et al.*, 2019; LIMA *et al.*, 2020). Vale ressaltar que, esses efeitos podem ser influenciados pela espécie, origem, procedimento de processamento, composição físico-química e níveis de inclusão de cogumelos (BEDERSKA-ŁOJEWSKA; ŚWIĄTKIEWICZ; MUSZYŃSKA, 2017).

Com a administração de 5 e 10% de *L. edodes* na ração de frangos, Willis, Isikhuemhen e Ibrahim (2007) obtiveram melhora da saúde imunológica dos frangos de corte, pois observou-se proteção contra infecção de *Eimeria* e aumento de heterófilos e linfócitos. Em relação à microbiota intestinal, houve aumento populacional de *Bifidobacterium* e redução de *Salmonella*. Giannenas *et al.* (2010) destacaram ainda que cogumelos medicinais podem reduzir a peroxidação lipídica durante o armazenamento refrigerado de carne de frango.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se concluir que os cogumelos e seus compostos ativos podem desempenhar papéis importantes na produção de frangos de corte, pois, uma vez incluídos nas dietas, podem ser usados como substitutos aos antibióticos promotores de crescimento. O uso dos fungos basidiomicetos tem ação benéfica e podem ser usados como uma alternativa segura e eficaz para melhorar o desempenho, aumentar a imunidade, reduzir o crescimento de microrganismos patogênicos e beneficiar a saúde intestinal. Mais estudos são necessários para refinar os resultados já encontrados em torno do modo de ação dos cogumelos, pois os resultados variam de acordo com a espécie, o extrato ou tipo de preparação, o nível de inclusão e modo de ser empregado nas dietas, para que assim se consiga compreender com mais exatidão a sua relação com a microbiota intestinal e a resposta imunológica.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, S.; CHE, D.; HAILONG, J.; ZHAO, B.; RUI, H.; DANQUAH, K.; QIN, G. Effects of pulverized oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on diarrhea incidence, growth performance, immunity, and microbial composition in piglets. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 99, n. 7, p. 3616-3627, 2019.
- ADETUNJI, C. O.; ADEJUMO, I. O. Potency of agricultural wastes in mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) biotechnology for feeding broiler chicks (Arbor acre). **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 37-45, 2019.
- AIDA, F. M. N. A.; SHUHAIMI, M.; YAZID, M.; MAARUF, A. G. Mushroom as a potential source of prebiotics: a review. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 20, n. 11-12, p. 567-75, 2009.
- ALAM, N.; YOON, K. N.; LEE, K. R.; SHIN, P. G.; CHEONG, J. C.; YOO, Y. B.; LEE, T. S. Antioxidant activities and tyrosinase inhibitory effects of different extracts from *Pleurotus ostreatus* fruiting bodies. **Mycobiology**, [s. l.], v. 38, n. 4, p. 295-301, 2010.
- BARROS, L.; BAPTISTA, P.; CORREIA, D. M.; SÁ MORAIS, J.; FERREIRA, I. C. Effects of conservation treatment and cooking on the chemical composition and antioxidant activity of Portuguese wild edible mushrooms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Oxford, v. 55, n. 12, p. 4781-4788, 2007.
- BEDERSKA-ŁOJEWSKA, D.; ŚWIĄTKIEWICZ, S.; MUSZYŃSKA, B. The use of Basidiomycota mushrooms in poultry nutrition: a review. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 230, p. 59-69, 2017.
- CAMAY, R. M. Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) waste powder: its influence on the growth and meat quality of broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*). **World Journal of Agricultural Research**, [s. l.], v. 4, n. 4, p. 98-108, 2016.
- ENSHASY, H.; ELSAYED, E. A.; AZIZ, R.; WADAAN, M. A. Mushrooms and truffles: historical biofactories for complementary medicine in Africa and in the middle East. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 2013,

2013.

FANG, C.; LIN, Z. B. Effect of *Agaricus brasiliensis* S. Wasser et al. (Agaricomycetideae) extract on the functions of lymphocytes in mice in vitro. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 287-291, 2003.

FANHANI, J. C.; MURAKAMI, A. E.; GUERRA, A. F. Q. G.; NASCIMENTO, G. R.; PEDROSO, R. B.; ALVES, M. C. F. Effect of *Agaricus blazei* in the diet of broiler chickens on immunity, serum parameters and antioxidant activity. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 4, p. 2235-2246, 2016.

FARD, S. H.; TOGHYANI, M.; TABEIDIAN, S. A. Effect of oyster mushroom wastes on performance, immune responses and intestinal morphology of broiler chickens. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, [s. l.], v. 3, n. 4, p. 141-146, 2014.

FERREIRA, I. C. F. R.; BAPTISTA, P.; VILAS-BOAS, M.; BARROS, L. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: individual cap and stipe activity. **Food Chemistry**, Oxford, v. 100, n. 4, p. 1511-1516, 2007.

FIRENZUOLI, F.; GORI, L.; LOMBARDO, G. The medicinal mushroom *Agaricus blazei murrill*: review of literature and pharmaco-toxicological problems. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 3-15, 2008.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 154-157, 2007.

GHORAI, S.; SAMUDRA, P. B.; DEEPA, K. V.; SUDESHNA, C.; SOUMYA, M.; SUMAN, K. Fungal biotechnology in food and feed processing. **Food Research International**, [s. l.], v. 42, n. 5-6, p. 577-587, 2009.

GIANNENAS, I.; TONTIS, D.; TSALIE, E.; CHRONIS, E. F.; DOUKAS, D.; KYRIAZAKIS, I. Influence of dietary mushroom *Agaricus bisporus* on intestinal morphology and microflora composition in broiler chickens. **Research in Veterinary Science**, [s. l.], v. 89, n. 1, p. 78-84, 2010.

GIANNENAS, I.; TSALIE, E.; CHRONIS, E. F.; MAVRIDIS, S.; TONTIS, D.; KYRIAZAKIS, I. Consumption of *Agaricus bisporus* mushroom affects the performance, intestinal microbiota composition and morphology, and antioxidant status of turkey poults. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 165, n. 3-4, p. 218-229, 2011.

GRIMBLE, R. Use of n-3 fatty acid-containing lipid emulsions in the intensive care unit environment: the scientists view. **Clinical Nutrition**, [s. l.], v. 21, n. 2, p. 15-21, 2002.

GUO, F. C.; WILLIAMS, B. A.; KWAKKEL, R. P.; LI, H. S.; LI, X. P.; LUO, J. Y.; VERSTEGEN, M. W. A. Effects of mushroom and herb polysaccharides, as alternatives for an antibiotic, on the cecal microbial ecosystem in broiler chickens. **Poultry Science**, [s. l.], v. 83, n. 2, p. 175-182, 2004.

HOBBS, C. H. Medicinal value of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing (Agaricomycetideae). A literature review. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, [s. l.], v. 2, p. 287-302, 2000.

HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSEEL, F. An up-date on alternatives

- to antimicrobial growth promoters for broilers. **The Veterinary Journal**, [s. l.], v. 187, n. 2, p. 182-188, 2011.
- KHAN, S. H.; MUKHTAR, N.; IQBAL, J. Role of mushroom as dietary supplement on performance of poultry. **Journal of dietary supplements**, [s. l.], v. 16, n. 5, p. 611-624, 2019.
- KOUTSOS, E. A.; KLASING, K. C. **Factors modulating the avian immune system: avian immunology**. 2. ed. [S. l.: s. n.], 2014. Cap. 17. p. 299-313.
- LIMA, G. A.; BARBOSA, B. F. S.; ARAUJO, R. G. A. C.; POLIDORO, B. R.; POLYCARPO, G. V.; ZIED, D. C.; VENTURA, G.; MODESTO, I. M.; MADEIRA, A. M. B. N.; CRUZ-POLYCARPO, V. C. *Agaricus subrufescens* and *Pleurotus ostreatus* mushrooms as alternative additives to antibiotics in diets for broilers challenged with *Eimeria* spp. **British Poultry Science**, [s. l.], v. 62, n. 2, p. 1-10, 2020.
- LIU, J.; JIA, L.; KAN, J.; JIN, C. H. In vitro and in vivo antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 51, n. 1, p. 310-316, 2013.
- MACHADO, A. M. B.; DIAS, E. S.; SANTOS, É. C. D.; FREITAS, R. T. F. D. Composto exaurido do cogumelo *Agaricus blazei* na dieta de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 4, p. 1113-1118, 2007.
- MAHFUZ, S.; HE, T.; LIU, S.; WU, D.; LONG, S.; PIAO, X. Dietary inclusion of mushroom (*Flammulina velutipes*) stem waste on growth performance, antibody response, immune status, and serum cholesterol in broiler chickens. **Animals**, [s. l.], v. 9, n. 9, p. 692, 2019.
- MANZI, P.; AGUZZI, A.; PIZZOFERRATO, L. Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. **Food Chemistry**, Oxford, n. 3, v. 73, p. 321-325, 2001.
- MARSHALL, B. M.; LEVY, S. B. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 24, n. 4, p. 718-733, 2011.
- MENTEL, R.; MEINSEN, D.; PILGRIM, H.; HERRMANN, B.; LINDEQUIST, U. In vitro antiviral effect of extracts of *Kuehneromyces mutabilis* on influenza virus. **Pharmazie**, [s. l.], v. 49, n. 11, p. 859-860, 1994.
- MUSZYŃSKA, B.; GRZYWACZ-KISIELEWSKA, A.; KAŁA, K.; GDULA-ARGASIŃSKA, J. Anti-inflammatory properties of edible mushrooms: A review. **Food Chemistry**, Oxford, v. 243, p. 373-381, 2018.
- MUSZYŃSKA, B.; KAŁA, K.; FIRLEJ, A.; SUŁKOWSKA-ZIAJA, K. *Cantharellus cibarius* –culinary-medicinal mushroom content and biological activity. **Acta Poloniae Pharmaceutica: Drug Research**, [s. l.], v. 73, n. 3, p. 589-598, 2016.
- PELCZAR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. Objetivos da Microbiologia. In: **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. v. 1, cap. 2, p. 52-54.
- RATHORE, H.; PRASAD, S.; SHARMA, S. Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: a review. **PharmaNutrition**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 35-46, 2017.
- ROBINSON, J.; ANIKE, F. N.; WILLIS, W.; ISIKHUEMHEN, O. S. Medicinal mushrooms

supplements alter chicken intestinal microbiome. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, [s. l.], v. 20, n. 7, p. 685-693, 2018.

SABINO FERRARI, A. B.; AZEVEDO DE OLIVEIRA, G.; MANNOCHIO RUSSO, H.; CARVALHO BERTOZO, L.; SILVA BOLZANI, V.; CUNHA ZIED, D.; ZERAIK, M. L. *Pleurotus ostreatus* and *Agaricus subrufescens*: investigation of chemical composition and antioxidant properties of these mushrooms cultivated with different handmade and commercial supplements. **International Journal of Food Science & Technology**, [s. l.], v. 56, n. 1, p. 452-460, 2021.

SALAZAR, P. C. R.; ALBUQUERQUE, R.; TRINDADE NETO, M. A.; ARAUJO, L. F. Efeitos dos ácidos láctico e butírico, isolados e associados, sobre o desempenho e morfometria intestinal em frangos de corte. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 45, n. 6, p. 463-471, 2008.

SELEGEAN, M.; PUTZ, M. V.; RUGEA, T. Effect of the polysaccharide extract from the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* against infectious bursal disease virus. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 10, n. 8, p. 3616-3634, 2009.

SHAMSI, S.; SEIDAVI, A.; RAHATI, M.; G NIETO, J. A. Edible mushroom powder (*Agaricus bisporus*) and flavophospholipol improve performance and blood parameters of broilers. **Revista Colombiana de Ciências Pecuárias**, Medellín, v. 28, n. 4, p. 291-302, 2015.

SHANG, H. M.; SONG, H.; WANG, L. N.; WU, B.; DING, G. D.; JIANG, Y. Y.; SHEN, S. J. Effects of dietary polysaccharides from the submerged fermentation concentrate of *Hericium caput-medusae* (Bull.: Fr.) Pers. on performance, gut microflora, and cholesterol metabolism in broiler chickens. **Livestock Science**, [s. l.], v. 167, p. 276-285, 2014.

SMINA, T. P.; DE, S.; DEVASAGAYAM, T. P. A.; ADHIKARI, S.; JANARDHANAN, K. K. Ganoderma lucidum total triterpenes prevent radiation-induced DNA damage and apoptosis in splenic lymphocytes *in vitro*. Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, [s. l.], v. 726, n. 2, p. 188-194, 2011.

STADLER, M.; HOFFMEISTER, D. Fungal natural products: the mushroom perspective. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 6, p. 127, 2015.

SUNDU, B.; KUMAR, A.; DINGLE, J. Palm kernel meal in broiler diets: effect on chicken performance and health. **World's Poultry Science Journal**, [s. l.], v. 62, n. 2, p. 316-325, 2006.

TOGHYANI, M.; TOHIDI, M.; GHEISARI, A.; TABEIDIAN, A.; TOGHYANI, M. Evaluation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) as a biological growth promoter on performance, humoral immunity, and blood characteristics of broiler chicks. **The Journal of Poultry Science**, [s. l.], v. 49, n. 3, p. 183-190, 2012.

WILLIS, W. L.; ISIKHUEMHEN, O. S.; IBRAHIM, S. A. Performance assessment of broiler chickens given mushroom extract alone or in combination with probiotics. **Poultry Science**, [s. l.], v. 86, n. 9, p. 1856-1860, 2007.

WILLIS, W. L.; ISIKHUEMHEN, O. S.; ALLEN, J. W.; BYERS, A.; KING, K.; THOMAS, C. Utilizing fungus myceliated grain for molt induction and performance in commercial laying hens. **Poultry Science**, [s. l.], v. 88, n. 10, p. 2026-2032, 2009.

WISITRASSAMEEWONG, K.; KARUNARATHNA, S. C.; THONGKLANG, N.; ZHAO, R. L.; CALLAC, P.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D. *Agaricus subrufescens*: new to Thailand. **Chiang Mai Journal of Science**, [s. l.], v. 39, n. 2, p. 281-291, 2012.

WONG, C. K.; LEUNG, K. N.; FUNG, K. P.; CHOY, Y. M. Immunomodulatory and anti-tumour polysaccharides from medicinal plants. **Journal of international medical research**, [s. l.], v. 22, n. 6, p. 299-312, 1994.

YIN, M. C. Anti-glycative potential of triterpenes: a mini-review. **Biomedicine**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 2-9, 2012.

YU, R.; YANG, W.; SONG, L.; YAN, C.; ZHANG, Z.; ZHAO, Y. Structural characterization and antioxidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of cultured *Cordyceps militaris*. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 70, n. 4, p. 430-436, 2007.

ZHOU, X.; ZHU, H.; LIU, L.; LIN, J.; TANG, K. A review: recent advances and future prospects of taxol-producing endophytic fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 86, n. 6, p. 1707-1717, 2010.

CAPÍTULO 17

CONTROLE DAS HELMINTOSES EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO

Ricardo Velludo Gomes de Soutello

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Giordani Mascoli de Favare

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Isabela de Almeida Cipriano

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Mateus Oliveira Mena

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Samara Arão Camargo

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Tábata Alves do Carmo

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Resumo

A utilização de drogas anti-helmínticas tem sido a principal forma de controle das helmintoses gastrintestinais nos animais de produção. Porém, devido ao uso indiscriminado, surgiram problemas de resistência. Tendo em vista a importância das perdas causadas por esses parasitas, faz-se necessária a busca por formas alternativas de controle. Tais como o uso de plantas medicinais e extratos como tratamento anti-helmíntico, também o controle biológico, que tem por função a utilização de antagonistas naturais disponíveis no ambiente, como os fungos nematófagos. Além disso, a nutrição tem papel importante no controle das helmintoses, contribuindo para assegurar melhora no aporte nutricional dos animais, fazendo com que aumentem a capacidade de resistirem às infecções. Outra forma, a seleção de animais resistentes aos parasitas, utilizando o conhecimento da diversidade genética do genoma do hospedeiro para identificar indivíduos que dificultem a implantação dos helmintos. Desta forma, seria possível minimizar as perdas causadas pelos parasitas e diminuir custo com tratamentos convencionais, com o emprego de diferentes estratégias de controle de maneira integrada, eficiente e sustentável.

1 INTRODUÇÃO

Ao longo do tempo, o homem vem buscando conhecer e controlar as helmintoses e definir o melhor tratamento nos animais de produção. A primeira citação sobre a utilização de um anti-helmíntico foi identificada no papiro de Ebers, datado provavelmente de 1550 a.C., em que se relatava o uso da infusão da casca de romeira (*Punica granatum*) para o tratamento das helmintoses comuns no antigo Egito. Antes do desenvolvimento dos compostos orgânicos sintéticos, foram utilizadas no tratamento de helmintoses substâncias naturais como o óleo de chenopodium, santonina e papaína. Um dos primeiros anti-helmínticos utilizados foi o sulfato de cobre, em 1881. Mais tarde, em 1926, o tetracloreto de carbono foi utilizado para o tratamento de fasciola hepática (ALMEIDA; AIRES, 2002).

A forma mais empregada para controle de parasitas se dá por meio de produtos químicos desenvolvidos para obter o máximo de eficácia frente à sensibilidade dos helmintos. Devido à boa aplicabilidade e aos preços acessíveis, houve um grande emprego destes fármacos nas últimas décadas (LEATHWICK; POMROY; HEATH, 2001). No entanto, seu uso indiscriminado gerou queda da eficácia pela seleção de parasitas resistentes (LEATHWICK; POMROY; HEATH, 2001; MOLENTO, 2004). Sendo assim, torna-se necessária a busca por métodos alternativos e complementares ao tratamento das helmintoses.

2 DROGAS ANTI-HELMÍNTICAS

Os anti-helmínticos disponíveis no mercado em sua maioria foram desenvolvidos a partir de 1960 (KAMINSKY *et al.*, 2008). As quatro principais classes de anti-helmínticos atualmente utilizados são as lactonas macrocíclicas (ex: ivermectina e moxidectina), as pirimidinas e imidazotiazóis (ex: pamoato de pirantel e levamisol) e o grupo dos benzimidazóis (ex: albendazol, oxibendazol e fenbendazol). As diferenças entre essas classes está no modo de ação de cada uma (MARTIN, 1997; SAMSON-HIMMELSTJERNA, 2012).

Na tabela abaixo estão descritos alguns grupos químicos de anti-helmínticos e seus princípios ativos para tratamento de eleição.

Tabela 1. Principais grupos de drogas anti-helmínticas disponíveis no mercado e categoria de helmintos para tratamento de eleição.

HELMINTOS	GRUPO QUÍMICO	DROGAS
Nematódeos	Imidotiazóis	Levamisole, Tetramizole e Pirantel
	Benzimidazóis	Tiabendazol, Fenbendazol, Oxfendazol, Albendazol, Febantel
	Avermectinas	Ivermectina, Doramectina, Abamectina
	Milbemicinas	Milbemicina
	Salicilamidas	Nitrocanato, Closantel
Trematódeos	Organofosforados	Diclorvos, Triclorfon
	Salicilamidas	Nitroxil, rafoxanida, Closantel, Clorsulon
	Benzimidazóis	Tricabendazol, Albendazole, Netobimina
Cestódeos	Salicilamidas	Niclosamida, Praziquantel, Arecolina

Fonte: elaborada pelos autores.

3 MECANISMO DE AÇÃO DOS PRINCIPAIS ANTI-HELMÍNTICOS

Nas últimas décadas, o controle anti-helmínticos vem sendo representado por quatro principais classes de medicamentos: as lactonas macrocíclicas (ex: ivermectina e moxidectina), os benzimidazóis (ex: albendazol, oxibendazol e fenbendazol) e o grupo dos imidazotiazóis (ex: pamoato de pirantel e levamisol). As diferenças entre essas classes estão no modo de ação (BORGES, 2003; BOWMAN, 2006; SAMSON-HIMMELSTJERNA *et al.*, 2012).

Os modos de ação de vários anti-helmínticos dependem da interferência com os processos bioquímicos essenciais do parasita ou da integridade da célula, mas não, ou em menor grau, daqueles do hospedeiro. Muitos dos medicamentos atuam no sistema nervoso do parasita, resultando em paralisia e, em consequência, na sua expulsão do hospedeiro (LIFSCHITZ *et al.*, 2007).

As lactonas macrocíclicas são divididas em dois grandes grupos, chamados avermectinas e milbemicinas. Ambas apresentam mecanismo de ação e propriedades farmacológicas semelhantes e são eficazes nos mesmos grupos de nematódeos e ácaros (PÉREZ *et al.*, 2001). O modo de ação de ambos é baseado nas interações da droga com os canais receptores para a inibição da neurotransmissão nos invertebrados, que são atribuídos ao ácido gama amino butírico (GABA) e o glutamato, conhecidos por sua ação no bloqueio da atividade elétrica das células musculares e nervosas ocasionada pelo aumento da condução dos íons de cloro (MOTTIER; LANUSSE, 2001).

Os benzimidazóis levam a alterações ultraestruturais nas células intestinais de nematóides, podendo ainda inibir enzimas alterando os mecanismos energéticos do parasito, ocasionando a interrupção e/ou diminuição da produção de ovos dos nematóides. Já os imidotiazóis, provocam uma paralisia espástica nos nematóides, determinando uma contração muscular estável, o

que facilita a eliminação do parasito. Esse grupo de anti-helmínticos têm ação somente contra nematóides adultos, sendo que o levamisol tem boa atividade contra adultos e estádios larvares em desenvolvimento, mas não contra larvas em hipobiose, porém, contrastando com os benzimidazóis, esses não são ovicidas (BOWMAN, 2006; KÖHLER, 2001; SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2011).

Comumente, os anti-helmínticos têm sido administrados por via oral ou via parenteral na maioria dos rebanhos mediante injeção subcutânea. Pode ser realizada também na administração oral por meio de preparação líquida ou suspensão, ou pela inclusão da droga no alimento ou na água disponibilizada aos animais de produção. Mais recentemente, foram introduzidas formulações na forma de pasta especial para equinos e atualmente há vários compostos que apresentam ação sistêmica quando aplicados como formulação *pour-on* ou *spot-on* na pele (LAFFONT *et al.*, 2003).

O uso de anti-helmínticos, além de implicar em despesas e da provável ocorrência de resíduos, pode também prejudicar futuramente o controle parasitário devido à alta escala que leva ao progresso da resistência aos fármacos utilizados (FRAGA *et al.*, 2003).

Sendo assim, a resistência parasitária e seu mecanismo de instalação ocorrem pelo constante uso de uma mesma base farmacológica (BASTOS *et al.*, 2018), ocasionando a sobrevivência dos helmintos que comumente seriam eliminados através do uso de medicamentos (GRAEF; CLAEREBOU; GELDHOF, 2013).

A melhor solução para o controle dessas helmintoses seria a combinação de ações que incluam o manejo de pastagem, raças resistentes, controle biológico, manejo nutricional, associados ao uso de anti-helmíntico de maneira estratégica (BIANCHIN; CATTO, 2008).

4 CONTROLE ALTERNATIVO

4.1 Fitoterapia

Ainda que os mecanismos de desenvolvimento de resistência parasitária aos anti-helmínticos ainda não estejam claros (GILLEARD, 2006), sabe-se que qualquer fármaco utilizado exerce uma pressão de seleção de genótipos resistentes na população. Deste modo, preconiza-se a associação de métodos alternativos e a utilização correta dos anti-helmínticos para controlar as infecções com a menor frequência de tratamentos possível e sem evitar por completo a exposição dos ruminantes aos parasitas, uma vez que este contato é necessário para o estímulo à resposta imune dos primeiros. Com os métodos alternativos de controle, são reduzidos, ainda, resíduos na carne e no leite e a agressão ambiental, que são consequências da aplicação dos quimioterápicos no rebanho (FLOATE, 2006; MARTÍNEZ; LUMARET, 2006).

O nome Fitoterapia é de origem grega e significa fito/*phyton* = planta e terapia/*therapeia* = tratamento, ou seja, é o uso de plantas medicinais para prevenir, atenuar ou curar doenças dos animais e dos homens (ALVES; SILVA, 2002).

Portanto, as plantas medicinais são entendidas como alternativas utilizadas no tratamento de doenças. Essas são utilizadas como matéria-prima para a produção industrial de medicamentos fitoterápicos, visando eliminar o problema da contaminação microbiana, e padronizar a quantidade e a forma de uso correto para a segurança do consumidor (CATALAN *et al.*, 2012).

Os resíduos de drogas convencionais têm um sério impacto no meio ambiente e tal impacto só se torna aparente após um grande uso. Em alguns casos, os resíduos podem entrar na cadeia alimentar humana e causar problemas de saúde pública (PADILHA *et al.*, 2000).

Há muitos séculos, os humanos utilizavam várias plantas medicinais para o tratamento de doenças (GOMES, 2011), inclusive doenças que afetavam animais. Dessa forma, as pessoas aprenderam sobre as propriedades destinadas à cura, e há centenas de anos vêm disseminando esse conhecimento para a nova geração (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

A fitoterapia pode trazer enormes benefícios para produtores, consumidores e meio ambiente. No entanto, mesmo as plantas medicinais precisam de recomendações porque podem intoxicar os animais se não forem empregadas na dose correta. Nesse caso, a segurança de seu uso deve ser comprovada cientificamente. As plantas medicinais vêm surgindo como uma alternativa ao uso de anti-helmínticos sintéticos por conterem fitoquímicos com propriedades anti-helmínticas, como saponinas, flavonóides e taninos (MENGISTU *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2017).

No Brasil, pesquisas com várias espécies de plantas com efeito anti-helmíntico demonstraram que apenas 17% das 106 espécies mostraram-se eficazes. Dentre as espécies estudadas, 18% dos compostos podem ser usados para o tratamento de nematódeos gastrointestinais de ruminantes (KRYCHAK-FURTADO, 2006). Krychak-Furtado (2006), estudou 35 extratos vegetais que foram avaliados *in vitro* contra nematódeos gastrintestinais de ovinos. Destes, 13 extratos apresentaram eficácia superior a 80%: coraçãozinho (*Melochia villosa*), aster (*Aster lanceolatus*), capim arroz (*Oryza latifolia*), roseira do brejo (*Pavonia angustifolia*), pitomba (*Trichilia pallida*), guiné (*Petiveria alliacea*), jenipapo (*Genipa americana*), xaxim (*Dicksonia sellowiana*) (pó seco 1 g), *D. sellowiana* (pó seco 2 g), *D. sellowiana* (extrato bruto), *D. sellowiana* (extrato filtrado), *Pterocaulon interruptum* (fração acetila) e *P. interruptum* (extrato bruto).

Na comprovação científica da atividade anti-helmíntica de plantas medicinais por meio de modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*, protocolos

de experimentos *in vitro* usam de preferência os testes de eclosão de ovos e teste de desenvolvimento e motilidade larval para analisar o efeito de extratos ou constituintes vegetais em nematóides de vida livre ou parasitas animais (GITHIORI; ATHANASIADOU; THAMSBORG, 2006).

Os benefícios da fitoterapia no tratamento de doenças de animais de produção, segundo Padilha *et al.* (2000), são reduzir o custo do tratamento e evitar a existência de resíduos químicos. Porém, na medicina veterinária, diferentemente do que acontece na medicina humana, as pesquisas abrangendo produtos fitoterápicos para o controle de doenças até então são pouco fomentados.

4.2 Controle biológico

Controle biológico é um termo empregado à utilização de antagonistas naturais disponíveis no ambiente para decrescer a um limiar sub-clínico e economicamente aceitável a população de um agente causador de perdas produtivas à atividade pecuária ou agrícola, além da finalidade em menores efeitos negativos no ambiente que os métodos químicos (GRAMINHA *et al.*, 2001; MOTA *et al.*, 2003). O controle biológico provém uma alternativa viável para a atenuação de larvas infectantes de estrongilídeos no meio ambiente (HEALEY *et al.*, 2018; HERNÁNDEZ *et al.*, 2018; VILELA *et al.*, 2018).

Profusos agentes biológicos, antagonistas de nematóides dirigem-se a novos estudos, como protozoários, bactérias, vírus e fungos nematófagos (GRØNVOLD *et al.*, 1996; MACIEL; ARAÚJO; CAMPOS, 2006). Entre os proveitos na utilização dos fungos nematófagos no controle biológico, é o sinergismo no controle químico, que obtém uma maior atuação sobre as formas infectantes presentes nas fezes, bem como sobre os helmintos adultos que estão parasitando o animal (RIBEIRO, 2003; BRAGA *et al.*, 2008). A introdução dos fungos não busca anular a utilização de anti-helmínticos, mas desempenhar o controle de maneira sinérgica, sendo assim, reduzindo a quantidade utilizada (LARSEN, 1999).

Fungos nematófagos como forma de controle biológico consituem uma alternativa para complementar as estratégias de controle de helmintoses gastrintestinais. A disseminação de estruturas fúngicas diretamente nas fezes, onde decorre a eclosão de ovos e as larvas se tornam infectantes (L3), é uma das formas utilizadas para o estabelecimento do controle biológico de nematóides parasitas gastrintestinais de bovinos (PAZ-SILVA *et al.*, 2011). A introdução destes fungos como agentes predadores de helmintos, e a necessidade da sua presença no bolo fecal dos hospedeiros possibilita a redução das formas infectantes neste micro-ecossistema e, consequentemente, na pastagem (BRAGA; ARAÚJO, 2014). Por conseguinte, os fungos devem resistir a passagem através do trato gastrintestinal, não prejudicar o meio ambiente e, por sua vez, atingem uma produção viável

(GOMES; ARAÚJO; GUIMARÃES, 1998). Tal forma de controle biológico é apto a preda os estágios de vida livre dos nematóides, resultando em uma menor quantidade de larvas disponíveis no ambiente e pastagens em que os animais se alimentam e, conseqüentemente, diminuem sua reinfecção (ARAÚJO *et al.*, 2004; BRAGA *et al.*, 2011).

Os principais estudos com fungos têm se concentrado com espécies predadoras pertencentes aos gêneros *Dunddingtonia*, *Arthrobotrys* e *Monacrosporium* (LARSEN, 2000). Por efeito à sua atuação sobre as larvas, esses fungos são distribuídos em três grupos: os fungos endoparasitas, os oportunistas e os predadores.

Os fungos endoparasitas têm ação penetrante na cutícula ou sendo ingeridos pelos hospedeiros, e em seu interior desenvolvem hifas vegetativas que drena os constituintes internos (NORDBRING-HERTZ; JANSSEN; TUNLID, 2006). Os fungos oportunistas ou ovicidas colonizam ovos e suas larvas em desenvolvimento, penetrando através da casca por minúsculos poros. Conseqüentemente, decorre o desenvolvimento das hifas internamente, tornando a casca impermeável (BRAGA; ARAÚJO, 2014). Os fungos predadores são os mais testados quanto aos nematóides que parasitam animais de produção. Eles produzem uma série de armadilhas como redes tridimensionais adesivas, botões, hifas, anéis constritores e não constritores ao longo do micélio para apreender os nematoides. Se em circunstância capturar um nematóide, este terá sua cutícula penetrada e seu conteúdo interno digerido pelas hifas desenvolvidos em seu interior (BRAGA; ARAÚJO, 2014).

Entre os fungos estudados, o predador *Dunddingtonia flagrans* se destaca, em virtude de seus conídios e as massas miceliais serem aptas a atravessar o trato gastrointestinal dos animais, existe uma supremacia dos clamidósporos na manutenção da atividade nematófaga (LARSEN *et al.*, 1998; WAGHORN *et al.*, 2003). A efetividade do fungo tem sido substancialmente pela administração de péletes por via oral. Esta formulação tem se mostrado eficaz, tanto no aspecto econômico como no biológico, por propiciar uma proteção e transigir que estes organismos sejam propagados no meio ambiente (BRAGA; ARAÚJO, 2014).

Desta forma, o controle biológico com fungos nematófagos pode ser empregado para diminuir populações de helmintos nematóides, já que estes são seus antagonistas naturais. E suas vantagens se devem ao sinergismo no controle químico, o que obtém uma maior atuação sobre as formas infectantes presentes nas fezes, bem como sobre os helmintos adultos que estão parasitando o animal (RIBEIRO, 2003; BRAGA *et al.*, 2008).

4.3 Manipulação nutricional

As infecções por helmintos no rebanho geralmente podem ser

resolvidas de maneira breve por meio do tratamento com anti-helmínticos (CEZAR; CATTO; BIANCHIN, 2008). Gomes (2010) pontua que, pelo fato de os anti-helmínticos alterarem os mecanismos de imunidade natural, além dos custos, sua utilização pode nem sempre resolver os problemas causados pelos quadros de helmintoses. Sendo assim, faz-se necessário a utilização de outros meios para tentar recuperar os animais afetados pelos vermes gastrintestinais. Por meio do uso de medidas preventivas para ajudar no controle dos helmintos, surgiu a suplementação proteica, que tem por função oferecer o aporte nutricional, obtendo por consequência, uma gama de melhorias na imunidade dos animais.

O uso da suplementação proteica pode ser eficaz na redução da quantidade dos parasitas nos animais, entretanto, tem baixo efeito no estabelecimento de reinfecção de parasitas (VAN HOUTERT; BARGER; STEEL, 1996). Roberts e Adams (1990) confirmam também que as contagens de ovos reduziram nas fezes de animais tratados com quantidade proteica superior e os animais que tiver uma quantidade inferior, aumentaram a carga parasitária.

Segundo Knox e Steel (1999) e Veloso *et al.* (2004), o uso de suplementos na dieta dos animais pode assegurar melhoras no aporte nutricional, e, através disso, aumentar a capacidade dos animais resistirem às infecções. Assim como também, outra vantagem, é auxiliar a redução do número de ovos por grama de fezes (OPG) (KYRIAZAKIS; HOUDIJK, 2006).

Torna-se assim, imprescindível um bom manejo nutricional para alcançar a melhor produtividade (PÉREZ; GERASSEV, 2002) e, através do uso de suplementação associada a anti-helmínticos, acarretar benefícios aos animais, visto a redução no estresse, a melhora na imunidade e, como consequência, o aumento no ganho de peso dos animais.

4.4 Seleção de animais resistentes

O uso de métodos convencionais para o controle e profilaxia das helmintoses vem sem tornando um grande entrave na produção animal, visto a ineficácia e resistência da maioria das drogas anti-helmínticas disponíveis atualmente no mercado. Segundo Li *et al.* (2012), existe uma busca promissora de alternativas para o controle de parasitas e redução do uso de antiparasitários, como por exemplo, a seleção de animais resistentes e pela diversidade do genoma do hospedeiro (SONSTEGARD; GASBARRE, 2001).

Dentro de um conjunto de animais, independentemente de sua raça, mesmo não sendo designados para resistência parasitária, existe cerca de 10 a 20% de animais considerados "naturalmente resistentes". Isto é, são animais que não necessitariam ou necessitariam muito pouco de anti-helmínticos para o controle parasitário. Do mesmo modo, existem animais considerados "susceptíveis", tratam-se de animais que sempre terão grande

carga parasitaria em seu trato gastrintestinal, tornando-os disseminadores de parasitas no ambiente. Existem também animais “resilientes”, que são os indivíduos não resistentes, porém, que conseguem diminuir o efeito do parasitismo no seu desempenho produtivo (AMARANTE *et al.*, 2004).

Segundo Barger (1989), a seleção de animais resistentes resulta na diminuição de cerca de 80 a 90% da carga parasitária, quando comparada a rebanhos e não foram sujeitos à seleção. De acordo com a seleção de animais resistentes, sabe-se que tal seleção pode diminuir significativamente os picos sazonais da carga parasitária, assim como também, o número de larvas nas pastagens. Por meio da utilização de animais resistentes ao parasitismo, há uma baixa quantidade de ovos, ocasionando uma redução na contaminação das pastagens pela *L*₃. Além disso, um animal com alta carga parasitária de uma determinada espécie de parasita, mostra-se tendente a hospedar maior número das demais espécies de parasitas (STEAR *et al.*, 1998; AMARANTE *et al.*, 2004).

Considera-se que, a habilidade do indivíduo em obter uma autoimunidade e expressar resistência varia muito entre e dentre as espécies, comprovando ser um controle genético provado em uma gama de estudos que utilizam OPG como parâmetro examinador (GASBARRE; LEIGJTON; SONSTEGARD, 2001).

4.5 Formas de Seleção

Por muito tempo, os genes foram conhecidos como os únicos responsáveis pela passagem das características de uma geração a outra. Acredita-se, certamente, que a resistência está relacionada à herança de genes ou locos genômicos que, através da expressão de moléculas, regulam a imunidade do hospedeiro com a principal função de limitar e controlar a patologia (LI *et al.*, 2012).

A seleção através de marcadores moleculares consiste em integrar a genética molecular com a seleção fenotípica, por meio da procura de alelos desejáveis indiretamente por meio do uso de marcadores ligados. Assim, o estudo de genes como forma de seleção, torna-se promissor. Dentre os principais tipos de marcadores moleculares, destacam-se os marcadores *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) e microssatélite ou locos *Variable Number of Tandem Repeats* (VNTR), os quais funcionam utilizando o princípio de hibridização ou amplificação de DNA. Porém, esses marcadores demandam muito tempo para seleção convencional e nem sempre serão expressados os genes esperados.

Recentemente, a busca por novos marcadores moleculares vem sendo estudada, como a epigenética. Sua definição é descrita por Fantappie (2013), a qual a define como “capaz de gerar modificações no genoma que além de alterarem a sequência do DNA, e são característica herdáveis pelas gerações

seguintes”.

A epigenética é caracterizada como o estudo das moléculas que, através da modulação, expressam os genes para resultarem um determinado fenótipo (RIVAS; TEIXEIRA; KREPISCHI, 2019). Sendo assim, acredita-se que a resistência depende de uma gama de genes, anticorpos e citocinas (TIZARD, 2009) sendo um atributo herdável (GASBARRE; LEIGHTON; SONSTEGARD, 2001; FRAGA *et al.*, 2003; SHYMA; GUPTA; SINGH, 2015).

Um dos mecanismos mais estudados dentro dos mecanismos epigenéticos é a metilação do DNA (NICIURA *et al.*, 2018), que tem como papel metilar regiões presentes nas ilhas CpG (regiões com grande quantidade das bases citosinas e guanina), encontradas geralmente nas regiões promotoras de genes, e quando metiladas, levam ao silenciamento, ou seja, bloqueio da transcrição gênica, e a desmetilação faz com que as regiões promotoras sejam ativas, levando à interação de vários fatores de transcrição que controlam a ativação gênica (REIS, 2015). Da mesma forma, pode ocorrer a superexpressão dos genes, sendo assim, a alteração do padrão de metilação do DNA leva à criação de um novo perfil, que pode ter bons efeitos na vida e saúde dos animais (FANTAPPIE, 2013).

Desse modo, selecionar animais resistentes pode ser altamente vantajoso (BIEGELMEYER *et al.*, 2012), visto que a resistência é uma característica herdável (AMARANTE *et al.*, 2004) e assim, leva à uma diminuição significativa dos picos sazonais na carga parasitária e à diminuição das larvas nos pastos após a seleção (PACHECO, 2015).

Levando em consideração a importância do controle dos parasitas, se faz indispensável a busca por alternativas como o uso de animais resistentes e o estudo da diversidade genética do genoma do hospedeiro.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As estratégias de controle anti-parasitário mais eficientes estão relacionadas às informações sobre a disponibilidade de larvas no ambiente dos animais, identificação das fontes de infecção, o conhecimento sobre as necessidades climáticas para eclosão de ovos e a viabilidade das larvas. Baseando-se nestas medidas preventivas, elas podem diminuir a frequência de tratamentos químicos e, quando associadas a outras formas de controle, reduzem a dependência dos anti-helmínticos (STROMBERG, 1997; BARGER, 1989; STROMBERG; AVERBECK, 1999).

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. A. O.; AIYRES, M. C. C. Considerações gerais sobre os anti-helmínticos. *In*: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. cap. 43, p. 459-466.

- ALVES, D. L.; SILVA, C. R. **Fitohormônios**: abordagem natural da terapia hormonal. São Paulo: Atheneu, 2002. 105 p.
- AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A.; GENNARI, R. M. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France sheep to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 120, n. 2, p. 91-106, 2004.
- ARAÚJO, J. V.; ASSIS, R. C. L.; CAMPOS, A. K.; MOTA, M. A. Atividade in vitro dos fungos nematófagos dos gêneros *Arthrobotrys*, *Duddingtonia* e *Monacrosporium* sobre nematóides trichostrongilídeos (Nematoda: Trichostrongyloidea) parasitos gastrintestinais de bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 13, n. 2, p. 65-71, 2004.
- BARGER, I. A. Genetic resistance of hosts and its influence on epidemiology. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 32, n. 1, p. 21-35, 1989.
- BASTOS, J. A. R.; PINTO, R.; FAUSTO, G. C.; PONTES, K. C. S.; NONATO, I. A.; CARVALHO, C. A. Tratamento antiparasitário em bovinos com erva de macaé (*Leonurusibiricus*) e pau jacaré (*Piptadeniagonoacantha*): uma alternativa terapêutica. **Revista UniScientiae**, Viçosa, v. 1, n. 2, p. 74-84, 2018.
- BIANCHIN, I.; CATTO, J. B. Epidemiologia e alternativas de controle de helmintos em bovinos de corte na região central do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 15., 2008, Campo Grande. **Anais [...]**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2008. p. 1-24.
- BIEGELMEYER, P.; NIZOLI, L. Q.; CARDOSO, F. F.; DIONELLO, N. J. Aspectos da resistência de bovinos ao carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 61, n. 237, p. 1-11, 2012.
- BORGES, C. C. L. Atividade in vitro de anti-helmínticos sobre larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de caprinos, utilizando a técnica de coprocultura quantitativa (Ueno, 1995). **Revista Parasitología latinoamericana**, Santiago, v. 58, n. 3-4, p. 142-147, 2003.
- BOWMAN, D. D.; LYNN, R. C.; EBERHAND, M. L.; ALCARAZ, A. **Parasitologia Veterinária de Georgis**. Traduzido por: Cid Figueiredo e Thais H. Bittencourt Figueiredo. 8. ed. Barueri: Manole, 2006. p. 83-244.
- BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. M.; SILVA, A. R.; ARAÚJO, J. V.; CARVALHO, R. O.; TAVELA, A. O.; SILVA, M. E.; FERNANDES, F. M.; MELO, A. L. Destruição de larvas infectantes de *Strongyloides venezuelensis* pelos fungos *Duddingtonia flagrans*, *Arthrobotrys robusta* e *Monacrosporium sinense*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 44, n. 3, p. 389-391, 2011.
- BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; CAMPOS, A. K.; SILVA, A. R.; ARAÚJO, J. M.; CARVALHO, R. O.; CORRÊA, D. N.; PEREIRA, C. A. J. In vitro evaluation of the effect of the nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium sinense* and *Pochonia chlamydosporia* on *Schistosoma mansoni* eggs. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 24, p. 2713-2716, 2008.
- BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V. Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 98, n. 1, p. 71-82, 2014.
- CATALAN, A. A. S.; GOPINGER, E.; LOPES, D. C. N.; GONÇALVES, F. M.; ROLL, A. A.

P.; XAVIER, E. G.; AVILA, V. S.; ROLL, V. F. B. Aditivos fitogênicos na nutrição animal: Panax ginseng. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 107, n. 581/582, p. 15-22, 2012.

CEZAR, A. S.; CATTO, J. B.; BIANCHIN, I. Controle alternativo de nematódeos gastrintestinais dos ruminantes: atualidade e Perspectivas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p. 2083-2091, 2008.

FANTAPPIE, M. Epigenética e memória celular. **Revista Carbono**, [s. l.], n. 3, p. 1-5, 2013.

FLOATE, K. D. Endectocide use in cattle and fecal residues: environmental effects in Canada. **Canadian Journal of Veterinary Research**, [s. l.], v. 70, n. 1, p. 1-10, 2006.

FRAGA, A. B.; ALENCAR, M. M.; FIGUEIREDO, L. A.; RAZOOK, A. G.; CYRILLO, J. N. S. G. Análise de fatores genéticos e ambientais que afetam a infestação de fêmeas bovinas da raça Caracu por carrapatos (*Boophilus microplus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 1578-1586, 2003.

GASBARRE, L. C.; LEIGHTON, E. A.; SONSTEGARD, T. Role of the bovine immune system and genome in resistance to gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 98, n. 1-3, p. 51-64, 2001.

GILLEARD, J. S. Understanding anthelmintic resistance: the need for genomics and genetics. **International Journal for Parasitology**, [s. l.], v. 36, n. 12, p. 1227-1239, 2006.

GITHIORI, J. B.; ATHANASIADOU, S.; THAMSBORG, S. M. Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 139, n. 4, p. 308-320, 2006.

GOMES, A. P. S.; ARAÚJO, J. V.; GUIMARÃES, M. P. Biological control of bovine gastrointestinal nematode parasites in southern Brazil by nematode-trapping fungus *Arthrobotrys robusta*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Santa Maria, v. 7, n. 2, p. 117-122, 1998.

GOMES, A. F. **Helmintoses dos ruminantes domésticos**. [S. l.]: Edições de Angola (EAL), 2010.

GOMES, V. T. L. **Estudo in vitro da ação antimicrobiana da Myracroduon urundeuva Fr. ALL**. 2011. 40 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2011.

GRAEF, J.; CLAEREBOU, E.; GELDHOF, P. Anthelmintic resistance of gastrointestinal cattle nematodes. **Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift**, [s. l.], v. 82, p. 113-123, 2013.

GRAMINHA, E. B. N.; MAIA, A. S.; SANTOS, J. M.; CÂNDIDO, R. C.; SILVA, G. F.; COSTA, A. J.; Avaliação in vitro da patogenicidade de fungos predadores de nematóides parasitos de animais domésticos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, n. 1, p. 11-16, 2001. Disponível em: <http://www.uel.br/proppg/semina/pdf/semina221198.pdf>. Acesso em: 12 mar. 2021.

GRØNVOLD, J.; HENRIKSEN, S. A.; LARSEN, M.; NANSEN, P.; WOLSTRUP, J. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminths of domesticated animals. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 64, n. 1-2, p.

47-64, 1996.

HEALEY, K.; LAWLORA, C.; KNOXB, M. R.; CHAMBERSC, M.; JANE LAMBC, J.; GROVESD, P. Field evaluation of Duddingtonia flagrans IAH 1297 for the reduction of worm burden in grazing animals: Pasture larval studies in horses, cattle and goats. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 258, p. 124-132, 2018.

HERNÁNDEZ, J. A.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; CAZAPAL-MONTEIRO, C. F.; ARROYO, F. L.; SANCHÍS, J. A.; PAZ-SILVA, A.; ARIAS, M. S. A combined effort to avoid strongyle infection in horses in an oceanic climate region: rotational grazing and parasitocidal fungi. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 240, p. 1-8, 2018.

KAMINSKY, R.; DUCRAY, P.; JUNG, M.; CLOVER, R.; RUFENER, L.; BOUVIER, J.; WEBER, S. S.; WENGER, A.; WIELAND-BERGHAUSEN, S.; GOEBEL, T.; GAUVRY, N.; PAUTRAT, F.; SKRIPSKY, T.; FROELICH, O.; KOMOIN-OKA, C.; WESTLUND, B.; SLUDER, A.; MÄSER, P. A new class of anthelmintics effective against drug-resistant nematodes. **Nature**, [s. l.], v. 452, n. 7184, p.176-180, 2008.

KNOX, M.; STEEL, J. W. The effects of urea supplementation on production and parasitological responses of sheep infected with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 83, n. 2, p. 123-135, 1999.

KÖHLER, P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. **International Journal for Parasitology**, [s. l.], v. 31, n. 4, p. 336-345, 2001.

KRYCHAK-FURTADO, S. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no estado do Paraná: testes in vitro e in vivo**. 2006. 147 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

KYRIAZAKIS, I.; HOUDIJK, J. Immunonutrition: nutritional control of parasites. **Small Ruminant Research**, [s. l.], v. 62, n. 1-2, p. 79-82, 2006.

LAFFONT, C. M.; BOUSQUET-MÉLOU, A.; BRALET, D.; ALVINERIE, M.; FINK-GREMMELS, J.; TOUTAIN, P. L. A pharmacokinetic model to document the actual disposition of topical ivermectin in cattle. **Veterinary Research**, v. 34, n. 4, p. 445-446, 2003.

LARSEN, M. Biological control of helminthes. **International Journal for Parasitology**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 139-146p, 1999.

LARSEN, M. Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious microfungi. **Parasitology**, [s. l.], v. 120, n. sup., p. 121-131, 2000.

LARSEN, M.; FAEDO, M.; WALLER, P. J.; HENNESSY, D. R. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: studies with *Duddingtonia flagrans*. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 76, p. 121-128, 1998.

LEATHWICK, D. M.; POMROY, W. E.; HEATH, A. C. G. Anthelmintic resistance in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, [s. l.], v. 49, n. 6, p. 227-235, 2001.

LI, R. W.; CHOUDHARY, R. K.; CAPUCO, A. V.; URBAN JR, J. F. Exploring the host transcriptome for mechanisms underlying protective immunity and resistance to nematode infections in ruminants. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 190, n. 1-2, p. 1-11, 2012.

- LIFSCHITZ, A.; VIRKEL, G.; BALLENT, M.; SALLOVITZ, J.; IMPERIALE, F.; PIS, A.; LANUSSE, C. Ivermectin (3.15%) long-action formulations in cattle: Absorption pattern and pharmacokinetic considerations. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 147, n. 3-4, p. 303-310, 2007.
- MACIEL, A. S.; ARAÚJO, J. V.; CAMPOS, A. K. Viabilidade sobre larvas infectantes de *Ancylostoma* spp dos fungos nematófagos *Arthrobotrys robusta*, *Duddingtonia flagrans* e *Monacrosporium thaumasium* após esporulação em diferentes meios de cultura. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 15, n. 1, p. 182-187, 2006.
- MARTIN, R. J. Modes of action of anthelmintic drugs. **Veterinary Journal**, [s. l.], v. 154, n. 1, p. 11-34, 1997.
- MARTÍNEZ, M. I.; LUMARET, J. P. Las prácticas agropecuárias y sus consecuencias em la entomofauna y el entorno ambiental. **Folia Entomológica Mexicana**, Xalapa, v. 45, n. 1, p. 57-68, 2006.
- MENGISTU, G.; HOSTE, H.; KARONEN, M.; SALMINEN, J. P.; HENDRIKS, W. H.; PELLIKAAN, W. F. The in vitro anthelmintic properties of browse plant species against *Haemonchus contortus* is determined by the polyphenol content and composition. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 237, p. 110-116, 2017.
- MOLENTO, M. B. Resistência de helmintos em ovinos e caprinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 13, supl. 1, p. 82-87, 2004.
- MOTA, M. A.; CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J. V.; Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.23, n.3, p.93- 100, 2003.
- MOTTIER, L.; LANUSSE, C. Bases moleculares de la resistencia a fármacos. **Revista de Medicina Veterinária**, [s. l.], v. 82, n. 2, p. 74-85, 2001.
- NICIURA, S. C. M.; MORAES, C. V.; CRUVINEL, G. G.; ALEMÁN GAINZA, Y.; ALBUQUERQUE, A. C. A.; SANTANA, R. C. M.; THOLON, P.; TIZIOTO, P. C.; CHAGAS, A. C. S.; ESTEVES, S. N.; BENAVIDES, M. V.; AMARANTE, A. F. T. **Análise genômica da resistência ao monepantel e investigação epigenética em *Haemonchus contortus*. Boletim de pesquisa e desenvolvimento**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2018. 93 p.
- NORDBRING-HERTZ, B.; JANSSON, H. B.; TUNLID, A. Nematophagous Fungi. In: **ENCYCLOPEDIA of Life Science(c)**. Weinheim: Macmillan Publishers: Nature Publishing, 2006. p. 1-11.
- OLIVEIRA, A. F.; COSTA JUNIOR, L. M.; LIMA, A. S.; SILVA, C. R.; RIBEIRO, M. N.; MESQUITA, J. W.; ROCHA, C. Q.; TANGERINA, M. M.; VILEGAS, W. Anthelmintic activity of plant extracts from Brazilian savanna. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 236, p. 121-127, 2017.
- OLIVEIRA, G. C. B.; SILVA, S. L. C.; TAVARES, D. C.; SANTOS, A. V.; OLIVEIRA, G. C. B. Uso de plantas medicinais no tratamento de animais. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 5, n. 8, p. 1-8, 2009.
- PACHECO, T. M. **Avaliação do desempenho e características relacionadas ao grau de infecção por helmintos de bovinos da raça nelore**. 2015. 42 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal) - Faculdade de Ciências

Agrárias e Tecnológicas de Dracena, Universidade Estadual Paulista, Dracena, 2015.

PADILHA, T.; MARTINEZ, M. L.; GASBARRE, L.; VIEIRA, L. S. Genética: a nova arma no controle de doenças. **Balde Branco**, São Paulo, v. 36, n. 229, p. 58, jul. 2000.

PAZ-SILVA, A.; FRANCISCO, I.; VALERO-COSS, R. O.; CORTINASA, F. J.; SÁNCHEZ, J. A.; FRANCISCO, R.; ARIAS, M.; SUÁREZ, J. L.; LÓPEZ-ARELLANO, M. E.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; MENDOZA-DE GIVES, P. Ability of the fungus *Duddingtonia flagrans* to adapt to the cyathostomin egg-output by spreading chlamydospores. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], 79, n. 1-3, p. 277-282, 2011.

PÉREZ, J. R. O.; GERASSEV, L. C. Manejo alimentar de ovelhas. In: OVINOCULTURA: ALGUNS CONCEITOS, SEVETUnB, 4., 2002, Brasília. **Anais [...]**. Brasília: [s. n.], 2002. p. 77-95.

PÉREZ, R.; CABEZAS, I.; GODOY, C.; RUBILAR, L.; DÍAZ, L.; MUÑOZ, L.; ARBOIX, M.; ALVINERIE, M. Disposición plasmática y fecal de moxidectina administrada por vía oral em caballos. **Archivos de Medicina Veterinária**, Valdivia, v. 33, n. 1, p. 77-88, 2001.

REIS, A. P. Epigenética da asma: revisão. **Brazilian Journal Allergy and Immunology**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 13-18, 2015.

RIBEIRO, R. R. **Atividade predatória sobre larvas de *Trichostrongilídeos* de isolados fúngicos do gênero *Monacrosporium* após a passagem pelo trato gastrointestinal de bovinos**. 2003. 44 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

RIVAS, M. P.; TEIXEIRA, A. C. B.; KREPISCHI, A. C. V. Epigenética: conceito, mecanismos e impacto em doenças humanas. **Genética na Escola**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 14-25, 2019.

ROBERTS, J. A.; ADAMS, D. B. The effect off level of nutrition on the development of resistance to *Haemonchus contortus* in sheep. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v. 67, n. 3, p. 89-91, 1990.

SAMSON-HIMMELSTJERN, G. V. Anthelmintic resistance in equine parasites: detection, potential clinical relevance and implications for control. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 185, n. 1, p. 2-8, 2012.

SHYMA, K. P.; GUPTA, J. P.; SINGH, V. Breeding strategies for tick resistance in tropical cattle: a sustainable approach for tick control. **Journal of Parasitic Diseases: Official Organ of the Indian Society for Parasitology**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 1-6, 2015.

SONSTEGARD, T. S.; GASBARRE, L. C. Genomic tools to improve parasite resistance. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 101, n. 3-4, p. 387-403, 2001.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

STEAR, M. J.; BAIRDEN, K.; BISHOP, S. C.; GETTINBY, G.; MCKELLAR, Q. A.; PARK, M.; STRAIN, S.; WALLACE, D. S. The processes influencing the distribution of parasitic nematodes among naturally infected lambs. **Parasitology**, [s. l.], v. 117, n. 2, p. 165-171, 1998.

STROMBERG, B. E.; AVERBECK, G. A. The role of parasite epidemiology in the management of grazing cattle. **International Journal for Parasitology**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 33-39, 1999.

STROMBERG, B. E. Enviromental factors influencing transmission. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 72, n. 3-4, p. 247-264, 1997.

TIZARD, I. R. **Imonologia Veterinária**: uma Introdução. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

VAN HOUTERT, M. F. J.; BARGER, I. A.; STEEL, J. W. Supplementary feeding and gastrointestinal nematode parasitism in young grazing sheep. **Proceedings of the New Zeland Society of Animal Production**, Wellington, v. 56, p. 94-98, 1996.

VELOSO, C. F. M.; LOUVANDINI, H.; KIMURA, E. A.; AZEVEDO, C. R.; ENOKI, D. R.; FRANÇA, L. D.; MCMANUS, C. M.; DELL'PORTO, A.; SANTANA, A. P. Efeitos da suplementação proteica no controle da verminose e nas características de carcaça de ovinos Santa Inês. **Ciência Animal Brasileira**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 131-139, 2004.

VILELA, V. L. R.; FEITOSA, T. F.; BRAGA, F. R.; VIEIRA, V. D.; LUCENA, S. C; ARAÚJO, J. V. Control of sheep gastrointestinal nematodes using the combination of *Duddingtonia flagrans* and Levamisole Hydrochloride 5%. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 27-32, 2018.

WAGHORN, T. S.; LEATHWICK, D. M.; CHEN, L. Y.; SKIPP, R. A. Efficacy of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against three species of gastro-intestinal nematodes in laboratory faecal cultures from sheep and goats. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 118, n. 3, p. 227-234, 2003.



CAPÍTULO 18

LUTEOGÊNESE E LUTEÓLISE EM FÊMEAS BOVINAS

Isabella Rio Feltrin

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências (IB), Botucatu, São
Paulo, Brasil.

Mariângela Bueno Cordeiro Maldonado

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências e Letras (FCL), Assis,
São Paulo, Brasil.

Adriano Felipe Mendes

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências (IB), Botucatu, São
Paulo, Brasil.

Claudia Maria Bertan Membrive

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Resumo

O corpo lúteo (CL) é uma glândula endócrina transitória, responsável pela produção de altas concentrações de progesterona (P4), durante a fase de diestro. Quando a prenhez não é reconhecida e estabelecida, a regressão funcional e estrutural do CL denominada de luteólise torna-se imprescindível para possibilitar a ocorrência de um estro subsequente e uma chance de acasalamento para a fêmea. A prostaglandina F2 α (PGF2 α) é a principal molécula envolvida na luteólise e no abrupto decréscimo das concentrações circulantes de P4. Para que a via de síntese de PGF2 α seja iniciada, é necessária a ativação de uma cascata extremamente complexa e coordenada de eventos intracelulares. Quando a prenhez se estabelece, a síntese de PGF2 α e a luteólise são prevenidas, promovendo a permanência do CL e a síntese de P4 ao longo de toda a prenhez. A prevenção da luteólise resulta do êxito do conceito (embrião e membranas anexas) em promover o reconhecimento materno da prenhez (RMP), entre o 14° e 19° dia do ciclo estral (D0 = dia do estro). O interferon-tau (IFN- τ) é a principal molécula envolvida em tal reconhecimento. O período compreendido entre o 14° e 19° dia do ciclo estral é denominado de “período crítico”, pois nessa janela temporal pode ocorrer o RMP ou a luteólise, eventos fisiológicos totalmente distintos. Neste capítulo, serão descritos os mecanismos endócrinos e moleculares envolvidos na formação do CL, na regressão funcional e estrutural do CL e no RMP. Tais mecanismos embasam fisiologicamente um conjunto de estratégias farmacológicas comumente utilizadas nas biotecnologias reprodutivas.

1 INTRODUÇÃO

Nas fêmeas bovinas, o ciclo estral corresponde ao período compreendido entre o início de um estro e o início do estro subsequente; e possui a duração média de aproximadamente 21 dias, variando de 17 a 25 dias. O ciclo estral divide-se em quatro fases: estro, metaestro, diestro e proestro. O **estro**, que dura em média 12 horas (podendo variar de 1 a 24 horas), é marcado pela **ausência de Corpo Lúteo (CL)**, e caracteriza-se por concentrações circulantes baixas ou nulas de progesterona (P4) e altas de 17β -estradiol (E2), condição que determina os sinais físicos e psíquicos de estro, tornando a fêmea receptiva ao macho e ao acasalamento. O **metaestro**, com uma duração de aproximadamente 5 dias, compreende a ovulação nas fêmeas bovinas e caracteriza-se pela **formação e presença de um corpo hemorrágico**, que ganha capacidade crescente de síntese de P4 ao longo de sua duração, determinando concentrações circulantes crescentes de P4 e decrescentes de E2. A fase de **diestro** é a fase mais longa, com uma duração de aproximadamente 13 dias e caracteriza-se pela **presença de um CL no auge de sua plenitude na secreção de P4**, determinando concentrações circulantes altas de P4 e baixas de E2. O **proestro**, com uma duração de aproximadamente 2 a 3 dias, é iniciado pela regressão funcional e estrutural do CL, evento denominado de **luteólise**, e caracteriza-se por concentrações circulantes decrescentes de P4 e crescentes de E2. As fases de proestro e estro são comumente referenciadas como "fase folicular ou estrogênica" e o metaestro e diestro como "fase luteínica ou progesterônica".

No momento da ovulação, que ocorre aproximadamente 12 a 16 horas após o término do estro, observa-se a ruptura da membrana do folículo ovulatório seguida da expulsão do oócito. As células remanescentes do folículo recém ovulado, células da teca e da granulosa, sofrem intensa hiperplasia e hipertrofia dando origem às células esteroideogênicas luteais, que são responsáveis pela produção de P4 no CL durante as fases de metaestro e diestro. A organização dos resquícios foliculares para a formação do corpo hemorrágico e, posteriormente, o CL, compreende uma intensa reconstrução vascular, fundamental para dar suporte ao CL. Muitos fatores mitogênicos e angiogênicos medeiam tal remodelação tecidual, denominada de luteogênese. Admite-se que quanto maior o volume luteal, maior seja a produção de P4 e a chance de êxito no estabelecimento da prenhez. Dessa forma, a melhor compreensão dos mecanismos fisiológicos que compreendem a luteogênese e a síntese de P4, tornam-se de grande interesse.

A regressão funcional e estrutural do CL é denominada de luteólise, e caracteriza-se pela diminuição da síntese e secreção de P4. A luteólise é absolutamente necessária para que a fêmea bovina apresente estro aproximadamente 3 dias após a regressão do CL, possibilitando uma nova chance de acasalamento para a fêmea. Em tal contexto, a prostaglandina $F2\alpha$ (PGF 2α) endometrial é reconhecida como o principal agente luteolítico em fêmeas ruminantes, responsável por promover a luteólise e interromper a

síntese de P4 pelo CL. Demonstrou-se que a síntese da PGF2 α endometrial é regulada pela ação dos hormônios ovarianos E2, P4 e ocitocina (OT) e seus respectivos receptores presentes no endométrio.

A cada ciclo estral ocorrem padrões repetitivos e sequenciados que compreendem o crescimento das ondas foliculares, ovulação, desenvolvimento do CL e regressão do CL. O estabelecimento da prenhez rompe esse ciclo recorrente, determinando a ausência da luteólise e do proestro. Para que ocorra êxito no estabelecimento da prenhez, quando ocorre o acasalamento e a fertilização, o conceito deve ser suficientemente competente para produzir moléculas que possam promover o RMP. Quando a prenhez é reconhecida e estabelecida, a permanência do CL e sua síntese de P4 é mantida ao longo da prenhez até, aproximadamente, cinco dias antes do parto, momento em que o CL sofrerá luteólise. O processo de reconhecimento materno da prenhez (RMP) ocorre entre o 14° e 19° dia do ciclo estral (D0 = dia do estro), sendo o interferon-tau (IFN- τ) a principal molécula envolvida em tal reconhecimento nas fêmeas ruminantes. Assim, entre o 14° e 19° dia do ciclo estral, é proclamado o RMP ou a luteólise, caminhos fisiológicos totalmente distintos. Sabe-se que, em fêmeas de corte, durante tal período considerado crítico, de 20 a 40% dos conceitos existentes na cavidade uterina tornam-se incompetentes em promover o RMP, determinando a mortalidade embrionária precoce. Dessa forma, a melhor compreensão dos mecanismos fisiológicos que compreendem tal período crítico, envolvendo a luteólise e o RMP, tornam-se de extremo interesse.

A compreensão dos mecanismos envolvidos na luteogênese, síntese de P4, luteólise e RMP constitui a base das estratégias farmacológicas empregadas nas biotecnologias reprodutivas que objetivam o incremento nas taxas de prenhez e a redução da mortalidade embrionária precoce.

2 FORMAÇÃO DO CORPO LÚTEO - LUTEOGÊNESE

O CL é um órgão endócrino transitório, que inicia seu desenvolvimento no ovário imediatamente após a ovulação, com uma vida útil de, aproximadamente, 18 dias na fêmea bovina, compreendendo a fase do metaestro e do diestro. O termo "corpo lúteo" deriva de "*corpus luteum*" que significa "corpo amarelo", coloração conferida pela presença de grande quantidade de colesterol e β -caroteno existente no CL. Após a ovulação, o crescimento do CL é extremamente rápido, decorrente da acelerada proliferação celular resultante de sucessivas mitoses que ocorrem em uma velocidade que se assemelha à de um tecido tumoral. O CL cresce rapidamente de 2 a 3 dias após a ovulação, quando se evidencia uma ampla reconstrução vascular. O tecido luteal é constituído por tipos celulares bastante heterogêneos, que incluem as células esteroideogênicas luteais pequenas - *small luteal cells* - (SLC), que se originam das células da teca do folículo recém-ovulado; as células esteroideogênicas luteais grandes - *large*

luteal cells (LLC), que se originam das células da granulosa do folículo recém-ovulado; as células endoteliais que formam os capilares sanguíneos; os fibroblastos; as células musculares lisas; e as células pertencentes ao sistema imune (monócitos, macrófagos, leucócitos e linfócitos T). Existem evidências de que algumas SLC são transformadas em LLC em CL maduros. A síntese e secreção de P4 é realizada pelas LLC e SLC. Os fibroblastos estão associados aos componentes estruturais do CL. Os macrófagos têm uma importante participação fagocítica na resposta imune que envolve a regressão do CL, especialmente na luteólise estrutural.

As SLC e LLC constituem cerca de 30% de todas as células do CL. As **SLC são derivadas das células teca** e caracterizam-se por medirem menos de 20µm, secretarem baixas quantidades de P4, por apresentarem receptores para hormônio luteinizante (LH) e serem responsivas ao mesmo. As **LLC são originárias das células da granulosa** e medem mais de 20µm, produzem altas quantidades de P4 e não são responsivas aos estímulos do LH por não apresentarem receptores para o LH. Além disso, o CL também é constituído por uma rede vascular exuberante, de forma que a maioria das células esteroidogênicas posicionam-se adjacentes a um ou mais capilares. Na fêmea bovina, as células endoteliais vasculares podem representar até 50% de todas as células CL.

Na ovulação, com a ruptura do folículo pré-ovulatório e expulsão do oócito, a parede de tal folículo é colapsada e sua cavidade invadida por sangue e linfa derivados do rompimento dos vasos sanguíneos. Imediatamente após a ovulação, as células foliculares remanescentes da teca e granulosa cessam a produção de E2 e iniciam uma produção crescente de P4. Para tanto, sofrem uma intensa remodelação. Tal processo, denominado de luteinização, compreende mudanças morfológicas e bioquímicas nas células remanescentes. As mudanças morfológicas referem-se à multiplicação, diferenciação e reorganização das células remanescentes, onde inicia-se uma hiperplasia (multiplicação celular) das células remanescentes da teca, fibroblastos e células endoteliais, e uma hipertrofia (aumento de volume celular) das células remanescentes da teca e da granulosa. Tais modificações determinam que as células da teca e granulosa sejam transformadas em SLC e LLC, respectivamente, ambas responsáveis pela síntese de P4 no CL. As mudanças bioquímicas referem-se ao término da produção de E2 e ao início da síntese de P4, marcadas por alterações no perfil das enzimas existentes nas células modificadas. Esse conjunto de eventos dará origem, inicialmente, à estrutura denominada corpo hemorrágico. Tal processo de remodelação celular e bioquímica é acompanhado por uma intensa reconstrução vascular. Segundo Berisha *et al.* (2016), tais modificações, pertinentes à essa reorganização, são regidas por um conjunto de fatores angiogênicos e mitogênicos, especialmente o fator de crescimento endotelial vascular tipo A (VEGF-A), B (VEGF-B), C (VEGF-C) e D (VEGF-D), o fator de crescimento dos fibroblastos tipo 1 (FGF-1) e 2 (FGF-2), o fator de crescimento semelhante à

insulina tipo 1 (IGF1) e 2 (IGF2), a angiopoietina tipo 1 (ANPT-1) e 2 (ANPT-2) e o fator indutor da hipóxia (HIF). Os VEGF e FGF estimulam a vascularização inicial do CL. A expressão de IGF1 e IGF2 é maior durante a fase luteínica inicial, entre os dias 1 e 4 do ciclo estral de bovinos. A ANPT-1 mantém a estabilidade dos vasos sanguíneos, enquanto a ANPT-2 tem efeito contrário, e a ação depende da relação da ANPT-1 e da ANPT-2 existente no tecido. Quanto à tal relação entre ambas, durante a formação e manutenção do CL, prevalece a ANPT-1, e, durante a luteólise, a ANPT-2. O HIF, embora com denominação de conotação negativa, ativa genes envolvidos na angiogênese. Deve-se salientar que todos os fatores acima mencionados também são encontrados em grande quantidade no folículo pré-ovulatório, justamente para garantir a sua abundante vascularização. Nos 5 primeiros dias subsequentes à ovulação, tais fatores são mantidos em grande quantidade na estrutura remanescente do folículo recém-ovulado, possibilitando a reconstrução vascular do corpo hemorrágico.

O aumento pré-ovulatório do LH que antecede a ovulação, secretado pela adenohipófise, é essencial para a luteinização das células foliculares. A formação e a manutenção do CL são dependentes do hormônio LH. Na presença do CL, a liberação do LH caracteriza-se por pulsos de baixa frequência e alta amplitude. Na ausência do CL, o padrão de liberação do LH é completamente modificado, para pulsos de alta frequência e baixa amplitude. O LH participa da luteinização induzindo a expressão de vários genes que darão origem a fatores regulatórios imprescindíveis à reorganização do tecido luteal. Para garantir uma adequada função luteal, tornam-se imprescindíveis pulsos de LH com baixa frequência e alta amplitude.

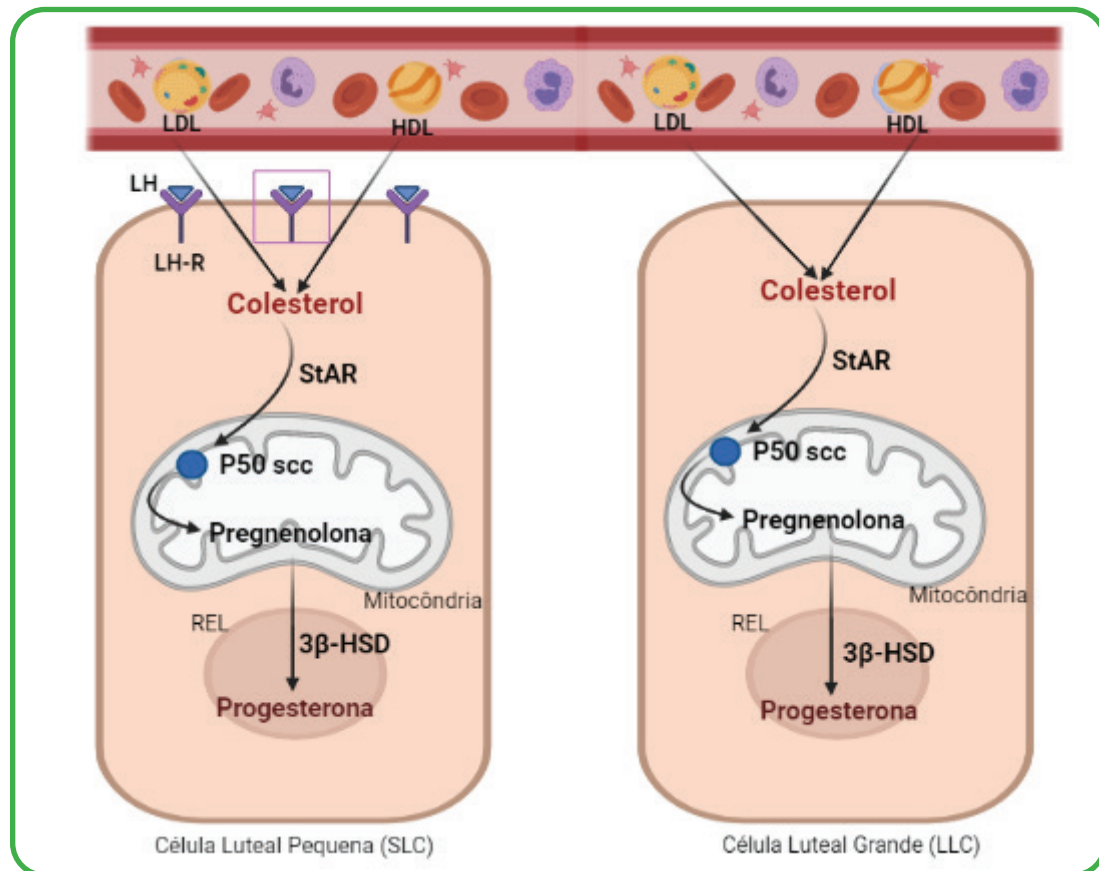
3 PRODUÇÃO DE P4 PELO CORPO LÚTEO

O CL é uma glândula transitória, cuja principal função é a produção de P4 pelas SLC e LLC. O CL tem como principal função a síntese e secreção de P4, função iniciada no metaestro, e que ganha total plenitude do meio para o fim do diestro. A cada ciclo estral, a P4, secretada na circulação sistêmica, promove a quiescência da musculatura miometrial, o desenvolvimento das glândulas endometriais e a preparação de um microambiente uterino apropriado para o desenvolvimento do conceito.

O principal substrato para a produção de P4 é o colesterol, que é sintetizado no fígado e transportado na forma de lipoproteínas para todos os tecidos esteroideogênicos. As lipoproteínas são a principal fonte de colesterol para as células luteais e podem ser de alta - *high density lipoprotein* (HDL) ou baixa densidade - *light density lipoprotein* - (LDL). A característica hidrofóbica do colesterol dificulta sua livre passagem em ambientes hidrofílicos como o citoplasma, dificultando o seu movimento dentro da célula. Assim, o trânsito do colesterol dentro da célula se torna altamente dependente de proteínas transportadoras específicas, especialmente a *steroidogenic acute regulatory*

protein (STAR) e a *sterol carrier protein-2* (SCP-2). A STAR transporta o colesterol do citosol para a membrana mitocondrial interna, e a SPC-2 interage com o citoesqueleto celular, facilitando seu transporte no citosol da célula. Após a ovulação, as células remanescentes da teca e da granulosa, agora transformadas em SLC e LLC, apresentam um aumento da expressão das enzimas que convertem colesterol em P4 e das proteínas transportadoras de colesterol. A síntese de P4 compreende um conjunto de etapas sequenciais: A) o LDL, produzido no fígado, constitui a maior fonte de disponibilidade de colesterol na corrente sanguínea para a produção dos hormônios esteroides no CL; B) o LDL se liga a receptores específicos na membrana celular das SLC e LLC, especialmente a apoproteína D; C) o LDL ligado ao seu receptor entra na célula através de um mecanismo de endocitose; D) no citosol, o LDL contido em vesículas, se combina com o lisossomos (pequena vesículas contendo enzimas, especificamente esterases); E) a fusão dos lisossomos com as vesículas contendo LDL faz com que o LDL seja dissociado, liberando moléculas de colesterol; F) o colesterol é liberado para o citosol da célula sendo disponibilizado como substrato para a esteroidogênese. Na continuidade, conforme ilustrado na **Figura 1**, G) na membrana mitocondrial interna, o colesterol é convertido pela enzima *side chain cleavage* (P-450scc) em pregnenolona; H) agora no retículo endoplasmático liso, a pregnenolona é convertida pela enzima 3- β -hidroxi-desidrogenase- Δ 4,5-isomerase (3 β -HSD) em P4. Ambas as enzimas necessárias para a síntese de P4 estão presentes nas LLC e SLC, conferindo total autonomia a cada tipo celular para a produção de P4.

Figura 1. Desenho esquemático ilustrando a biossíntese de progesterona (P4) nas SLC e LLC.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Isabella Rio Feltrin.

Nota: a) o HDL e, especialmente, o LDL entram na célula por um mecanismo de endocitose; b) o colesterol é disponibilizado no citosol; c) o colesterol é transportado para o interior da membrana mitocondrial pela proteína transportadora de colesterol - STAR; d) na mitocôndria, o colesterol é convertido à pregnenolona pela ação da enzima citocromo P450scc; e) a pregnenolona é transportada ao retículo endoplasmático liso, onde, pela ação da enzima 3β-HSD, é convertida a P4.

As LLC representam minoria na porcentagem de células esteroidogênicas totais, entretanto, se responsabilizam por, aproximadamente, 80% da produção total de P4 pelo CL. As SLC representam a maioria na porcentagem de células esteroidogênicas totais, entretanto, se responsabilizam por, aproximadamente, 20% da produção total de P4 pelo CL. A STAR possui dois sítios de fosforilação, um fosforilado pela proteína kinase A (PKA) e outro pela proteína kinase C (PKC). A STAR fosforilada pela PKA aumenta sua agilidade no referido transporte, entretanto, a STAR fosforilada pela PKC tem sua agilidade no transporte diminuída, efeitos marcadamente opostos. Nas SLC, o LH estimula a PKA, que fosforila a STAR, agilizando, imediatamente, o transporte do colesterol para a membrana mitocondrial interna, promovendo a síntese de P4. Nas LLC, os mecanismos que regulam a síntese de P4 são menos conhecidos, considerando que essas células não possuem receptores

para o LH, mas apresentam receptores na membrana para o hormônio de crescimento (GH), IGF1 e prostaglandina E2 (PGE2). Acredita-se que o GH atuaria nas LLC estimulando a síntese de IGF1 que, por uma ação parácrina e autócrina, promoveria uma maior síntese de P4. Sugere-se que os efeitos do GH, IGF1 e PGE2 nas LLC sejam semelhantes à ação do LH nas SLC, ações que, em conjunto, promovem um aumento na síntese de P4. Estudos recentes de Plewes *et al.* (2020), demonstraram o envolvimento de uma nova proteína presente nas mitocôndrias, a *Dynamin-related protein 1* (DRP1), como um mediador chave no compartimento mitocondrial necessário para a biossíntese de P4 induzida pelo LH nas SLC, onde o LH modularia a fosforilação e atividade da DRP1, favorecendo a síntese de P4.

A cada ciclo estral, a P4, sintetizada e secretada em grande quantidade no diestro, prepara o microambiente uterino para que o embrião, e, posteriormente, o conceito, possa se desenvolver e estabelecer a prenhez. No miométrio, a P4 promove o decréscimo na captação de cálcio extracelular por promover uma "*downregulation*" na expressão dos genes que regulam os canais dependentes de cálcio, e, também, previne a síntese de receptores α -adrenérgicos, que estimulados pelo E2, promovem contrações no miométrio. Tais ações associadas garantem o relaxamento do miométrio durante a fase luteal e na prenhez. No endométrio, a P4 inibe a proliferação de células da mucosa uterina e estimula o desenvolvimento das glândulas endometriais, promovendo o aumento na síntese e secreção de proteínas que irão constituir o ambiente uterino. Esse conjunto de secreções elaboradas pelo endométrio e lançadas na luz uterina é denominado histotrofo. O histotrofo será o único elemento nutritivo para o embrião e posterior conceito até que se estabeleça a placentação. Maiores concentrações circulantes de P4 no diestro foram associadas positivamente à maior taxa de prenhez e sobrevivência embrionária, justamente por favorecer o ambiente uterino e o desenvolvimento do conceito, assim favorecendo o reconhecimento materno fetal. A P4 também suprime uma resposta imune materna em resposta aos antígenos fetais, gerando condições favoráveis para que a prenhez seja estabelecida.

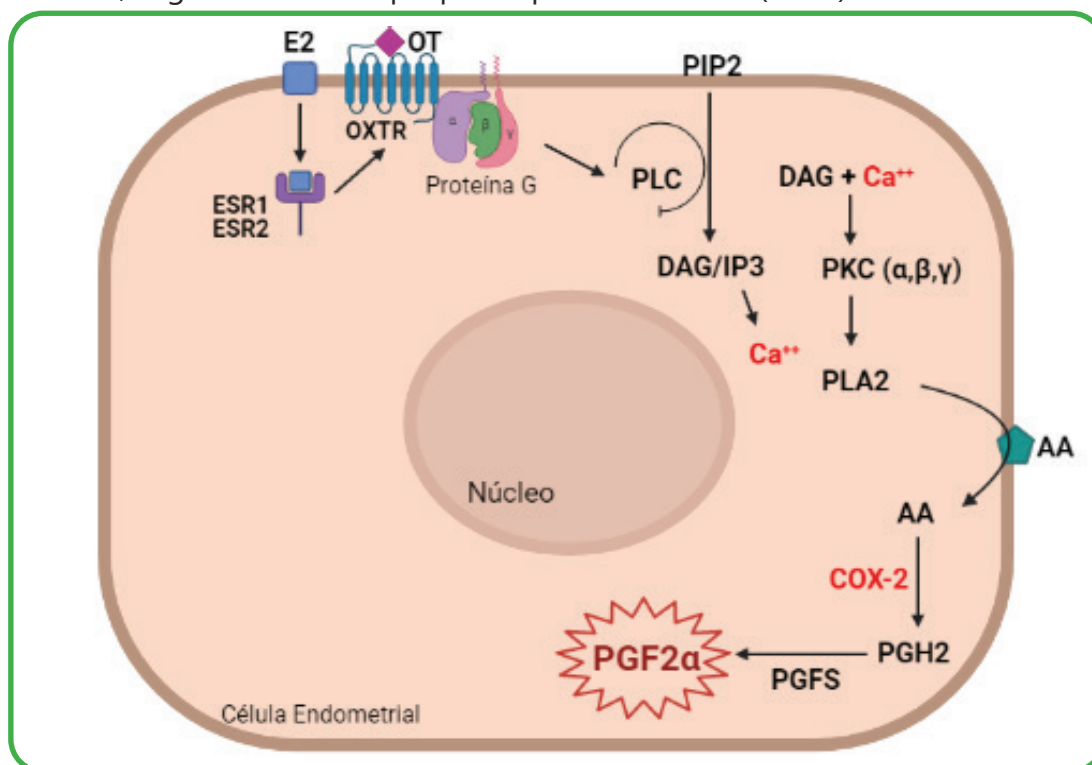
4 SÍNTESE DE PGF2 α ENDOMETRIAL

A PGF2 α , considerada um composto eicosanóide bioativo derivado de ácidos graxos de 20 carbonos, constitui a principal molécula produzida pelo endométrio responsável pela regressão do CL em fêmeas bovinas. Para a ocorrência da luteólise, a PGF2 α é secretada na forma de múltiplos pulsos (4 a 7 pulsos) de curta duração (3 a 6 horas), ocasionados em um período de 2 a 3 dias, entre o 14º e o 19º dia após o estro, caracterizando uma queda abrupta nas concentrações circulantes de P4 (KINDHAL; LINDELL; EDQVIST, 1981; GINTHER, 2007, 2010c). Em bovinos, demonstrou-se que, para a ocorrência da luteólise completa (P4 < 1 ng/mL) são necessárias três sessões de infusão

de PGF2 α (0,5 mg, via intravenosa, a cada 12 horas), sendo que, após uma única sessão, as concentrações de P4 continuam altas (GINTHER *et al.*, 2009). A P4 e o E2 circulantes, em padrões diferenciados a cada fase do ciclo estral, orquestram a expressão de receptores endometriais de P4 (PR), E2 (ER) e ocitocina (OXTR), todos essenciais na síntese de PGF2 α . Antes do início da síntese de PGF2 α , o endométrio sofre mudanças marcantes na composição de receptores, havendo um decréscimo de PR seguido pelo aumento de ER e na sequência pelo aumento de OXTR, condição que, obrigatoriamente, precede a síntese de PGF2 α . O estímulo exercido pelo E2 na expressão de ER e, especialmente, sobre os OXTR, é passo-chave para a ativação da via de síntese de PGF2 α . A ligação da OT aos OXTR, localizados na membrana da célula endometrial, aciona uma complexa e coordenada via de síntese de PGF2 α . Durante a luteólise, os pulsos de ocitocina são prosseguidos pelos pulsos de PGF2 α . A OT, primeiramente liberada pela neurohipófise, aciona o "start" na síntese de PGF2 α endometrial. Na sequência, a PGF2 α sintetizada no endométrio chega ao CL e estimula as LLC a liberarem OT, essa agora se liga aos OXTR nas células endometriais, estimulando ainda mais a liberação de PGF2 α .

Conforme representado na **Figura 2**, o modelo do mecanismo de síntese da PGF2 α foi descrito por Burns *et al.* (1997). Nesse modelo, os OXTR fazem parte da família de receptores acoplados à proteína G, cuja ativação estimula a fosfolipase C (PLC), que atua na membrana celular hidrolisando fosfatidil-inositol bisfosfato (PIP2) em inositol 1,4,5 trifosfato (IP3) e 1,2 diacilglicerol (DAG). O IP3 causa a liberação do Ca²⁺ armazenado no retículo endoplasmático, aumentando as concentrações de Ca²⁺ no citosol. Algumas enzimas componentes da cascata de síntese de PGF2 α , tais como proteínas quinases (PKCs) e fosfolipases A (PLAs), são dependentes do Ca²⁺ para sua ativação. Assim, o DAG, na presença de Ca²⁺, ativa sequencialmente as proteínas quinases (PRKC α , PRKC β , PRKC γ) e a fosfolipase A2 (PLA2). A PLA2 cliva o ácido araquidônico (AA) da membrana plasmática e o AA livre no citosol é convertido pela ação da ciclooxygenase 2, COX-2 (PTGS2), à prostaglandina reduzida (PGH2). A PGH2, através da ação de enzimas sintases - PGFS (AKR1B1, AKR1C1, AKR1C2 e AKR1C3), é convertida finalmente à PGF2 α .

Figura 2. Esquema ilustrando a biossíntese de PGF2 α nas células endometriais bovinas, segundo modelo proposto por Burns *et al.* (1997).

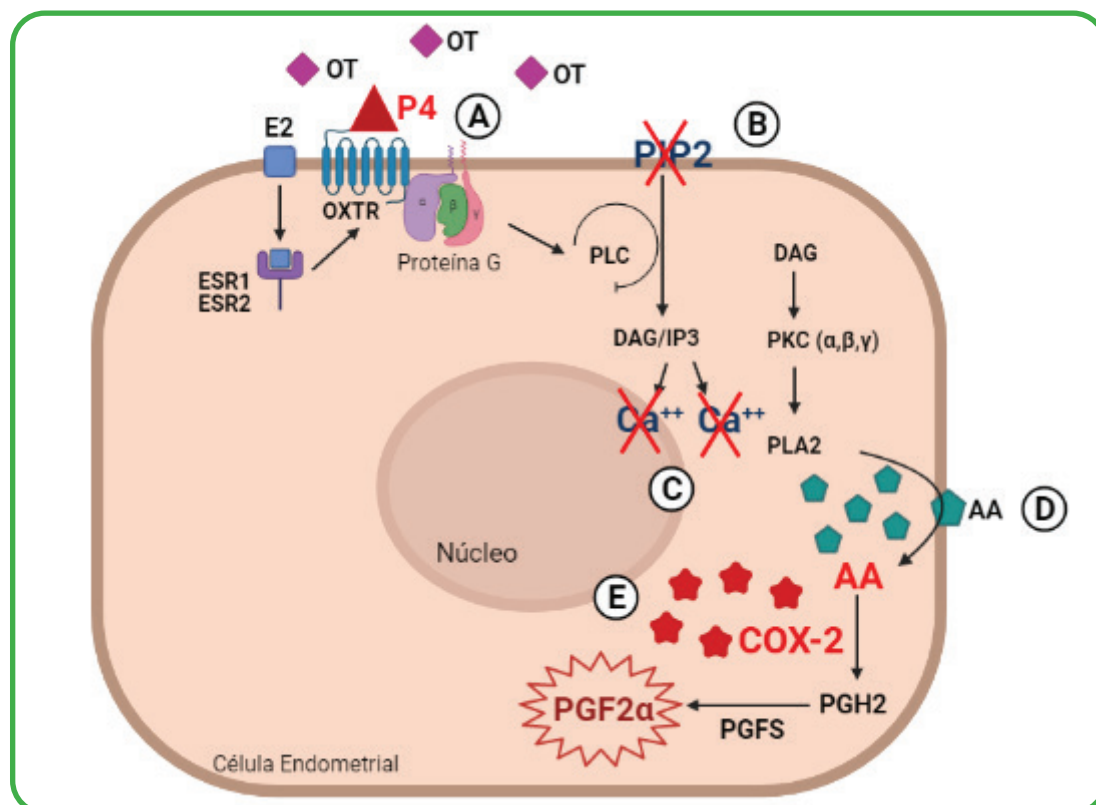


Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Isabella Rio Feltrin.

Nota: A OT se liga ao receptor (OXTR) e esse, associado à proteína G, ativa a fosfolipase C (PLC), que cliva o fosfatidilinositol bifosfato (PIP₂) em inositol trifosfato (IP₃) e diacilglicerol (DAG). O IP₃ se liga a receptores específicos no retículo endoplasmático, permitindo a liberação de cálcio (Ca⁺⁺) no citosol. O DAG e o Ca⁺⁺ ativam a proteína quinase C (PKC). A PKC juntamente com o Ca⁺⁺ fosforila a fosfolipase A₂ (PLA₂) que cliva o ácido araquidônico (AA). O AA livre é convertido a prostaglandina H₂ (PGH₂) pela enzima ciclooxigenase 2 (COX-2). A PGH₂ é convertida, pela ação da PGF sintase (PGFS), à prostaglandina F₂ α (PGF₂ α).

No diestro inicial, observa-se uma alta concentração de PR e uma baixa concentração de ER e OXTR no endométrio. Conforme ilustrado na **Figura 3**, durante o início e meio do diestro, a P4 se liga aos OXTR com alta afinidade, impedindo que a OT consiga se ligar ao seu receptor, impedindo a ligação da OT ao OXTR, promovendo uma supressão da produção de IP₃ e uma mobilização de cálcio, necessários para ativar a síntese de PGF₂ α . Após a ovulação, a exposição do útero a P4 durante o metaestro e o diestro favorece o acúmulo de AA e COX-2 no interior da célula endometrial até o início da síntese de PGF₂ α , requerida para a luteólise (fase de proestro).

Figura 3. Esquema ilustrando o efeito causado pela P4 sobre os receptores endometriais de OT (OXTR) nas células endometriais.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Isabella Rio Feltrin.

Nota: A) A P4 se liga aos OXTR com alta afinidade, impedindo que a OT consiga se ligar ao seu receptor; B) Na ausência da ligação da OT ao OXTR, há uma supressão da produção de IP3; C) mobilização de cálcio que são necessários para ativar a resposta celular; D) Após a ovulação, a exposição do útero a P4 promove o acúmulo de ácido araquidônico (AA); e E) ciclooxigenases (COX-2) no interior da célula endometrial.

Em um estudo conduzido por Thatcher *et al.* (1986), após vacas terem recebido a aplicação de E2 no dia 15 do ciclo estral, houve o desencadeamento da luteólise, seguida da manifestação de estro. Pugliesi *et al.* (2011) administraram doses crescentes de E2 (0.01, 0.05 ou 0.1 mg) no dia 14 após a ovulação e observaram a elevação da amplitude e da intensidade do pico de PGF2α de forma dose dependente. Ginther *et al.* (2007, 2010a, 2010b, 2010c, 2010d) administraram, em vacas, 0,1 mg de E2 no dia 14 após a ovulação e verificaram aumento na liberação de PGF2α e uma luteólise prematura. Diante desses achados, assume-se que o E2 exerce papel na luteólise que, certamente, irá além da sua conhecida atuação nos OXTR. Entretanto, tais mecanismos, ainda não elucidados, têm sido alvo de investigações desse grupo durante duas décadas. Verificamos que o cálcio é um importante modulador na ação do E2 na via de síntese de PGF2α. Membrive *et al.* (2014) verificaram que o acréscimo de cálcio ionóforo (CI) ao cultivo de explantes endometriais, coletados no dia 17 do ciclo estral de vacas previamente tratadas *in vivo* com E2, aumenta a síntese de PGF2α. Os mesmos autores também verificaram tal

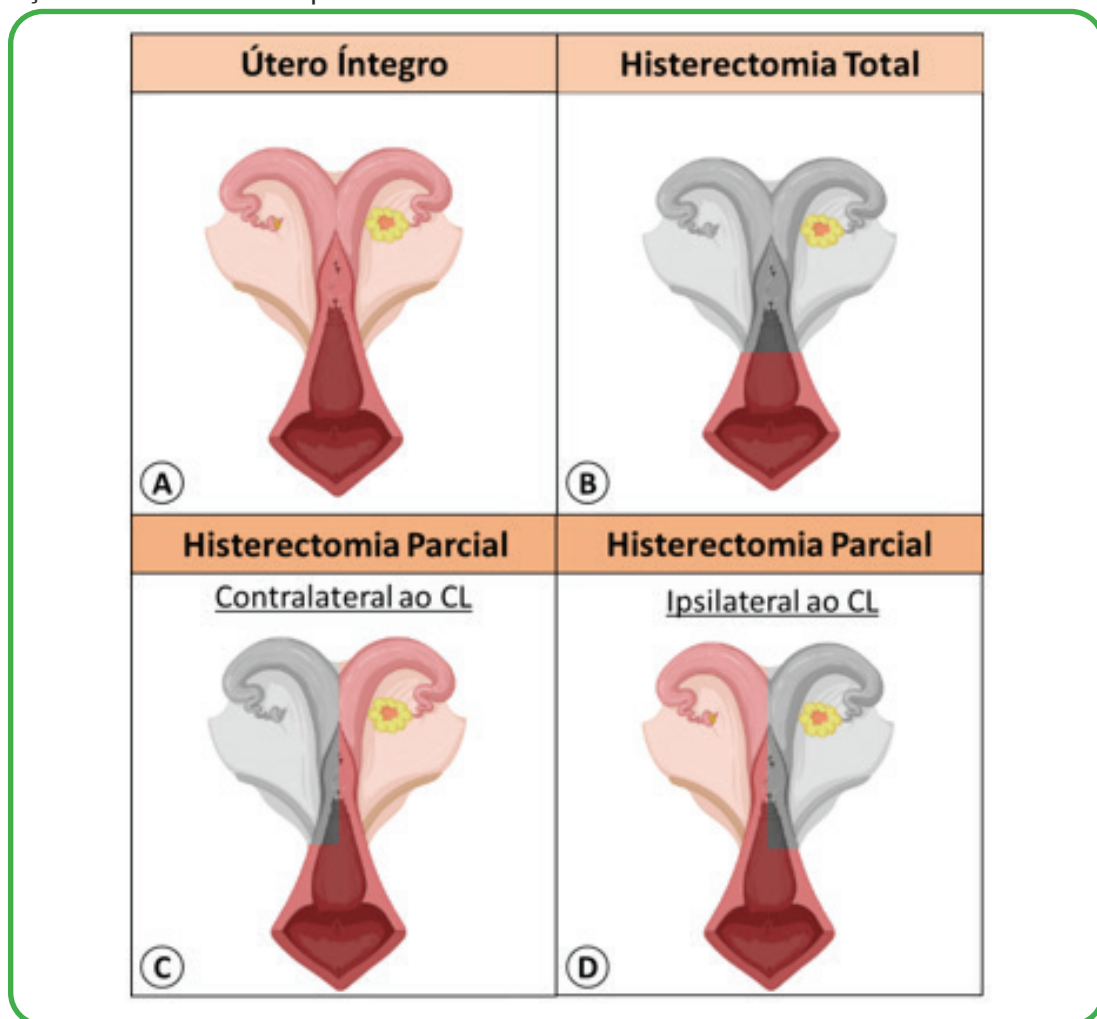
efeito em células endometriais bovinas (BEND) submetidas ao tratamento *in vitro* com E2 e CI. Membrive *et al.* (2014) sugerem um modelo, em que o E2 estimularia a síntese das proteínas PKC e PLA2, ambas dependentes de cálcio e fundamentais para a síntese de PGF2 α .

5 MECANISMO DE TRANSPORTE DA PGF2 α DO ENDOMÉTRIO PARA O CORPO LÚTEO

Conforme ilustrado na **Figura 4**, Mapletoft e Ginther (1975), ao experimentalmente realizarem a histerectomia unilateral em ovelhas, observaram: A) no útero mantido com ambos os cornos uterinos, a vida útil do CL permaneceu a mesma de um ciclo estral normal (aproximadamente 18 dias); B) na histerectomia total (remoção de ambos os cornos uterinos), não ocorreu a regressão do tecido luteal; C) na histerectomia parcial (remoção do corno uterino do lado oposto ao CL), a vida útil do CL permaneceu a mesma de um ciclo estral normal (aproximadamente 18 dias); e D) na histerectomia parcial (remoção do corno uterino do mesmo lado que o CL), não ocorreu a luteólise. A partir dessas observações, constatou-se que a PGF2 α exerce um efeito local entre cada corno uterino e o seu ovário ipsilateral (do mesmo lado). A PGF2 α produzida pelas células endometriais dos cornos uterinos é transportada ao ovário ipsilateral por uma **via de transporte por contracorrente** da veia uterina para a artéria ovariana. Esse sistema de troca por “contracorrente” envolve dois vasos sanguíneos que se encontram intimamente associados, ou seja, a artéria ovariana se encontra enovelada em torno da veia uterina, conforme representado na **Figura 5**. Dessa forma, a PGF2 α produzida no corno uterino sai da veia uterina e entra na artéria ovariana por difusão passiva, e chega ao CL ipsilateral ao corno uterino que a produziu. Em fêmeas bovinas, foi reportada a existência de uma proteína transportadora de PGF2 α (PGT) que age mediando o transporte da PGF2 α do endométrio para o ovário. O RNAm para PGT foi expresso no endométrio, miométrio e plexo útero-ovário (PUO) ao longo do ciclo estral. No endométrio, o grau de expressão de RNAm dessa proteína mostrou-se variável durante o ciclo estral, alcançando a máxima expressão entre os dias 16 e 18 do ciclo estral, momento que coincide com a luteólise.

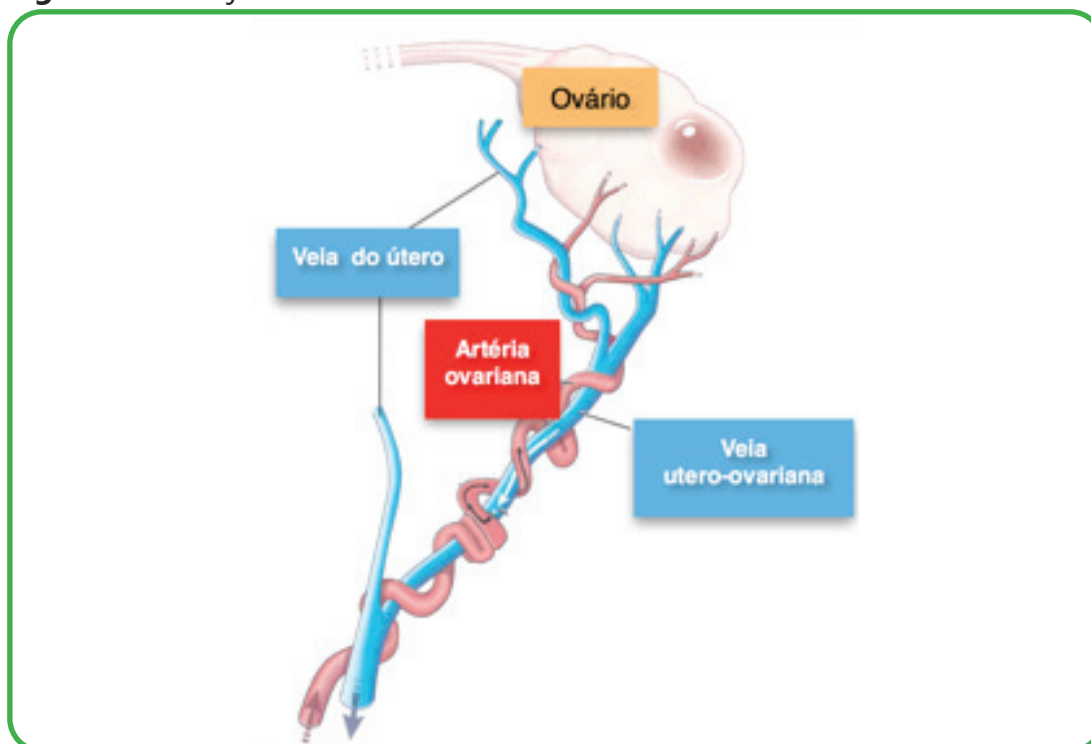
O transporte da PGF2 α diretamente do corno uterino para o ovário ipsilateral, sem a passagem pela circulação periférica, impede que a PGF2 α seja imediatamente metabolizada pelos pulmões, visto que em apenas uma passagem pelos pulmões a metabolização da PGF2 α é de 90% em bovinos (LEE *et al.*, 2010), transformando-se em 13,14-dihydro-15-keto-PGF2 α (PGFM). Análogos da PGF2 α (Sincrocio®, Ciosin®, Cioprostinn®) vêm sendo amplamente utilizados comercialmente para a sincronização do estro em vacas, cujos efeitos geram a regressão do CL, determinando o início de um novo ciclo estral.

Figura 4. Esquema ilustrando a relação entre a produção de $\text{PGF2}\alpha$ e sua ação no ovário e CL ipsilateral.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Isabella Rio Feltrin.

Figura 5. Arranjo vascular entre a veia útero-ovariana e a artéria ovariana.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Isabella Rio Feltrin.

6 EFEITOS DA PGF2 α ENDOMETRIAL NO CORPO LÚTEO

Na ausência do acasalamento e/ou fertilização ou na incapacidade do conceito em sinalizar sua existência no útero materno, o CL deve regredir, possibilitando um novo estro. A regressão luteal, que ocorre durante o 14º e 19º dia do ciclo estral, é caracterizada pela diminuição na produção de P4 (luteólise funcional) seguida por uma diminuição no tamanho do CL (luteólise estrutural) decorrente da apoptose. Estudos de Ford (1981), em vacas, verificaram uma drástica redução do fluxo sanguíneo no CL durante a regressão do CL. Nesse contexto, a luteólise pode ser subdividida em luteólise funcional e estrutural.

Luteólise Funcional: A luteólise funcional caracteriza-se pela redução da produção de P4 e inicia-se antes de serem observadas alterações morfológicas na integridade das células luteais. Baseando-se nas concentrações circulantes de P4, segundo Ginther *et al.* (2007, 2010c, 2010d), a luteólise funcional pode ser subdividida em três períodos. A "pré-luteólise" caracteriza-se pelo período que antecede o início da diminuição da concentração de P4; o "período luteolítico" é caracterizado pela acentuada diminuição da concentração plasmática de P4; e o período "pós-luteolítico" caracteriza-se pela concentração circulante de P4 menor que 1 ng/mL. Estima-se que todo o processo de **luteólise funcional possua duração média de**

aproximadamente 30 horas. A diminuição da concentração de P4 durante a luteólise funcional em bovinos não ocorre de forma contínua. Em novilhas, no decorrer do período luteolítico, ocorrem aumentos ou flutuações na concentração de P4. Através da ultrassonografia com Doppler, verificou-se que o fluxo sanguíneo intra-luteal diminui simultaneamente com a diminuição da concentração de P4, sugerindo que a diminuição da perfusão sanguínea está relacionada à luteólise funcional em vacas. De acordo com estudos recentes, as condições de hipóxia diminuem a produção de P4 nas LLC e SLC, ao inibir a expressão e a atividade da enzima P450scc (NISHIMURA *et al.*, 2006; HASEGAWA *et al.*, 2019). Tais estudos permitem sugerir que a hipóxia inibe o processo de clivagem do colesterol pela falta de oxigênio necessário em tal processo. A hipóxia também gera espécies reativas de oxigênio nas mitocôndrias, que as danificam. Tais danos às mitocôndrias podem ser uma das razões para a inibição da atividade da enzima P450scc. A PGF2 α encaminhada ao CL estimula, nas células endoteliais dos vasos sanguíneos que irrigam periferia do CL, a liberação de óxido nítrico (ON), induzindo inicialmente uma vasodilatação das arteríolas localizadas na periferia do CL. Tal circunstância, observada imediatamente antes da luteólise, possibilita a chegada de maior quantidade de PGF2 α à região periférica do CL. Na sequência, a PGF2 α se liga a receptores nas células endoteliais dos vasos sanguíneos de todo o CL (região periférica e central), onde estimula a síntese de endotelina-1 (ET-1) e angiotensina-II (ANG-II), ambas potencialmente vasoconstritoras. Nesse momento, também se observa uma redução na liberação de ON, diminuindo sua ação vasodilatadora. Assim, a diminuição de ON e o aumento de ET-1 e ANG-II são eventos necessários para o desencadeamento da falência vascular no CL, determinando uma drástica redução do suprimento de substratos energéticos, oxigênio, LDL e do suporte luteotrófico de LH. Nas SLC e LLC, a PGF2 α inibe a enzima 3-HSD, essencial para a síntese de P4, tornando a síntese de P4 no CL completamente falida. Sabe-se que a PGF2 α estimula nas LLC e SLC a enzima PKC, que se liga à STAR, reduzindo drasticamente sua agilidade no transporte de colesterol à membrana mitocondrial interna. A PGF2 α também promove um rápido decréscimo dos receptores de LH nas SLC e GH nas LLC. A PGF2 α também se liga a receptores presentes nas LLC, onde promove uma grande diminuição na síntese de P4 e um aumento na secreção de OT. A vasoconstrição instalada no CL e a hipóxia estimulam, ainda mais, a secreção de ET-1, que agora determina em uma próxima instância a morte das células endoteliais e esteroidogênicas. Esse processo é acompanhado por um influxo de monócitos, macrófagos e citocinas inflamatórias produzidas por células imunes, dentre elas o fator de necrose tumoral tipo α (TNF α) e o interferon γ (IFT- γ), ambos reconhecidamente citotóxicos e fundamentais na luteólise estrutural.

Luteólise Estrutural: A regressão estrutural do CL caracteriza-se pela diminuição do tamanho e peso da glândula, a qual passa a ser um tecido totalmente regredido dentro do estroma ovariano, passando a ser designado

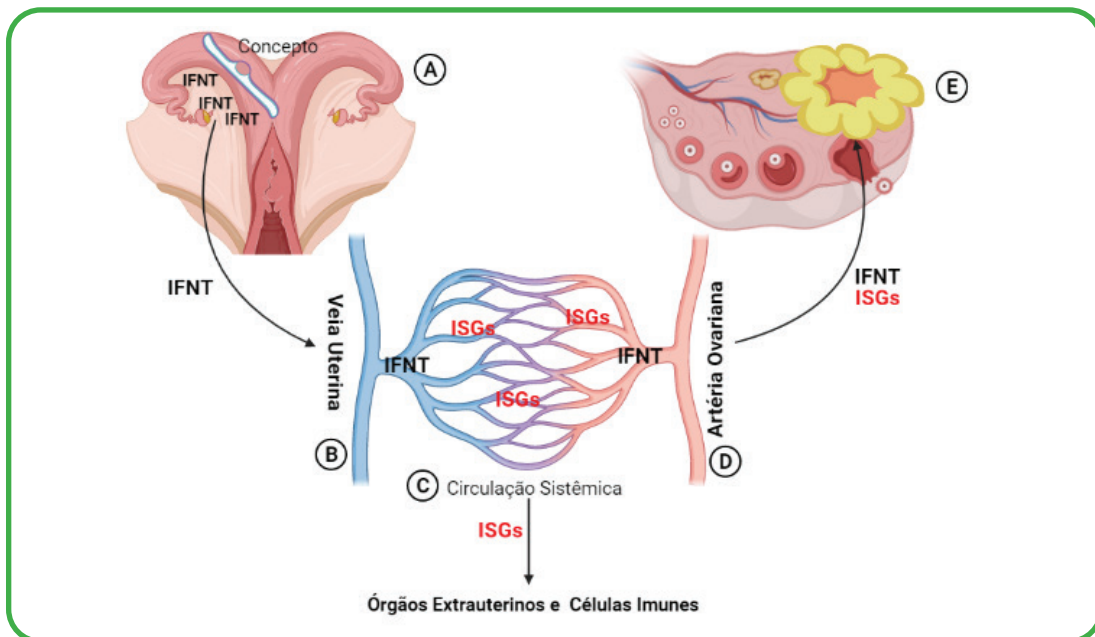
corpo albicans. A involução do CL não se trata apenas da apoptose do tecido luteal, mas da substituição de todo suporte vascular e do tecido conectivo pré-existente por estroma ovariano. Nas fêmeas bovinas, a luteólise estrutural tem início logo após o início da diminuição de P4 plasmática. Entretanto, esse processo pode demorar alguns dias para ser finalizado após o término da luteólise funcional. Diversos agentes têm sido relacionados como mediadores da luteólise estrutural, tais como, macrófagos e diversas células imunes que desempenham papel importante na regressão luteal através da liberação de fatores de necrose tumoral- α (TNF α) e outras citocinas. O desaparecimento das células do CL resulta de um complexo e coordenado processo que envolve a participação de várias células do sistema imune, as quais determinarão a morte celular do tecido, mecanismo conhecido como apoptose. As quimiocinas e citocinas contribuem para a migração de células imunes para o CL, essenciais na regressão estrutural. A involução do CL é uma condição semelhante a um processo inflamatório, em que macrófagos, leucócitos e linfócitos-T migram e se acumulam no CL. As células endoteliais estimuladas pela PGF2 α promovem o recrutamento e a migração de monócitos para o CL. Essa migração é induzida pela proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1), que é uma quimiocina com elevada capacidade de estimular a migração de monócitos, macrófagos e linfócitos T. O TNF α foi indicado como o fator de “gatilho” para a luteólise estrutural, sendo o aumento de TNF α registrado no momento ou após a diminuição das concentrações de P4. As citocinas produzidas, especialmente TNF α e do IFT γ , aumentam as concentrações de PGF2 α e de leucotrienos C4 (LTC4) no CL, ambos indutores da apoptose. As células luteais apresentam receptores específicos do tipo I para o TNF α que, quando ativados, agem junto ao ON modulando a expressão de genes da família BCL-2 e, ainda, estimulando a expressão e a atividade da caspase-3, imprescindíveis no mecanismo apoptótico. Na apoptose, as células sofrem uma fragmentação do núcleo e do DNA, e observa-se a formação de vesículas ligadas à membrana contendo material citoplasmático.

7 RECONHECIMENTO MATERNO DA PRENHEZ (RMP) E BLOQUEIO DA LUTEÓLISE

O RMP é o processo fisiológico através do qual o embrião sinaliza sua presença ao endométrio, prolongando o tempo de vida do CL. A principal molécula envolvida no RMP em fêmeas ruminantes foi identificada em 1987 e denominada de IFN- τ . As isoformas de IFN- τ , expressas somente nas células trofoblásticas do conceito, representam uma das cinco famílias relacionadas como interferons do tipo I. O IFN- τ , constituído por 172 aminoácidos, é secretado no período compreendido entre o D10 e o D22-D25 (D0 = dia do estro). Conforme representado na **Figura 6**, o IFN- τ pode atuar no RMP de maneira parácrina e endócrina. O IFN- τ é produzido pelo conceito existente no lúmen uterino. O IFN- τ alcança a veia uterina e é lançado na circulação sistêmica, onde estimula nas células imunes e, em outros órgãos extrauterinos,

a expressão dos genes estimulados por IFN- τ (ISGs). Entretanto, parte do IFN- τ passa diretamente da veia uterina para a artéria ovariana, alcançando o CL, tecido que estimula localmente a expressão de ISGs, prevenindo a luteólise no CL.

Figura 6. Modelo ilustrando a ação parácrina e endócrina do interferon-tau (IFNT) durante o reconhecimento materno fetal em fêmeas bovinas.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Isabella Rio Feltrin.

Nota: (A) O IFN- τ é produzido pelo conceitoo no lúmen uterino e é liberado na veia uterina (B). Através da veia uterina, o IFN- τ alcança a circulação sistêmica (C) onde estimula nas células imunes e em outros órgãos extrauterinos, a expressão dos genes estimulados por IFN- τ (ISGs). Parte do IFN- τ passa da veia uterina para a artéria ovariana (D) alcança o CL (E), onde também estimula a expressão de ISGs prevenindo a luteólise no CL.

A ação parácrina do IFN- τ inicia-se no momento da sinalização, quando o IFN- τ é secretado no lúmen uterino, onde se liga aos seus receptores endometriais. Assim como os demais tipos de interferon tipo I, nas células endometriais o IFN- τ se liga às duas subunidades que compõem o seu receptor IFNAR (subunidades IFNR1 e IFNR2). Após a ligação do IFN- τ ao seu receptor, é iniciada a cascata de sinalização JAK/STAT, que resulta na formação do fator de transcrição ISGF3, que, por sua vez, é transportado ao núcleo da célula onde inibe a transcrição gênica do ER, e consequentemente, a formação dos OXTRs (ANTONIAZZI *et al.*, 2011; FLEMING *et al.*, 2006). A ausência da interação da OT aos seus receptores, agora limitados, altera a cascata de síntese e diminui os pulsos secretórios de PGF2 α endometrial, inibindo assim a regressão funcional e estrutural do CL.

Embora o mecanismo proposto acima seja o mais difundido, ainda existem contradições acerca do tema na literatura científica. Krishnaswamy

et al. (2009) observaram que regulação do IFN- τ sobre os OXTR não é indispensável para reduzir a liberação pulsátil de PGF2 α , induzida pela OT em cultivos de células endometriais bovinas. Neste estudo, o IFN- τ reduziu em 50% o acúmulo de PGF2 α nas células endometriais em resposta ao estímulo com OT, porém, sem afetar a produção da COX-2. Esses resultados sugerem que o IFN- τ pode, também, atuar no acoplamento das sintases terminais de COX-2 e não somente na “*downregulation*” dos OXTR. A respeito da atuação endócrina do IFN- τ , durante o início da prenhez, o IFN- τ alcança o CL por meio da circulação sanguínea onde estimula a expressão dos genes induzidos por IFN- τ (ISGs), colaborando para o aumento da resistência luteal à ação luteolítica da PGF2 α . Tal mecanismo vem sendo comprovado por uma série de estudos que demonstram a presença de IFN- τ na veia uterina e suas ações em tecidos extrauterinos, principalmente no CL. Antoniazzi *et al.* (2013) realizaram infusões de 200 μ g/dia ou 20 μ g/dia de IFN- τ nas veias uterina ou jugular, respectivamente, por 72 horas a partir do dia dez do ciclo estral, e observaram aumento na concentração de RNAm de ISG15 (conhecido como ISG clássico) no CL. Tal aumento gerou proteção ao CL contra o desafio exógeno de PGF2 α e impediu a diminuição dos níveis séricos de P4. O mecanismo de proteção luteal exercido pelo IFN- τ sobre o CL está relacionado à estabilização de genes envolvidos com a sobrevivência do CL, como o *BCL2-like 1*, *serine/threonine kinase* (AKT), *X-linked inhibitor of apoptosis* (XIAP) e diminuição na concentração do RNAm do receptor de PGF (PTGFR). Como esses genes tornam-se “*down regulados*” durante a luteólise, tais alterações possivelmente são as responsáveis pela maior resistência luteal que o IFN- τ confere durante o início da prenhez.

Além do IFN- τ , a partir do dia 13 de desenvolvimento, os embriões bovinos também secretam prostaglandinas, como a prostaglandina E2 (PGE2) e a prostaglandina I2 (PGI2), que atuam de forma parácrina no endométrio, regulando a expressão de genes e funções importantes para a receptividade uterina, crescimento e desenvolvimento do conceito durante a fase inicial da prenhez. Sabe-se, também, que as PGE2 e PGI2 desempenham papéis importantes na função do CL, considerando que a adição dessas prostaglandinas ao CL aumentou a secreção de P4. A PGE2 tem sido considerada como um fator de proteção para o CL, além de exercer ação luteotrófica (estimula a produção de P4). Demonstrou-se que a administração intrauterina de PGE2 protege o CL da luteólise espontânea ou induzida em fêmeas ruminantes (MAGNESS *et al.*, 1981; REYNOLDS *et al.*, 1981). Além disso, a PGE2 estimula a secreção de P4 através do aumento das concentrações da 3’5’-adenosina-monofosfato-cíclico (AMPC) e pela ativação da proteína quinase A (KOTWICA *et al.*, 2003; AROSH *et al.*, 2004).

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A regressão funcional e estrutural do CL, denominada luteólise, é um

evento absolutamente necessário para que a fêmea bovina apresente estros consecutivos periodicamente, gerando uma nova chance de acasalamento. O CL é uma glândula endócrina transitória, cuja função principal é a produção de P4 pelas células luteais esteroidogênicas. Dentre as ações da P4, a principal delas é a preparação de um microambiente uterino adequado para que o concepto se desenvolva. Assim, uma adequada função luteal é essencial para que o reconhecimento materno-fetal e o estabelecimento da prenhez sejam bem-sucedidos. Nas fêmeas ruminantes, a PGF2 α endometrial é reconhecida como o principal agente luteolítico responsável por promover a luteólise e interromper a síntese de P4 pelo CL. Nesse contexto, para que ocorra a síntese de PGF2 α no endométrio, é necessária a ativação de uma complexa cascata de eventos intracelulares que ocorrem de forma altamente coordenada, tendo como ponto-chave a ativação dos OXTR. Diante do que foi exposto neste capítulo, a melhor compreensão dos mecanismos fisiológicos envolvidos na luteogênese e luteólise são de extremo interesse para a cadeia produtiva dos bovinos, visando a formulação de estratégias anti-luteolíticas, buscando a redução da mortalidade embrionária precoce e, conseqüentemente, um incremento nas taxas de prenhez após o uso das biotecnologias reprodutivas.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro (Processo FAPESP 2016/02805-4 e 2018/24168-1) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas concedidas aos alunos de Pós-Graduação.

REFERÊNCIAS

- ANTONIAZZI, A. Q.; HENKES, L. E.; OLIVEIRA, J. F. C.; HANSEN, T. R. Função do interferon-tau durante o reconhecimento materno da gestação em ruminantes. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 41, n. 1, p. 176-185, 2011.
- ANTONIAZZI, A. Q.; WEBB, B. T.; ROMERO, J. J.; ASHLEY, R. L.; SMIRNOVA, N. P.; HENKES, L. E.; BOTT, R. C.; OLIVEIRA, J. F.; NISWENDER, G. D.; BAZER, F. W.; HANSEN, T. R. Endocrine delivery of interferon tau protects the corpus luteum from prostaglandin F2 alpha-induced luteolysis in ewes. **Biology of Reproduction**, Oxford, v. 88, n. 6, p. 1-12, 2013.
- AROSH, J. A.; BANU, S. K.; CHAPDELAINE, P.; MADORE, E.; SIROIS, J.; FORTIER, M. A. Prostaglandin biosynthesis, transport, and signaling in corpus luteum: a basis for autoregulation of luteal function. **Endocrinology**, [s. l.], v.145, n. 5, p. 2551-2560, 2004.
- BERISHA, B.; SCHAMS, D.; RODLER, D.; PFAFFL, M. W. Angiogenesis in the ovary: the most important regulatory event for follicle and corpus luteum development and function in cows: an overview. **Anatomia, Histologia, Embryologia: journal of veterinary medicine**, [s. l.], v. 45, n. 2, p. 124-130, 2016.
- BURNS, P. D.; GRAF, G. A.; HAYES, S. H.; SILVIA, W. J. Cellular mechanisms by which oxytocin stimulates uterine PGF2 α alpha synthesis in bovine endometrium: roles

of phospholipases C and A2. **Domestic Animal Endocrinology**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 181-191, 1997.

FLEMING, J. G. W.; SPENCER, T. E.; SAFE, S. H.; BAZER, F. W. Estrogen regulates transcription of the ovine oxytocin receptor gene through GC-Rich SP1 promoter elements. **Endocrinology**, [s. l.], v. 147, n. 2, p. 899-911, 2006.

FORD, S. P.; CHENAULT, J. R. Blood flow to the corpus luteum-bearing ovary and ipsilateral uterine horn of cows during the oestrous cycle and early pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, [s. l.], v. 62, n. 2, p. 555-562, 1981.

GINTHER, O. J.; ARAUJO, R. R.; PALHAO, M. P.; RODRIGUES, B. L.; BEG, M. A. Necessity of sequential pulses of prostaglandin F2 α for complete physiologic luteolysis in cattle. **Biology of Reproduction**, Oxford, v. 80, n. 4, p. 641-648, 2009.

GINTHER, O. J.; SHRESTHA, H. K.; BEG, M. A. Circulating hormone concentrations within a pulse of a metabolite of prostaglandin F2 α during preluteolysis and early luteolysis in heifers. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 122, n. 3-4, p. 253-258, 2010a.

GINTHER, O. J.; SHRESTHA, H. K.; FUENZALIDA, M. J.; BEG, M. A. Stimulation of pulses of 13,14-dihydro-15-keto-PGF2 α (PGFM) with estradiol-17 β and changes in circulating progesterone concentrations within a PGFM pulse in heifers. **Theriogenology**, [s. l.], v. 74, n. 3, p. 384-392, 2010b.

GINTHER, O. J.; SHRESTHA, H. K.; FUENZALIDA, M. J.; SHAHIDUZZAMAN, A. K.; BEG, M. A. Characteristics of pulses of 13,14-dihydro-15ketoprostaglandin F2 α before, during, and after spontaneous luteolysis and temporal intrapulse relationships with progesterone concentrations in cattle. **Biology of Reproduction**, Oxford, v. 82, n. 6, p. 1049-1056, 2010c.

GINTHER, O. J.; SHRESTHA, H. K.; FUENZALIDA, M. J.; SHAHIDUZZAMAN, A. K. M.; HANNAN, M. A.; BEG, M. A. Intrapulse temporality between pulses of a metabolite of prostaglandin F2 α and circulating concentrations of progesterone before, during, and after spontaneous luteolysis in heifers. **Theriogenology**, [s. l.], v. 74, n. 7, p. 1179-1186, 2010d.

GINTHER, O. J.; SILVA, L. A.; ARAUJO, R. R.; BEG, M. A. Temporal associations among pulses of 13,14-dihydro-15-keto-PGF2 α , luteal blood flow, and luteolysis in cattle. **Biology of reproduction**, Oxford, v. 76, n. 3, p. 506-513, 2007.

HASEGAWA, H.; NISHIMURA, R.; YAMASHITA, M.; YAMAGUCHI, T.; HISHINUMA, M.; OKUDA, K. Effect of hypoxia on progesterone production by cultured bovine early and mid luteal cells. **The Journal of Reproduction and Development**, [s. l.], v. 65, n. 1, p. 67-72, 2019.

KINDHAL, H.; LINDELL, J. O.; EDQVIST, L. E. Release of prostaglandin F2 α during oestrus cycle. **Acta Veterinaria Scandinavica**, [s. l.], v. 77, n. sup., p.143-158, 1981.

KOTWICA J.; SKARZYNSKI, D.; MLYNARCZUK, J.; REKAWIECKI, R. Role of prostaglandin E2 in basal and noradrenalineinduced progesterone secretion by the bovine corpus luteum. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, [s. l.], v. 70, n. 3-4, p. 351- 359, 2003.

KRISHNASWAMY, N.; DANYOD, G.; CHAPDELAINE, P.; FORTIER, M. A. Oxytocin receptor down-regulation is not necessary for reducing oxytocin-induced

prostaglandin F2 α accumulation by interferon- τ in a bovine endometrial epithelial cell line. **Endocrinology**, [s. l.], v. 150, n. 2, p. 897-905, 2009.

LEE, J.; MCCracken, J. A.; BANU, S. K.; RODRIGUEZ, R.; NITHY, T. K.; AROSH, J. A. Transport of prostaglandin F2 α pulses from the uterus to the ovary at the time of luteolysis in ruminants is regulated by prostaglandin transporter-mediated mechanisms. **Endocrinology**, [s. l.], v. 151, n. 7, p. 3326-3335, 2010.

MAGNESS, R. R.; HUIE, J. M.; HOYER, G. L.; HUECKSTEADT, T. P.; REYNOLDS, L. P.; SEPERICH, G. J.; WHYSONG, G.; WEEMS, C. W. Effect of chronic ipsilateral or contralateral intrauterine infusion of prostaglandin E2 (PGE2) on luteal function of unilaterally ovariectomized ewes. **Prostaglandins and Medicine**, [s. l.], v. 6, n. 4, p. 389-401, 1981.

MAPLETOFT, R. J.; GINTHER, O. J. Adequacy of main uterine vein and the ovarian artery in the local venoarterial pathway for uterine-induced luteolysis in ewes. **American Journal of Veterinary Research**, [s. l.], v. 36, n. 7, p. 957-963, 1975.

MEMBRIVE, C. M. B.; CUNHA, P. M.; MEIRELLES, F. V.; BINELLI, M. Calcium potentiates the effect of estradiol on PGF2 α production in the bovine endometrium. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, [s. l.], v. 5, n. 25, p. 1-7, 2014.

NISHIMURA, R.; SAKUMOTO, R.; TATSUKAWA, Y.; ACOSTA, T. J.; OKUDA, K. Oxygen concentration is an important factor for modulating progesterone synthesis in bovine corpus luteum. **Endocrinology**, [s. l.], v. 147, n. 9, p. 4273-4280, 2006.

PLEWES, M. R.; HOU, X.; TALBOTT, H. A.; ZHANG, P.; WOOD, J. R.; CUPP, A. S.; DAVIS, J. S. Luteinizing hormone regulates the phosphorylation and localization of the mitochondrial effector dynamin-related protein-1 (DRP1) and steroidogenesis in the bovine corpus luteum. **FASEB Journal**, [s. l.], v. 34, n. 4, p. 5299-5316, 2020.

PUGLIESI, G.; BEG, M. A.; CARVALHO, G. R.; GINTHER, O. J. Effect of dose of estradiol-17 beta on prominence of an induced 13,14-dihydro-15-keto-PGF2 α (PGFM) pulse and relationship of prominence to progesterone, LH, and luteal blood flow in heifers. **Domestic Animal Endocrinology**, [s. l.], v. 41, n. 2, p. 98-109, 2011.

REYNOLDS, L. P.; STIGLER, J.; HOYER, G. L.; MAGNESS, R. R.; HUIE, J. M.; HUECKSTEADT, T. P.; WHYSONG, G. L.; BEHRMAN, H. R.; WEEMS, C. W. Effect of PGE1 on PGF2 alpha-induced luteolysis in nonbred ewes. **Prostaglandins**, [s. l.], v. 21, n. 6, p. 957-972, 1981.

THATCHER, W. W.; TERQUI, M.; THIMONIER, J.; MAULEON, P. Effect of estradiol-17 β on peripheral plasma concentration of 15-keto-13,14-dihydro PGF2 α and luteolysis in cyclic cattle. **Prostaglandins**, [s. l.], v. 31, n. 4, p. 745-756, 1986.

CAPÍTULO 19

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO LIPÍDICA NA REPRODUÇÃO DE FÊMEAS BOVINAS

Claudia Maria Bertan Membrive

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Mariângela Bueno Cordeiro Maldonado

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências e Letras (FCL), Assis,
São Paulo, Brasil.

Adriano Felipe Mendes

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências (IB), Botucatu, São
Paulo, Brasil.

Isabella Rio Feltrin

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências (IB), Botucatu, São
Paulo, Brasil.

Valeska de Castro Lourenço

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Resumo

A suplementação alimentar com ácidos graxos poliinsaturados (do inglês, Poly Unsaturated Fatty Acids (PUFA)), especificamente o linolênico (ômega-3) e o linoleico (ômega-6), foi associada a efeitos benéficos na reprodução de fêmeas bovinas. Diferentes fontes de lipídios são utilizadas na nutrição de ruminantes, sendo que sua composição na dieta não pode ultrapassar 7% da matéria seca (MS) fornecida ao animal, pois o rúmen é intolerante a altas concentrações de lipídios. No compartimento ruminal ocorre a biohidrogenação dos ácidos graxos saturados dando origem a outros compostos lipídicos. A maior parte dos estudos realizados até o momento investigaram os efeitos dos PUFA, utilizando gordura protegida em vacas de leite. Poucos estudos foram realizados em matrizes de corte e, especialmente, com outros tipos de gorduras, além das protegidas. O presente capítulo objetiva descrever as principais fontes de lipídios utilizadas na alimentação de ruminantes e suas transformações no ambiente ruminal determinadas pela biohidrogenação; os efeitos dos PUFA no sistema reprodutivo de forma a favorecer a taxa de concepção (número de fêmeas prenhas/número de fêmeas inseminadas); e os resultados desse grupo de pesquisa referentes a uma década de estudos sobre os efeitos da semente de girassol (rica em ômega-6) na performance reprodutiva de fêmeas bovinas de corte.

1 INTRODUÇÃO

Os lipídios são ésteres denominados como compostos químicos orgânicos formados por uma molécula de ácido graxo e uma de álcool, normalmente o glicerol. Representam uns dos principais componentes do organismo e são formados principalmente pelos elementos químicos carbono, hidrogênio e oxigênio, mas também podem conter fósforo, nitrogênio e enxofre. Os lipídios incluem, em sua maioria, gorduras, ceras, esteróis e vitaminas lipossolúveis (como as vitaminas A, D, E e K).

O termo gordura é utilizado para denominar componentes que são ricos em ácidos graxos de cadeia longa, incluindo triglicerídios, fosfolipídios, ácidos graxos não esterificados (*Non-esterified fatty acid (NEFA)*) e sais de cálcio. As gorduras se caracterizam como substâncias insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos. Os ácidos graxos apresentam comprimento de cadeia variável, usualmente contêm de 16 a 22 carbonos unidos por ligações simples (saturadas), duplas ou triplas (ambas insaturadas). As ligações saturadas estão posicionadas entre os átomos de hidrogênio e carbono. Na dieta de ruminantes, os ácidos graxos saturados comumente utilizados são o ácido palmítico ($C_{16}H_{32}O_2$; C16:0) e o ácido esteárico ($C_{18}H_{36}O_2$; C18:0). Os ácidos graxos insaturados possuem uma ou mais duplas ligações, porque nem todas as suas ligações são realizadas entre átomos de hidrogênio e carbono. O ácido graxo insaturado comumente utilizado na dieta de ruminantes, caracterizado por possuir apenas uma dupla ligação, é o ácido oleico ($C_{18}H_{34}O_2$; C18:1). Os ácidos graxos poliinsaturados (*Poly Unsaturated Fatty Acids (PUFA)*), utilizados na dieta dos ruminantes, que apresentam duas ou mais insaturações e são caracterizados pela localização das ligações duplas, são o ácido linolênico ($C_{18}H_{32}O_2$; C18:3) e o linoleico ($C_{18}H_{34}O_2$; C18:2).

Os PUFA não são sintetizados pelas células do organismo, portanto, devem ser adquiridos através da alimentação, e abrangem as famílias de ácidos graxos ômega-3 e ômega-6, tendo como principais representantes o ácido linolênico e linoleico, respectivamente.

As plantas forrageiras e muitas sementes geralmente apresentam pequena quantidade de lipídios, de 4% a 6%, encontrados principalmente como glicolipídios e fosfolipídios. Em sementes oleaginosas, os lipídios constituem de 18% a 25%, sendo predominantemente constituída por triglicerídeos. Ainda, dentro dessas proporções, o teor de gordura nos alimentos vegetais pode variar de acordo com a parte da planta, estágio de crescimento e processamento do material.

Neste contexto, as plantas forrageiras contêm maior proporção de C18:3, enquanto grãos e plantas oleaginosas apresentam predominantemente C18:2 e C18:1 cis-9. Muitos ácidos graxos contidos na composição de plantas forrageiras e vegetais são insaturados, geralmente mais de 70%, representados principalmente pelo C18:2 cis-9, cis-12 e C18:3 cis-9, cis-12, cis-15. Assim, aproximadamente 88% da gordura ingerida que alcança o rúmen é do tipo

insaturada, representada principalmente pelo C18:1, C18:2 e C18:3, sendo que essas moléculas são submetidas ao processo de biohidrogenação pelos microrganismos ruminais.

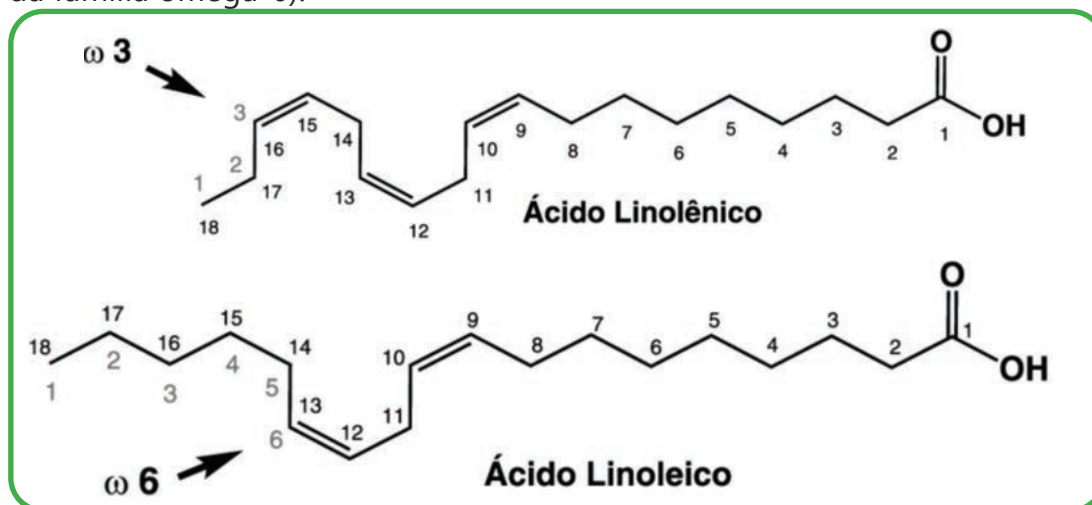
Os PUFA são tóxicos aos microrganismos presentes no rúmen, principalmente às bactérias Gram positivas, metanogênicas e aos protozoários. Dessa forma, os microrganismos ruminais desenvolveram a biohidrogenação como um mecanismo de defesa, promovendo a transformação de PUFA em ácidos graxos saturados. Após a gordura ingerida passar pelo rúmen, aproximadamente 49,5% ainda corresponde à insaturada e 50,5% transformam-se nos ácidos graxos saturados mirístico, palmítico e esteárico. Cerca de 80% do ácido linoleico e 92% do linolênico sofrem biohidrogenação no rúmen, promovendo, no intestino delgado, uma maior disponibilização e absorção de ácidos graxos saturados. Tais modificações, evidenciadas no rúmen, estabelecem uma limitação ao fornecimento de PUFA nos animais ruminantes.

2 PRINCIPAIS FONTES DE GORDURA UTILIZADAS NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS

No organismo, os lipídios apresentam funções estruturais e de reserva. Na condição de reserva, os lipídios podem ser mobilizados e transformados em outras substâncias ou catabolizados para a produção de energia. A suplementação com maiores quantidades de lipídios na alimentação dos animais ruminantes é uma prática comum para aumentar a densidade energética da dieta, principalmente em gado de leite, considerando que a completa oxidação dos lipídios gera em média 9,45 kcal/g ou 2,25 vezes mais energia do que o gerado em média pelos carboidratos e proteínas. Contudo, a utilização de lipídios na dieta vai além da vantagem energética. Considera-se que alguns tipos específicos de lipídios, especificamente o ômega-3 e o ômega-6, podem alterar mecanisticamente a fisiologia reprodutiva de fêmeas bovinas supostamente favorecendo a taxa de prenhez, fato que os torna alvo de muitas investigações.

Conforme representado na **Figura 1**, o ácido graxo insaturado ômega-3, também mencionado como ácido linolênico, possui 18 carbonos e três insaturações, sendo representado pela fórmula química $\text{CH}_3(\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_3(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ abreviada como $\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{O}_2$ ou C18:3. O ácido graxo insaturado ômega-6, também mencionado como ácido linoleico ou ácido 9-12-octadecadienoico, possui 18 carbonos e duas insaturações, sendo representado pela fórmula química $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$, abreviada como $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$ ou C18:2.

Figura 1. Representação da estrutura química do ácido linolênico (principal representante da família ômega-3) e ácido linoleico (principal representante da família ômega-6).



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Claudia Maria Bertan Membrive.

Existem várias fontes de gordura que podem ser fornecidas aos animais, tais como sementes de oleaginosas, sebo animal, óleo reciclado de cozinha, óleos vegetais e óleos de peixe. Ainda, existem as gorduras comercialmente protegidas contra a ação dos microrganismos ruminais, como os sais de cálcio de ácidos graxos e as gorduras granuladas. Cada fonte de gordura é composta de uma mistura de diferentes ácidos graxos.

Na **Tabela 1**, estão sumarizadas as principais fontes de gordura utilizadas na alimentação animal e as suas respectivas composições de ácidos graxos. As gorduras de graxaria, denominadas de sebo animal, e a gordura amarela, representada pelo óleo reciclado de cozinha são fontes de gordura compostas principalmente de ácido oleico, aproximadamente 43%. As gorduras granuladas, como Energy Booster 100, EnerG-II e Megalac são gorduras secas compostas principalmente de ácido palmítico, variando de 36 a 50%. O óleo de canola e de colza são ricos em ácido oleico, variando de 54 a 63%. O óleo de caroço de algodão, cártamo, girassol e soja são ricos em ácido linoleico, variando de 54 a 78%. O óleo de linhaça contém aproximadamente 55% de ácido linolênico, principal representante da família ômega-3. O ácido eicosapentaenoico (C20:5) e o ácido docosahexaenoico (C22:6) também são ácidos graxos tipo ômega-3. O conteúdo de óleo das forragens e de vários grãos, embora seja usualmente baixo, possui altas proporções de PUFA.

O girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma cultura de ampla capacidade de adaptação às diversas condições de latitude, longitude e fotoperíodo. Nos últimos anos, vem se apresentando como opção de rotação e sucessão de culturas nas regiões produtoras de grãos. Sua melhor tolerância à seca, quando comparada ao milho ou ao sorgo, aliada à baixa incidência de pragas e doenças, são alguns dos fatores que vêm conquistando os produtores

brasileiros. A semente de girassol, além do alto rendimento em óleo, contém altas concentrações de aminoácidos essenciais, principalmente os aminoácidos sulfurados. A composição média das sementes de girassol é 4,8% de umidade, 19,9% de carboidratos totais, 24% de proteína, 47,3% de ácidos graxos e 4% de cinzas, além de possuir em torno de 24% de fibra em detergente neutro (FDN) (LEITE, 2005). O óleo de girassol, dentre os óleos vegetais, apresenta uma das maiores concentrações de PUFA, principalmente o ácido linoleico. A concentração de ácidos linoleico e oleico corresponde a 90% do total dos ácidos graxos presentes no óleo de girassol.

Tabela 1. Principais fontes de gordura empregadas na alimentação animal e suas respectivas composições de ácidos graxos

Fonte de Gordura	COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS (%)						
	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
	Mirís-tico	Palmí-tico	Palmi-to-o-leico	Esteá-rico	Oleico	Lino-leico	Linolê-nico
Sebo Animal	3	25	3	18	43	4	<1
Óleo reciclado de cozinha	2	21	4	11	44	14	<1
Energy Booster 100 ¹	3	40	1	43	10	2	<1
Megalac; EnerG-II ¹	1	50	<1	4	36	8	<1
Megalac-R ¹	1	36	<1	4	26	29	3
Óleo de canola	<1	4	<1	2	63	19	9
Óleo de caroço de algodão	1	23	1	3	18	54	1
Óleo de linhaça	<1	5	<	3	20	16	55
Óleo de colza	<1	5	<1	2	54	22	11
Óleo de cártamo	<1	7	<1	2	12	78	<1
Óleo de soja	<1	11	<1	4	23	54	8
Óleo de girassol	<1	7	<1	5	19	68	1
Óleo de peixe Menhaden ²	7	16	8	3	12	1	2

Fonte: Staples (2009).

Nota: ¹ Preparações comerciais consideradas parcialmente inertes no rúmen. ² Também contém 14% C20:5 e 9% C22:6.

3 METABOLISMO DE LIPÍDIOS NO RÚMEN – BIOHIDROGENAÇÃO

Os ruminantes alimentados basicamente com forrageiras ingerem baixo teor de lipídios, entre 1 e 4% da matéria seca (MS). O fornecimento de maiores quantidades de lipídios pode ser realizado pela adição de gorduras ou sementes oleaginosas na dieta. Recomenda-se não ultrapassar 6 a 7% da MS, pois quantidades acima desse limite promovem inibição da fermentação ruminal, além de exercerem um efeito tóxico nas membranas celulares bacterianas. O rúmen é intolerante a altas concentrações de lipídios que irão interferir diretamente na fermentação.

Na dieta, a adição de lipídios acima de 7% da MS reduz a digestão das proteínas, inclusive diminuindo a concentração de amônia no interior do rúmen. Nesse contexto, foi verificado um aumento na eficiência da produção de proteína microbiana em decorrência de uma diminuição no número de protozoários ruminais, que são predadores naturais das bactérias ruminais, possibilitando às bactérias um tempo maior de permanência no rúmen.

Além disso, a digestão de fibras também é comprometida, uma vez que a adição de lipídios acima dos valores recomendados cria uma camada superficial de gordura, denominada "biofilme", nas partículas do alimento, dificultando a adesão bacteriana. Logo, as bactérias ficam impossibilitadas de entrar na célula vegetal, condição imprescindível para a digestão fermentativa desempenhada por elas. Assim, assume-se que a suplementação lipídica interfere na dinâmica fermentativa e no metabolismo de outros nutrientes presentes no rúmen, visto que a população de bactérias do rúmen não está preparada para digerir lipídios e sim para se defender de sua presença por meio do mecanismo de biohidrogenação.

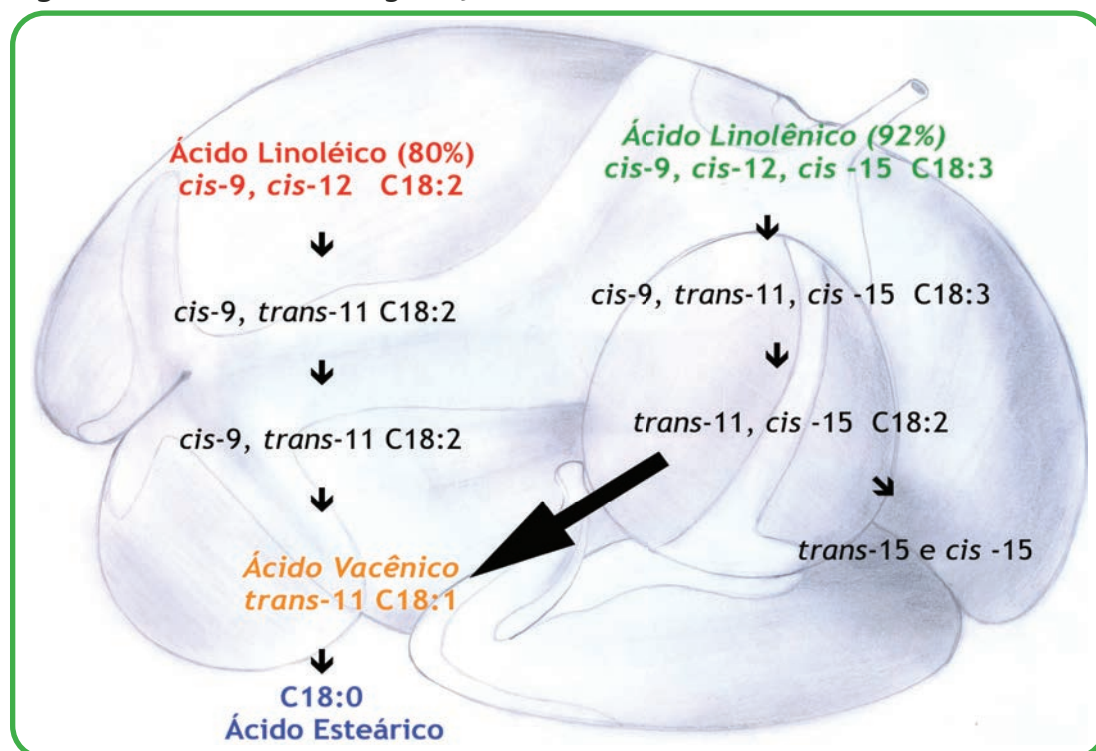
As bactérias ruminais não apresentam triglicerídeos na sua constituição e são incapazes de sintetizar PUFA, contendo duplas ou triplas ligações entre os átomos de carbonos. Desse modo, esses microorganismos incorporam em sua composição lipídica somente ácidos graxos saturados constituídos por ligações simples. Os lipídios constituem 10% da MS das bactérias, sendo representados por 30 a 40% de fosfolipídios, aproximadamente 40% de ácidos graxos não esterificados e outros lipídios.

Sabendo que o grupo bacteriano no rúmen também não é capaz de utilizar ácidos graxos como fonte de energia, os lipídios serão intensivamente modificados ao chegarem ao rúmen, gerando moléculas totalmente distintas das ingeridas inicialmente. A determinação do que as moléculas inicialmente ingeridas serão transformadas depende principalmente da população de bactérias presentes no rúmen, do processamento da gordura fornecida e da composição do alimento que está combinado a essa gordura.

Aproximadamente 88% da gordura ingerida que alcança o rúmen é do tipo insaturada, representada pelos ácidos oleico, linoleico e linolênico, e todos eles são submetidos ao processo de biohidrogenação pelos microorganismos. Os PUFA, presentes em grande quantidade nas sementes de oleaginosas, são tóxicos aos microorganismos presentes no rúmen, principalmente às bactérias Gram positivas, metanogênicas e protozoários. Dessa forma, os microorganismos ruminais desenvolveram a biohidrogenação como um mecanismo de defesa, promovendo a transformação de ácidos graxos insaturados em saturados. Após passar pelo rúmen, do total da gordura insaturada ingerida, 49,5% ainda correspondem à insaturada e 50,5% se transformam em ácidos graxos saturados mirístico, palmítico e esteárico. Esse processo disponibiliza, no intestino delgado, uma maior absorção de ácidos graxos saturados.

Cerca de 80% do ácido linoleico e 92% do linolênico sofrem biohidrogenação no rúmen e este processo está representado na **Figura 2**. De acordo com Bauman *et al.* (2000), os lipídios sofrem duas transformações importantes no rúmen. A primeira, refere-se à hidrólise do éster, catalisada pelas enzimas lipases produzidas pelos microrganismos, no qual ocorre uma rápida digestão no rúmen pelas lipases, gerando ácidos graxos, glicerol e outras moléculas. O glicerol liberado é utilizado pelas bactérias ruminais para a produção, em geral, de ácido propiônico. Os ácidos graxos gerados não são utilizados como energia pelas bactérias ruminais, sendo rapidamente reduzidos a compostos menores. A segunda etapa de transformação, refere-se à biohidrogenação, realizada especialmente pelas bactérias *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Anaerovibrio lipolytica* e *Propionibacter sp.* Tais bactérias dividem-se em dois grupos: (A) formado por organismos que irão transformar os ácidos linoleico e o ácido linolênico em ácido vacênico (trans-11 18:1); e (B) grupo bacteriano que irá transformar o ácido vacênico em ácido esteárico (C18:0) como produto final. Se os ácidos graxos estão em uma concentração elevada no rúmen, a etapa final da biohidrogenação é inibida e, conseqüentemente, a concentração ruminal de ácido vacênico aumenta. A ação das bactérias dos grupos A e B são fundamentais para que ocorra a biohidrogenação completa de um PUFA no rúmen.

Figura 2. Vias de biohidrogenação ruminal dos ácidos linoleico e linolênico.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Claudia Maria Bertan Membrive.

Nota: O ácido linoleico (*cis*-9, *cis*-12 C18:2) transforma-se em *cis*-9, *trans*-11 C18:2 e, posteriormente, em ácido vacênico (*trans*-11 C18:1) e, finalmente, a ácido esteárico (C18:0).

O ácido linolênico (cis-9, cis-12, cis-15 C18:3) transforma-se em cis-9, trans-11, cis-15 C:18:3 e, posteriormente, em trans-11, cis-15 C18:2 que se transforma em ácido vacênico (trans-11 C18:1) e, finalmente, a ácido esteárico (C 18:0).

Diversos estudos foram realizados para diminuir os efeitos da biohidrogenação dos lipídios no rúmen, tais como pelo uso de diferentes técnicas de proteção das gorduras. Uma dessas técnicas foi obtida em 1984 associando os ácidos graxos ao cálcio, também chamado de sais de cálcio, que originou o produto Megalac[®]. Esse produto é uma gordura granular composta de sais de cálcio de óleo de palma contendo ácidos graxos saturados (palmítico e esteárico) e insaturados (ácido linoleico e linolênico). Essa proteção à biohidrogenação é determinada pela cisão dos ácidos graxos com os sais de cálcio unidos em forma de sal, popularmente chamados de sabões de cálcio. Essa gordura constitui um produto estável em água e a alta temperatura, sendo digerida somente em meio ácido.

Logo, sendo o rúmen um meio ligeiramente ácido (pH médio de 6,2), essa gordura o atravessa praticamente intacta. Ao chegar ao abomaso, compartimento de meio ácido (pH médio de 2 a 3), ocorre o desdobramento deste produto, resultando na liberação dos ácidos graxos e íons de cálcio. Posteriormente, os ácidos graxos do abomaso são encaminhados no intestino delgado onde são absorvidos. Com o uso desse processamento, boa parte dessa gordura protegida passa pelo rúmen sem ser alterada, ou seja, sem sofrer biohidrogenação. A proteção maior ou menor dessa gordura depende do pH ruminal, da população de microrganismos e da composição da dieta que está combinada a essa gordura.

Outra forma de reduzir a biohidrogenação ruminal é por meio do fornecimento de sementes de oleaginosas, pois são fisicamente protegidas pela casca, tornando a gordura contida na semente indisponível quimicamente para o processo de biohidrogenação ruminal. Os grãos inteiros das oleaginosas possuem uma taxa de liberação lenta de óleo, reduzindo o efeito negativo da gordura sobre a digestibilidade da fibra. O menor processamento sobre o grão da oleaginosa também favorece a uma menor disponibilidade do óleo contido na semente no meio ruminal e, dessa forma, reduz os efeitos deletérios aos microrganismos. Concomitantemente, a biohidrogenação será reduzida, aumentando a quantidade de PUFA que passa pelo rúmen sem sofrer biohidrogenação.

Juchem (2007) demonstrou que, quando são fornecidos óleos desprotegidos ou sais de cálcio de cadeia longa para vacas lactantes, mais de 70% do ácido linoleico e mais de 85% do ácido linolênico fornecidos são biohidrogenados no rúmen. O mesmo autor relatou que somente o fornecimento de uma fonte extremamente rica nesses ácidos graxos torna possível a resistência à biohidrogenação ruminal, condição fundamental para que eles possam ser absorvidos no intestino.

4 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO LIPÍDICA NA REPRODUÇÃO DE FÊMEAS BOVINAS

Na pecuária de corte, a produtividade e a lucratividade do rebanho estão diretamente relacionadas à eficiência reprodutiva. A eficiência na fase de cria é avaliada pelo intervalo entre partos (IEP) e quilos de bezerros desmamados por vaca ou hectare. Almeja-se que o IEP seja de aproximadamente 365 dias e que o peso do bezerro no momento da desmama represente no mínimo 50% do peso vivo de sua mãe.

Quando se pretende um IEP ideal, alguns parâmetros temporais devem ser considerados. O período de prenhez da fêmea bovina de corte é de aproximadamente 290 dias. Assim, se subtrairmos tal período dos 365 dias do ano irão restar 75, ou seja, a fêmea de corte deverá passar apenas 75 dias do ano sem estar prenha. Deve-se considerar ainda que, após o parto, são requeridos 30 dias para a involução uterina, período que não deve ser acasalada. Dessa forma, é criada uma janela temporal de apenas 45 dias, que se inicia 30 dias após o parto, quando a fêmea deverá se tornar prenha. Para que possamos realizar com êxito a prenhez nesse prazo e assim obtermos um adequado IEP e a máxima eficiência reprodutiva, obrigatoriamente precisamos utilizar a inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

Com a utilização de protocolos hormonais bem estabelecidos na IATF, sincronizamos a emergência de onda folicular, a luteólise e a ovulação. Tal biotecnologia permite a retomada da ciclicidade das fêmeas na grande maioria em anestro e a inseminação de todas as fêmeas protocoladas em um pequeno intervalo de tempo (aproximadamente 1 a 2 horas). A taxa de concepção obtida com a IATF é de aproximadamente 50% e, portanto, possibilita sincronizar os acasalamentos em um mesmo dia e, consequentemente, período de prenhez de todas as fêmeas contemporâneas.

Em rebanhos bovinos, a mortalidade embrionária é uma das maiores causas de falhas reprodutivas, conforme revisado por Santos *et al.* (2004) e Sartori (2004). Os principais desafios biológicos para o estabelecimento da prenhez ocorrem no período especialmente compreendido entre os dias 14 e 19 após a fecundação, designado de “período crítico”. Nesse intervalo específico, ocorre de 20 a 40% de perdas embrionárias em fêmeas zebuínas.

Sabe-se que, durante o período crítico em fêmeas bovinas, durante o período crítico, o conceito (embrião e membranas associadas) deve produzir competentemente moléculas que interagem com o endométrio, inibindo a síntese de prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) e, consequentemente, a luteólise. Contudo, a simples existência do conceito no útero não assegura o bloqueio efetivo da luteólise. A supressão da síntese de PGF_{2α} endometrial pelo conceito torna-se necessária para o estabelecimento da prenhez. Diante desse contexto, estratégias nutricionais podem ser empregadas com a finalidade de reduzir a mortalidade embrionária entre os dias 14 e 19 da gestação. Tais estratégias objetivam minimizar a capacidade de síntese de

PGF2 α no endométrio materno e/ou maximizar o estímulo anti-luteolítico induzido pelo concepto.

Nesse sentido, Mattos, Staples e Thatcher (2000) reportaram a possibilidade de controlar eventos reprodutivos através de manipulações da dieta. A utilização de PUFA na dieta poderia promover alterações na composição lipídica do endométrio, tornando-o menos luteolítico. Assim, suplementações com PUFA nos primeiros 20 a 25 dias após a IATF ou a transferência de embriões em tempo fixo (TETF) são utilizadas estrategicamente com o objetivo de dificultar a síntese de PGF2 α e prevenir a luteólise.

Reportou-se ainda que os mecanismos pelos quais a suplementação lipídica promove tal incremento reprodutivo referem-se ao desenvolvimento de: um maior folículo ovulatório e maior corpo lúteo (VASCONCELOS *et al.*, 2001); maior desenvolvimento do embrião (FOULADI-NASHTA *et al.*, 2007); melhor qualidade dos embriões e desenvolvimento embrionário (RYAN; SPOON; WILLIAMS, 1992; THOMAS; WILLIAMS, 1995; CERRI *et al.*, 2004; THANGAVELU *et al.*, 2007); além da inibição da produção de prostaglandina F2 α (PGF2 α) pelas células endometriais, promovendo atraso da luteólise (STAPLES *et al.*, 2009), e a melhoria na taxa concepção (HAGGARTY *et al.*, 2006).

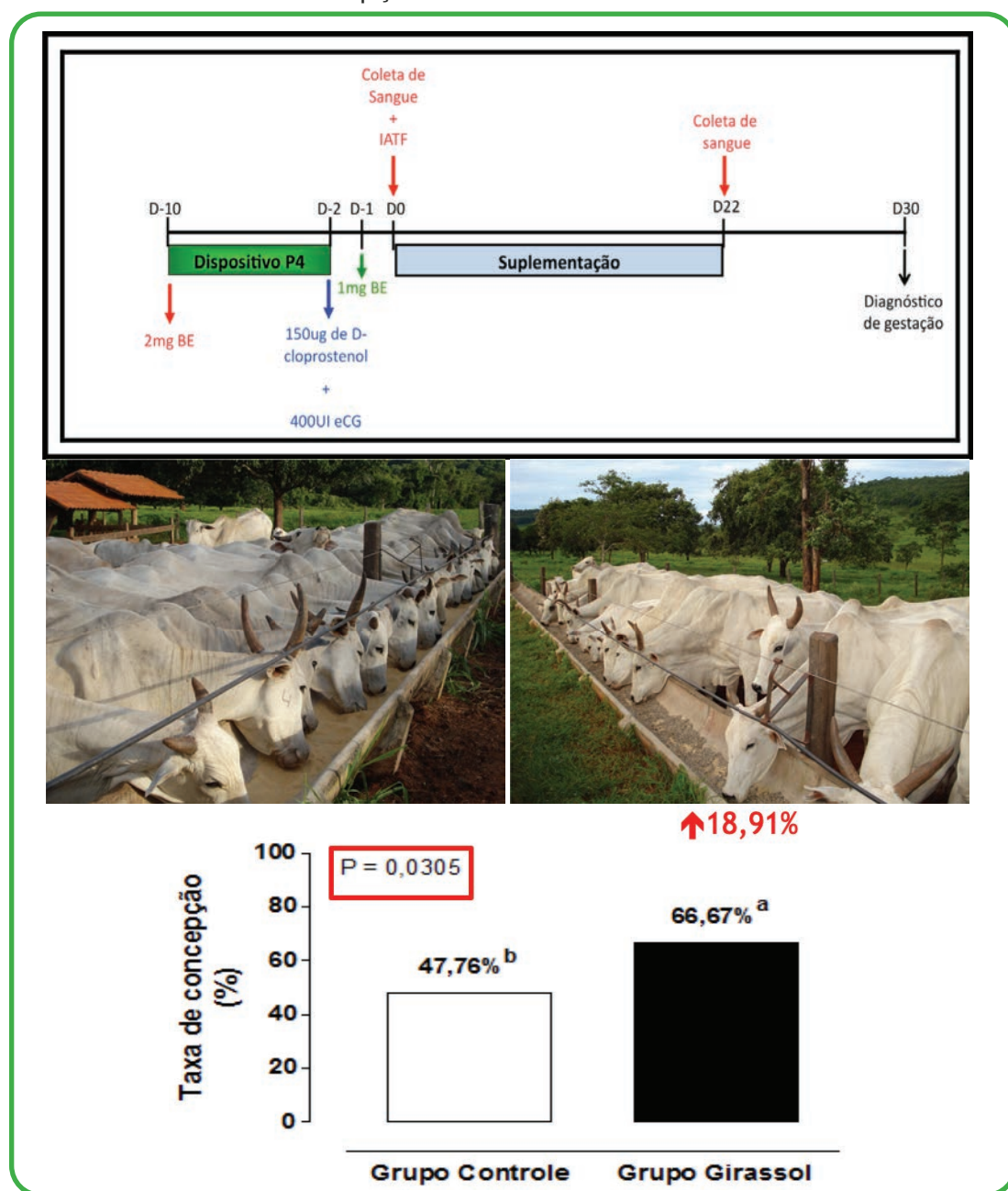
Tais efeitos são determinados tanto pela quantidade total desses ácidos graxos como pela proporção existente entre ambos. A grande parte dos trabalhos existentes na literatura para avaliar os efeitos da suplementação com PUFA na reprodução foi realizada com gordura protegida e em rebanhos leiteiros. Existem poucas informações sobre estratégias nutricionais utilizando ácidos graxos poliinsaturados em fêmeas de corte.

A grande maioria dos estudos que avaliaram o efeito dos PUFA na performance reprodutiva de fêmeas de corte Nelore e receptoras utilizaram a suplementação com gordura protegida, especialmente o Megalac-E. Lopes *et al.* (2009) forneceram o composto no período compreendido entre o início do protocolo de IATF até 28 dias pós-IATF em vacas Nelore lactentes e verificaram um incremento na taxa de concepção de 11,6% em relação ao grupo não tratado (51,2% vs. 39,6%). No mesmo estudo, o Megalac-E foi fornecido a receptoras de embriões do final do protocolo de sincronização até 21 dias pós-TETF e verificou-se um incremento na taxa de concepção de 11,9% em relação ao grupo não tratado (49,6% vs. 37,7%).

Dentre os principais trabalhos com o ácido linoléico como principal fonte de PUFA adicionado à dieta, destacamos Cordeiro *et al.* (2015). Conforme representado na **Figura 3**, esse estudo utilizou vacas Nelore múltiparas de 40 a 60 dias pós-parto suplementadas com 1,7 kg/vaca/dia de dieta contendo 60% de semente de girassol (principal fonte de ômega-6) e 40% de farelo de soja por 21 dias imediatamente após a IATF. Seus trabalhos demonstraram um aumento de 18,91% na taxa de prenhez, quando comparado ao grupo controle alimentado com 1,7 kg/vaca/dia de dieta contendo 47% de farelo

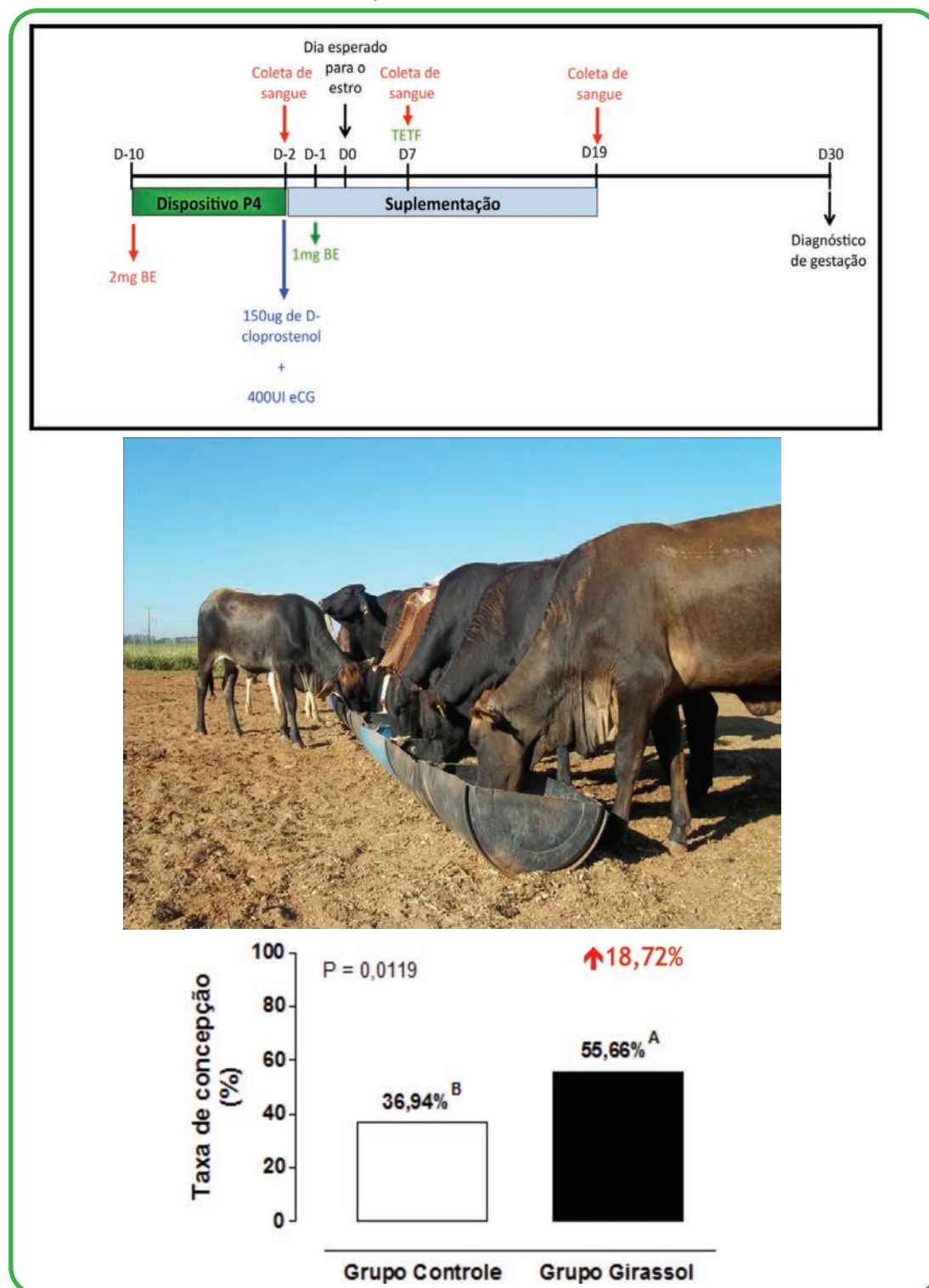
de milho e 53% de farelo de soja (66,67% vs. 47,76%; respectivamente). Conforme representado na **Figura 4**, em estudo complementar, Cordeiro et al. (2015) realizaram a mesma suplementação em novilhas mestiças zebuínas submetidas a TETF, sendo verificado um aumento na taxa de concepção de 18,72% nas vacas suplementadas com semente de girassol comparado ao grupo controle (55,66% vs. 36,94%; respectivamente).

Figura 3. Suplementação da dieta com semente de girassol e seus efeitos no aumento da taxa de concepção em vacas Nelore submetidas à IATF.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Mariângela Bueno Cordeiro Maldonado.

Figura 4. Suplementação da dieta com semente de girassol e seus efeitos no aumento da taxa de concepção em novilhas cruzadas submetidas à TETF.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Mariângela Bueno Cordeiro Maldonado.

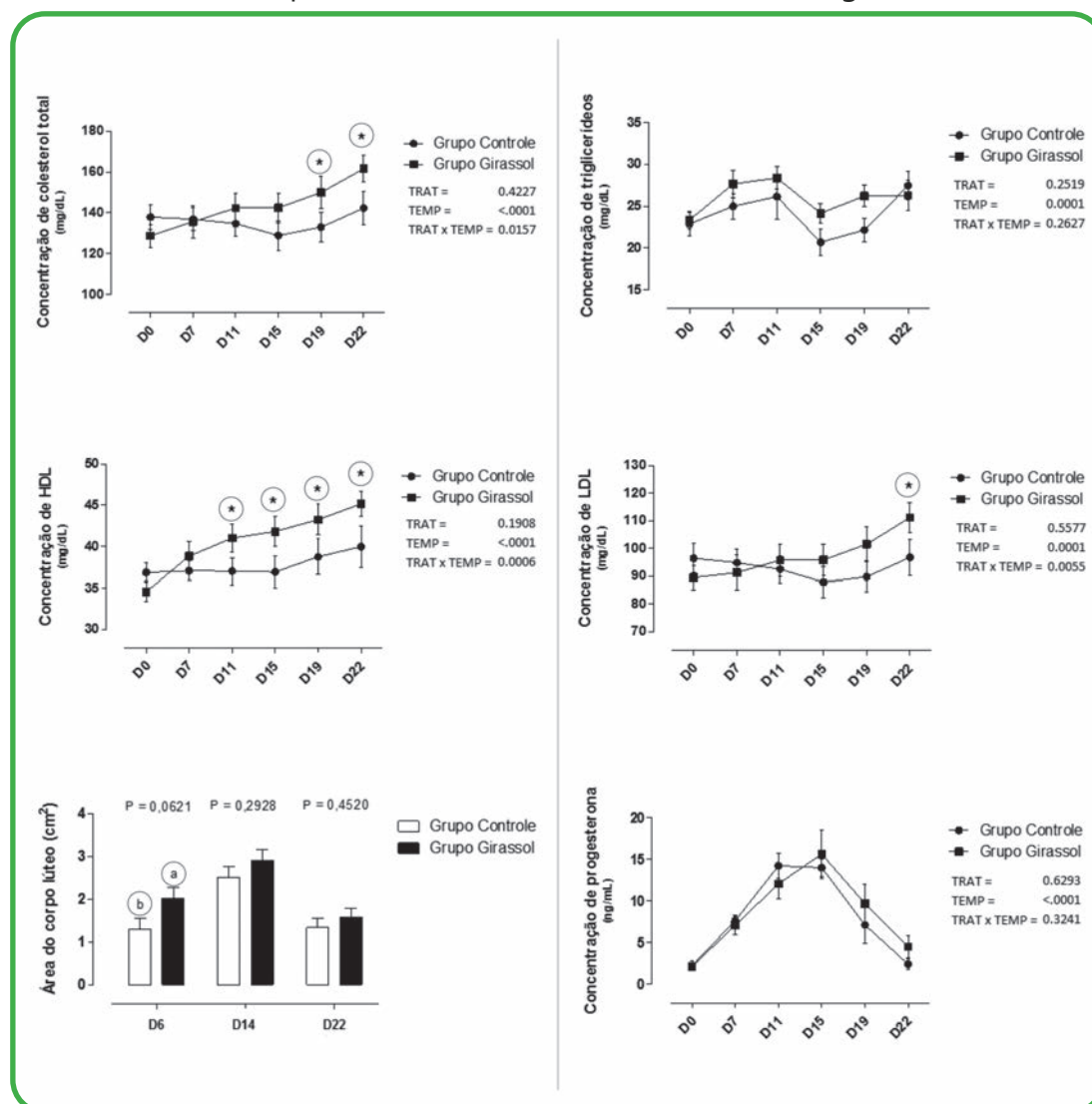
Considerando que o incremento na taxa de concepção foi similar quando a suplementação com semente de girassol foi associada a programas de IATF

e TETF, suspeita-se que tal suplementação aumenta a taxa de concepção por promover efeitos positivos a partir dos sete primeiros dias de desenvolvimento do embrião e não antes desse período (CORDEIRO *et al.*, 2015).

Após a obtenção dos resultados citados, o mesmo grupo realizou um estudo complementar para avaliar os efeitos de diferentes períodos de suplementação lipídica com semente de girassol nas concentrações circulantes de colesterol total, triglicerídeos, lipoproteína de alta densidade (HDL) e lipoproteína de baixa densidade (LDL) em vacas Nelore. Conforme representado na **Figura 5**, e considerando o D0 o dia do suposto estro no protocolo de sincronização e primeiro dia de suplementação, Cordeiro *et al.* (2015) verificaram que a suplementação com semente de girassol: promoveu um aumento na concentração circulante de colesterol total plasmático no D19 e D22; não alterou a concentração de triglicerídios; incrementou a concentração de HDL no D11, D15, D19 e D22; e aumentou a concentração de LDL no D22. Assim, concluiu-se que tal suplementação altera o perfil lipídico plasmático de fêmeas bovinas.

Ainda no mesmo estudo, foram avaliadas a área do corpo lúteo e as concentrações circulantes de progesterona. A área do corpo lúteo do grupo girassol foi maior apenas no D6, e não foi observado incremento nas concentrações plasmáticas de progesterona ao longo dos diferentes dias de tratamento. Assim, foi concluído que o efeito promovido no aumento da taxa de concepção não decorre de efeitos positivos no corpo lúteo e no favorecimento da síntese de progesterona (CORDEIRO *et al.*, 2015).

Figura 5. Concentrações circulantes de colesterol total, triglicerídeos, HDL, LDL; área total do corpo lúteo e concentração plasmática de progesterona em vacas Nelore suplementadas ou não com semente de girassol.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Mariângela Bueno Cordeiro Maldonado.

Em outro estudo realizado pelo nosso grupo de pesquisa, foi avaliado o efeito da suplementação com semente de girassol na modificação do perfil de lipídios que compõem o endométrio em fêmeas bovinas (MALDONADO *et al.*, 2021 - dados ainda não publicados). Verificou-se um aumento dos ácidos graxos C18:1 T10-T11-T12 (trans 10,11,12 ácido octadecenóico; cadeia longa) e C 10:1 (ácido decenóico; cadeia curta) e uma diminuição dos ácidos graxos C 15:0 iso (ácido iso-pentadecanóico; cadeia média), C 20:5 (ácido eicosapentanóico; cadeia longa); C 20:3n3 (ácido eicosatrienóico; cadeia longa); C 23:0 (ácido tricosanóico; cadeia longa); C24:0 (ácido tetracosanóico; cadeia longa) e C 22:5 (ácido docosapentaenóico; cadeia longa) comparado ao grupo controle. Dessa forma, foi concluído que a suplementação com semente de girassol altera o perfil lipídico do endométrio, e que essa alteração

pode favorecer o microambiente uterino e o desenvolvimento do embrião/concepto e/ou restringir a capacidade das células endometriais na síntese de PGF2 α , favorecendo as taxas de concepção.

Maldonado *et al.* (2021 - dados ainda não publicados), na tentativa de investigar se a suplementação com semente de girassol inibia a síntese de PGF2 α , avaliaram a abundância relativa dos transcritos dos genes de PTGES1, PTGES2, AKR1B1, AKR1C4, PTGS2, PTGER2, PTGER4 e PLA2G10, envolvidos na biossíntese de prostaglandinas, no endométrio vacas Nelore suplementadas ou não com semente de girassol no D14, considerando o D0 o dia do suposto estro no protocolo de sincronização e primeiro dia da suplementação. Verificou-se que a abundância de tais genes não foi modificada no grupo suplementado quando comparado ao controle. Portanto, concluiu-se que o efeito da semente de girassol no aumento da taxa de concepção possivelmente não decorra de uma inibição da síntese de PGF2 α durante o período crítico em que ocorre o reconhecimento materno da prenhez.

Em outro estudo realizado pelo grupo, Baltazar *et al.* (2018) comparou a produção de oócitos, as taxas de clivagem e a produção de embriões *in vitro*, em novilhas Nelore suplementadas ou não com semente de girassol. Os autores verificaram que a produção de embriões *in vitro* não foi melhorada quando as novilhas Nelore doadoras de oócitos foram suplementadas com semente de girassol. Logo, concluiu-se com esse estudo, que possivelmente a semente de girassol não promove efeitos benéficos nos folículos e oócitos.

Considerando a biohidrogenação dos PUFA ocasionada no rúmen, nosso grupo de pesquisa também analisou o perfil de ácidos graxos plasmáticos em vacas Nelore no D7, D10, D13 e D16 pós suplementação com semente de girassol, sendo D0 representado pelo dia de início da suplementação (SCALIANTE JUNIOR, 2021). Verificou-se que fêmeas bovinas suplementadas com semente de girassol apresentaram aumento nas concentrações plasmáticas de ácido esteárico (C18:0) no D10, D13 e D16 e de ácido oleico (C18:1 n9,c) no D13. Também foi observada uma diminuição de ácido palmítico (C16:0) no D7, D10 e D13 e de ácido linoléico (C18:2 n6,c) no D13 e D16 comparado ao grupo não suplementado (controle). O ácido alfa-linolênico (C18:3 n3) foi identificado e mensurado apenas no plasma das vacas tratadas com semente de girassol (**Figura 6**). Quando foi considerada a média de todos os dias, as concentrações plasmáticas dos ácidos esteárico e ácido alfa linolênico foram maiores no grupo de animais suplementados com semente de girassol, enquanto no grupo controle as concentrações plasmáticas dos ácidos palmítico e ácido linoleico foram maiores. Por fim, o ácido oleico foi igual entre os dois grupos.

Figura 6. Concentrações plasmáticas dos ácidos palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico e ácido alfa-linolênico em vacas Nelore não suplementadas (grupo controle) ou suplementadas com semente de girassol.



Fonte: Scaliante Junior (2021).

Diante de todos os estudos realizados por nosso grupo de pesquisa, criamos um modelo hipotético da atuação da semente de girassol na performance reprodutiva de fêmeas bovinas de corte (**Figura 7**). Possivelmente, tal suplementação não exerça efeitos positivos no oócito, folículo, corpo lúteo e síntese de P4. Acreditamos que o aumento na taxa de concepção decorra de modificações na composição de ácidos graxos no plasma e, consequentemente, no tecido endometrial. As alterações na composição lipídica das células endometriais podem favorecer a taxa de concepção, atuando no favorecimento do desenvolvimento de embrião e concepto ou ainda por uma modificação lipídica no microambiente uterino. Até o momento, não verificamos que o aumento na taxa de concepção, decorra de restrições à abundância de transcritos para as enzimas envolvidas na síntese de PGF2 α .

Figura 7. Modelo hipotético da atuação da semente de girassol na performance reprodutiva de fêmeas bovinas de corte.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Claudia Maria Bertan Membrive.

Note: Possivelmente, tal suplementação não exerça efeitos positivos no oócito, folículo, corpo lúteo e síntese de P4 (quadro vermelho) e modificações na composição de ácidos graxos no plasma e na composição lipídica das células endometriais favorecendo o desenvolvimento de embrião e conceito ou ainda por uma modificação lipídica no microambiente uterino (quadro verde).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os PUFA, utilizados na dieta dos ruminantes, que apresentam duas ou mais insaturações e são caracterizados pela localização das ligações duplas, são representados pelos ácidos linolênico ($C_{18}H_{33}O_2$; C18:3) e o linoleico ($C_{18}H_{34}O_2$; C18:2). As plantas forrageiras contêm maior proporção de ácido linolênico (C18:3), enquanto grãos e plantas oleaginosas apresentam predominantemente ácido linoleico (C18:2) e oleico (C18:1 cis-9).

Nesse sentido, a concentração de ácidos linoleico e oleico corresponde à 90% do total dos ácidos graxos presentes no óleo de girassol. Porém, cerca de 80% do ácido linoleico e 92% do linolênico sofrem biohidrogenação no rúmen.

Os efeitos dos PUFA na reprodução são controversos, e a grande maioria dos estudos sobre esse tema foram realizados com vacas de leite suplementadas com gordura protegida. Logo, existem poucas informações

em vacas de corte. Vale ressaltar que o nosso grupo de pesquisa revelou que a suplementação com semente de girassol aumentou a taxa de concepção de matrizes de corte submetidas à IATF e à TETF, possivelmente por efeitos no embrião.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro (Processo FAPESP 2013/26418-1; 2016/02805-4 e 2018/24168-1) e a à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas concedidas aos alunos de Pós-Graduação.

REFERÊNCIAS

- BALTAZAR, A. L.; DE MATTOS, G. M.; ROPELLI, B. M.; FIRETTI, S. M. G.; CASTILHO, C.; PUGLIESI, G.; MALDONADO, M. B. C.; BINELLI, M.; SILVA, J. O. F.; LUPATINI, G. C.; LAFUENTE, B. S.; BERTAN, C. M. Supplementation with sunflower seeds in beef cattle did not impact on oocyte and in vitro embryo production. **Reproduction in Domestic Animals**, [s. l.], v. 1, p. 801-808, 2018.
- BAUMAN, D. E.; BAUMGARD, L. H.; CORL, B. A.; GRIINARI, J. M. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 77, p. 1-15, 2000.
- CERRI, R. L. A.; JUCHEM, S. O.; CHEBEL, R. C.; RUTIGLIANO, H. M.; BRUNO, R. G. S.; GALVÃO, K. N.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. Effect of fat sources differing in fatty acid profile on fertilization rate and embryo quality in lactating cows. **Jornal of Dairy Science**, [s. l.], v. 87, p. 297, 2004.
- CORDEIRO, M. B.; PERES, M. S.; DE SOUZA, J. M.; GASPAR, P.; BARBIERE, F.; SÁ FILHO, M. F.; FILHO, M. M.; DINARDI, R. N.; NOGUEIRA, G. P.; MESQUITA, F. S.; PUGLIESI, G.; MARTINS, T.; BINELLI, M.; MEMBRIVE, C. M. B. Supplementation with sunflower seed increases circulating cholesterol concentrations and potentially impacts on the pregnancy rates in *Bos indicus* beef cattle. **Theriogenology**, [s. l.], v. 83, n. 9, p. 1461-1468, 2015.
- FOULADI-NASHTA, A. A.; GUTIERREZ, C. G.; GONG, J. G.; GARNSWORTHY, P. C.; WEBB, R. Impact of dietary fatty acids on oocyte quality and development in lactating dairy cows. **Biology of Reproduction**, [s. l.], v. 77, n. 1, p. 9-17, 2007.
- HAGGARTY, P.; WOOD, M.; FERGUSON, E.; HOAD, G.; SRIKANTHARAJAH, A.; MILNE, E.; HAMILTON, M.; BHATTACHARYA, S. Fatty acid metabolism in human preimplantation embryos. **Human Reproduction**, [s. l.], v. 21, n. 3, p. 766-773, 2006.
- JUCHEM, S. O. **Lipid digestion and metabolism in dairy cows**: effects on production, reproduction and health. Dissertation (Doctorate) - University of California Davis, 2007.
- LEITE, R. M. V. B. C.; BRIGHENTI, A. M.; CASTRO, C. **Girassol no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 641 p.

- LOPES, C. N.; SCARPA, A. B.; CAPPELLOZZA, B. I.; COOKE, R. F.; VASCONCELOS, J. L. M. Effects of rumen-protected polyunsaturated fatty acid supplementation on reproductive performance of *Bos indicus* beef cows. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 87, n. 12, p. 3935-3943, 2009.
- MATTOS, R.; STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. **Reviews of Reproduction**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 38-45, 2000.
- RYAN, D. P.; SPOON, R. A.; WILLIAMS, G. L. Ovarian follicular characteristics, embryo recovery, and embryo viability in heifers fed high fat diets and treated with follicle-stimulating hormone. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 70, n. 11, p. 3505-3513, 1992.
- SANTOS, J. E. P.; CERRI, R. L. A.; BALLOU, M. A.; HIGGINBOTHAM, G. E.; KIRK, J. H. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of holstein dairy cows. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 80, n. 1-2, p. 31-45, 2004.
- SARTORI, R. Fertilização e morte embrionária em bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, Barra Bonita, v. 32, p. 35-50, 2004.
- SCALIANTE JUNIOR, J. R. Perfil plasmático de ácidos graxos e taxa de concepção em vacas Nelore suplementadas com semente de girassol. 2021. 79 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2021.
- STAPLES, C. R. Aumento da taxa de prenhez em vacas leiteiras através da suplementação com gordura. In: SIMPÓSIO INTERLEITE, 9., 2009, Uberlândia, MG. **Anais [...]**. Uberlândia: [s. n.], 2009, p. 91-103.
- THANGAVELU, G.; COLAZO, M. G.; AMBROSE, D. J.; OBA, M.; OKINE, E. K.; DYCK, M. K. Diets enriched in unsaturated fatty acids enhance early embryonic development in lactating Holstein cows. **Theriogenology**, [s. l.], v. 68, n. 7, p. 949-957, 2007.
- THOMAS, M. G.; WILLIAMS, G. L. Metabolic hormone secretion and FSH-induced superovulatory responses of beef heifers fed dietary fat supplements containing predominantly saturated or polyunsaturated fatty acids. **Theriogenology**, [s. l.], v. 45, n. 2, p. 451-458, 1995.
- VASCONCELOS, J. L.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H. N.; GUENTHER, J. G.; WILTBANK, M. C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rates. **Theriogenology**, [s. l.], v. 56, n. 2, p. 307-314, 2001.

Imagem "Cows" de Alexas_Fotos por Pixabay
(<https://pixabay.com/pt/photos/vacas-gado-agricultura-fazenda-5392356/>)

Imagem "DNA" de Mahmoud Ahmed por Pixabay
(<https://pixabay.com/pt/photos/dna-3d-biologia-genetica-pesquisa-5297378/>)





PARTE 4

GENÉTICA E BIOTECNOLOGIA

- 20** Epigenética, a ciência que está reescrevendo o conceito da genética
- 21** Epigenética no melhoramento e produção de frutas
- 22** Predição de valor genético em espécies do gênero *Eucalyptus*: métodos tradicionais vs inteligência artificial
- 23** Uso de inteligência artificial aplicada à fenotipagem por meio da análise de imagens em eucalipto
- 24** Produção *in vitro* de embriões bovinos: a revolução biotecnológica na pecuária

CAPÍTULO 20

EPIGENÉTICA: A CIÊNCIA QUE ESTÁ REESCREVENDO O CONCEITO DA GENÉTICA

Mariângela Bueno Cordeiro Maldonado

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências e Letras (FCL), Assis,
São Paulo, Brasil.

Isabella Rio Feltrin

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências (IB), Botucatu, São
Paulo, Brasil.

Adriano Felipe Mendes

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências (IB), Botucatu, São
Paulo, Brasil.

Claudia Maria Bertan Membrive

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Resumo

A epigenética é definida como todas as modificações no genoma que alteram a expressão gênica, sem alterar as sequências de nucleotídeos da molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA), e que são herdadas pelas gerações seguintes. Por muito tempo, se acreditou que os genes eram os únicos responsáveis por passarem as características biológicas ao longo das gerações, no entanto, atualmente, é sabido que variações não-genéticas (ou epigenéticas) adquiridas durante a vida de um organismo podem ser frequentemente passadas aos seus descendentes. Os mecanismos epigenéticos basicamente atuam na regulação e controle da expressão gênica, causando pequenas mudanças químicas na sequência de DNA e em proteínas que envolvem o DNA, alterando a estrutura organizacional e, conseqüentemente, a acessibilidade à cromatina aos fatores de transcrição, ativando ou silenciando os genes. Existem evidências científicas mostrando que as mudanças epigenéticas são fortemente influenciadas pelo ambiente. Os hábitos de vida, a alteração e o estresse ambiental, assim como o meio social em que uma pessoa está inserida podem acarretar mudanças epigenéticas. Assim, por causa da epigenética, podemos dizer que nosso fenótipo é resultante não só de nossos hábitos, mas também dos hábitos dos nossos pais e até mesmo dos nossos avós. Neste capítulo, além de abordar o conceito e a história da epigenética, serão elucidados os principais mecanismos epigenéticos, que são a metilação do DNA, modificações de histonas e RNAs não codificantes.

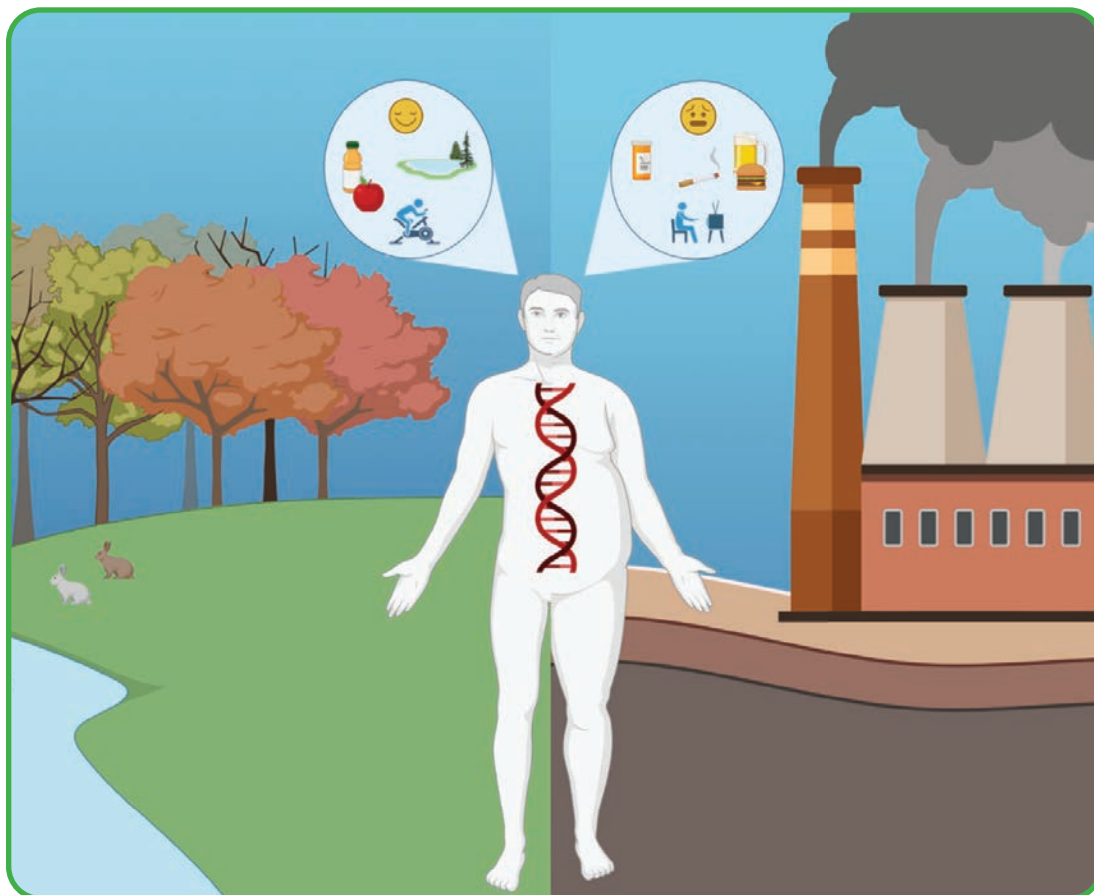
1 INTRODUÇÃO

A expressão gênica é controlada por diversos fatores em que a informação não está contida apenas no “alfabeto” do DNA. Sendo assim, podemos considerar que as informações contidas em nossos genes não possuem total controle sobre a nossa identidade. Quem nunca teve curiosidade em saber por quê, apesar de possuírem o mesmo material genético, as células são capazes de se diferenciar nos mais diversos tecidos que compõe um organismo; ou por que gêmeos univitelinos se desenvolvem e se comportam de maneira diferente, se em ambos a sequência de DNA é a mesma? Com a descoberta da epigenética, algumas lacunas do conhecimento científico estão sendo preenchidas.

Nos últimos anos, diversas revistas têm publicado notícias técnico-científicas sobre a epigenética. Destacaram-se as que apontam os efeitos da dieta sobre o controle da expressão gênica, podendo ter sido uma força motriz para a evolução humana (HUNTER, 2008) ou os efeitos da escassez de alimentos, no século 19, sobre a atual longevidade dos habitantes de um vilarejo na Suíça (NOGUEIRA, 2016). Outras reportagens evidenciaram que mães obesas e diabéticas têm quatro vezes mais probabilidade de terem filhos diagnosticados com transtorno de espectro autista; e que os filhos de mães fumantes têm maior suscetibilidade a serem obesos, em comparação com aqueles cujas mães não apresentam tais condições (TIRABOSCHI, 2009; OBESIDADE..., 2016). Reportou-se também que os descendentes de mulheres que vivenciaram o onze de setembro demonstram maior chance de desenvolvimento de estresse (TIRABOSCHI, 2009). Mais atualmente, a epigenética foi relacionada à pandemia da COVID-19 quando pesquisadores descobriram que o genótipo pode definir a forma como o coronavírus (SARS-CoV-2) afeta determinado organismo, e, embora ainda não se saiba ao certo como o genoma e o epigenoma atuam na suscetibilidade ao coronavírus, há a hipótese de que o controle na expressão de determinados genes, tais como ACE-2 e TRIB3, esteja relacionado a isso (SEUS GENES..., 2020; MORAES, 2021).

Diante desse contexto, fica claro que os fatores epigenéticos são fundamentais no controle da transcrição de genes, que são bem permeáveis e são passados de geração em geração. Assim, por causa da epigenética, hoje sabemos que o que se herda dos ancestrais vai muito além do DNA que deles é recebido (**Figura 1**).

Figura 1. Ilustração representativa de como as influências externas tais como hábitos de vida e meio ambiente nos quais uma pessoa está inserida podem acarretar mudanças epigenéticas.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Mariângela B. Cordeiro Maldonado.

2 AFINAL, O QUE É EPIGENÉTICA?

Na etimologia da palavra epigenética, o prefixo grego “epi” significa acima ou sobre, o que, de maneira simplificada, demonstra que epigenética é aquilo que está “por cima da genética”, ou seja, é uma camada adicional de complexidade biológica que influencia o DNA. A expressão foi utilizada pela primeira vez na década de 1940, por Conrad Waddington, para descrever as interações entre genes e o meio ambiente, e os possíveis caminhos que cada célula pode tomar durante o desenvolvimento de um organismo. Waddington supôs que mecanismos específicos e complexos de desenvolvimento conectariam o material genético às características do organismo, porém, sua suposição era teórica, pois ele não dispunha de evidências científicas que pudessem demonstrar os mecanismos epigenéticos (WADDINGTON, 1942).

No decorrer da década de 60, algumas pesquisas sobre câncer e cultura de células parecem ter usado de forma implícita ou indireta algumas das suposições da noção de epigenética (HAIG, 2004). Entretanto, ainda não havia sido proposta nenhuma suposição ou modelo que pudesse descrever

e qualificar a hipótese da epigenética. Porém, em 1969, a primeira suposição foi proposta como um fenômeno biológico específico em que a epigenética seria uma modificação química no DNA, chamada de metilação. Griffith e Mahler (1969), ao estudarem uma teoria para a formação da memória a longo prazo, sugeriram que a base física da memória poderia estar na modificação enzimática do DNA de células nervosas. Dessa forma, propuseram que a metilação afeta a taxa de síntese proteica. Tais autores descreveram o DNA como uma longa fita que contém partes codificadas em um conjunto de aminoácidos que formam proteínas, mas com pequenas regiões que atuam no controle da transcrição e tradução das informações e, assim, definiram que seu “modelo de DNA da memória” envolve a alteração química dessas regiões de controle.

Posteriormente, Holliday e Pugh (1975) e Riggs (1975) sugeriram um modelo molecular para a ativação da carga genética envolvendo a hereditariedade da atividade e a inatividade de determinados genes. Esses dois grupos de pesquisa independentes propuseram pela primeira vez que a metilação do DNA poderia influenciar a expressão gênica, especificamente na ativação ou inativação de determinados genes, e que o padrão de metilação do DNA poderia ser transmitido de uma geração para outra. Portanto, essa alteração química no DNA poderia explicar, em parte, a dinâmica nas mudanças do perfil de expressão dos genes durante o desenvolvimento e diferenciação celular de um organismo. Mais tarde, a expressão “epigenética”, usada pela primeira vez por Waddington, foi revista e usada para descrever a importância da metilação do DNA na compreensão dos processos de envelhecimento e do câncer (HOLLIDAY, 1987).

Atualmente, a epigenética é definida como o estudo dos processos que não dependem exclusivamente da sequência de DNA, porém acarretam um fenótipo herdável, ou seja, processos epigenéticos são aqueles capazes de alterar o fenótipo sem alterar o genótipo, e que são herdáveis. Referem-se ao controle da expressão gênica baseados na organização estrutural da cromatina ao invés de informações da sequência primária do DNA, pois a organização da cromatina exerce função chave na determinação dos padrões de expressão gênica, uma vez que regiões mais condensadas da cromatina são menos acessíveis à transcrição, ou vice-versa. Assim, dependendo da condensação da cromatina, a mesma sequência de genes pode ser transcricionalmente expressa ou silenciada. Desse modo, a epigenética pode ser considerada imprescindível para a genômica funcional, revolucionando a genética molecular.

As mudanças na expressão gênica causadas pelos processos epigenéticos são herdáveis pelo processo mitótico e ao longo das gerações. A programação epigenética dos gametas e dos embriões em estágio inicial de desenvolvimento é condição vital para o desenvolvimento do organismo. Essa programação epigenética envolve a integração de três mecanismos epigenéticos, que são capazes de regular a expressão gênica através do

controle da transcrição e/ou tradução, definidos como metilação do DNA, modificações de histonas e RNAs não codificantes (ncRNAs).

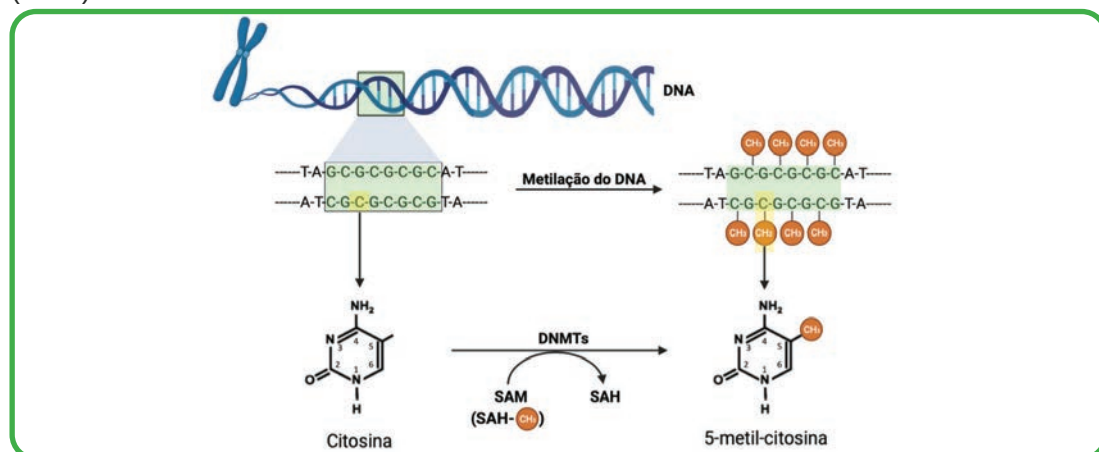
3 METILAÇÃO DO DNA

A metilação do DNA é um tipo de modificação química que pode ser adicionada ou removida do DNA sem alterar a sua sequência original, e que pode ser herdável. Trata-se da adição de um grupo metil ($-\text{CH}_3$) - ou seja, um átomo de carbono ligado a três átomos de hidrogênio - no carbono 5 do anel pirimídico de citosinas adjacentes a guaninas (dinucleotídeos CpG), transformando-a em 5-metil-citosina (m^5Cyt).

A m^5Cyt foi descoberta no DNA do timo de bezerro há 73 anos (HOTCHKISS, 1948). Desde então, a metilação do DNA tem se mostrado uma modificação epigenética fundamental em muitos processos biológicos tais como no desenvolvimento e na manutenção da estrutura da cromatina; na estabilidade cromossômica; na inativação do cromossomo X nas fêmeas; no "*imprinting*" genômico e desenvolvimento embrionário; e em enfermidades como câncer, diabetes e obesidade. A metilação do DNA também tem desempenhando um importante papel como regulador epigenético da expressão gênica.

Os padrões de metilação são estabelecidos e mantidos nos sítios dinucleotídeos CpG (pares de Citosina-fosfato-Guanina) pelas enzimas da família das DNA metiltransferases (DNMTs). Na metilação, o doador universal do grupamento metil é o cofator enzimático S-adenosil-L-metionina (SAM). As DNMTs catalisam a transferência de um grupo metil (CH_3) da SAM em (desoxi)citosina, produzindo a m^5Cyt e S-adenosil-L-homocisteína (SAH) (**Figura 2**).

Figura 2. Processo de metilação do DNA. As enzimas DNA metiltransferases (DNMTs) catalisam a transferência de um grupo metil ($-\text{CH}_3$) da S-adenosil-L-metionina (SAM) em (desoxi)citosina, produzindo S-adenosil-L-homocisteína (SAH) e 5-metil-citosina.



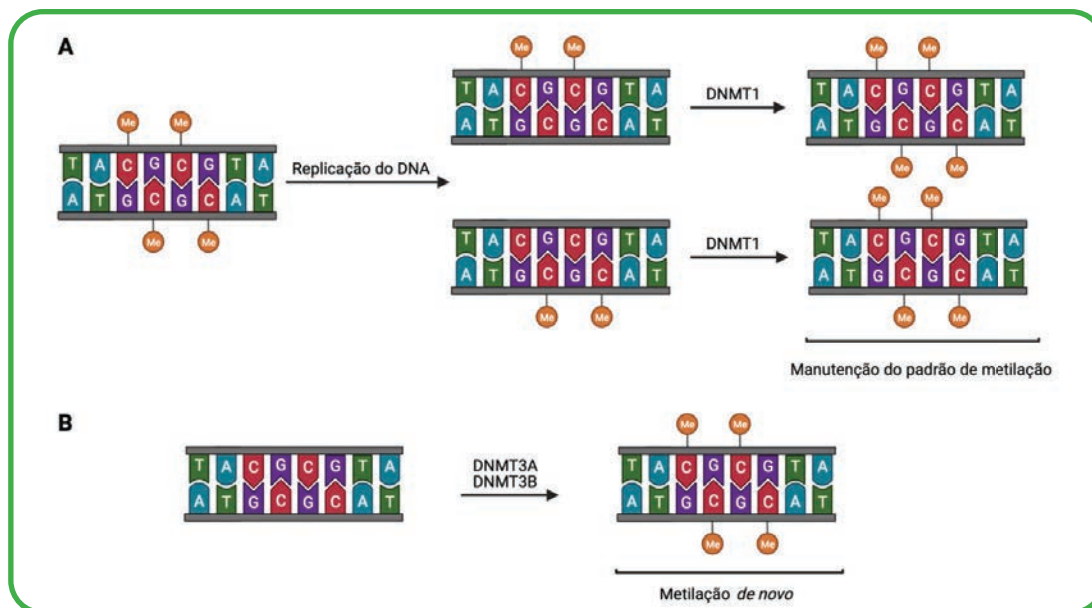
Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Mariângela B. Cordeiro Maldonado.

Em mamíferos, foram identificadas três famílias de DNMTs que correspondem a: (1) DNMT1, composta pelas isoformas somática DNMT1s e oocitária DNMT1o; (2) DNMT2; e (3) DNMT3, composta pelas DNMT3A, DNMT3B e DNMT3L. No processo de metilação do DNA se destacam as DNMT1 e DNMT3A e 3B.

A DNMT1s é responsável pela manutenção dos padrões de metilação, pois, no momento da replicação do DNA, os padrões de metilação não são copiados na nova fita. Assim, essa enzima é responsável por manter os padrões de metilação durante os processos de divisão celular (**Figura 3A**). A DNMT1o, que é específica do gameta feminino, parece desempenhar um papel importante na manutenção de "*imprinting*" genômico (mecanismo de regulação da expressão gênica no qual certos genes são expressos apenas por um dos alelos parentais, enquanto o outro é inativado por metilação) na segunda onda de desmetilação global do genoma, que ocorre após a fecundação.

As DNMT3A e 3B são responsáveis pelas novas metilações no DNA (metilação *de novo*), ou seja, estabelecem novos padrões de metilação (**Figura 3B**).

Figura 3. Modo de ação das enzimas DNA metiltransferases (DNMTs) na fita de DNA e nas metilações.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Mariângela B. Cordeiro Maldonado.

Nota: A) Manutenção do padrão de metilação após a replicação do DNA, em que a DNMT1 promove a metilação na fita de DNA hemimetilada (ou seja, que contém metilação em apenas um dos filamentos). B) Ocorrência de metilação *de novo*, em que as enzimas DNMT3A e DNMT3B promovem metilações na dupla fita de DNA não metilada.

A inserção do grupo metil funciona como uma barreira e pode,

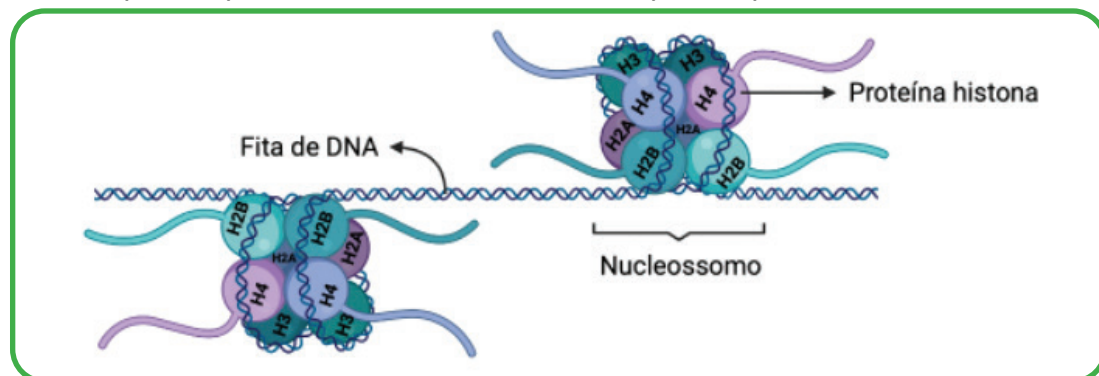
por exemplo, fazer com que fatores de transcrição (que são proteínas imprescindíveis para a transcrição dos genes) não se liguem à sequência do DNA, afetando a transcrição e, conseqüentemente, a expressão gênica. Em razão disso, a metilação do DNA geralmente está associada ao silenciamento da expressão gênica. O silenciamento dos genes, mediado por metilação, pode ocorrer por meio de mecanismos diretos e indiretos. No mecanismo direto, a metilação impede diretamente, por meio de uma barreira física, a ligação de fatores de transcrição ou modificam o estado de condensação e estrutura da cromatina, causando a inativação do gene. Já no mecanismo indireto, a metilação ocorre em uma região que apresenta domínios de ligação "Methyl- CpG-binding domain" (MBD), que se localizam ao redor de um sítio de regulação da transcrição e que indiretamente atraem as proteínas MBD, que, por sua vez, recrutam correpressores e histonas deacetilases (HDACs), alterando a configuração da cromatina ao redor do gene e causando o seu desligamento.

A metilação do DNA é funcionalmente e mecanicamente ligada a outros mecanismos epigenéticos, principalmente às modificações de histonas, como, por exemplo, a metilação de lisina nas histonas. Especificamente, a metilação do DNA está correlacionada com a ausência de metilação na lisina 4 da histona 3 (H3K4) e, em menor intensidade, correlacionada com a presença de metilação na lisina 9 da histona 3 (H3K9).

4 MODIFICAÇÕES DE HISTONAS

Histona é um tipo de proteína encontrada nos cromossomos de células eucarióticas que compõe a unidade fundamental da cromatina, o nucleossomo. Por sua vez, o nucleossomo consiste em uma unidade de DNA dividida em duas espirais que se enrolam em torno de um disco proteico, constituído por quatro pares de proteínas histonas (**Figura 4**).

Figura 4. Conformação do nucleossomo, que consiste na dupla fita de DNA dividida em duas espirais que se enrolam em torno de um disco proteico, constituído por um par de proteínas histonas H4, um par de proteínas histonas H3, um par de proteínas histonas H2A e um par de proteínas histonas H3B.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Mariângela B. Cordeiro Maldonado.

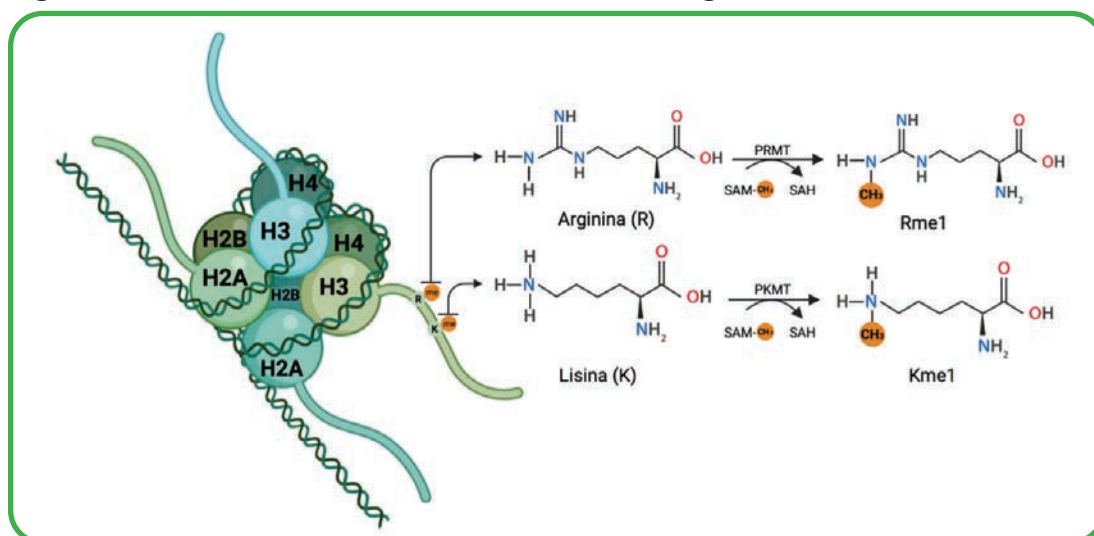
Até a década de 1990, as histonas eram vistas somente como a matriz na qual o DNA se enrola para se tornar mais compacto, permitindo que os genomas eucarióticos de grandes dimensões caibam dentro do núcleo das células. Atualmente, é sabido que cada histona está sujeita a modificações bioquímicas pós-traducionais, em sua cauda aminoterminal, que alteram a estrutura da cromatina e suas funções, e que tais modificações estão diretamente ligadas a todos os processos celulares que demandam o acesso ao DNA. Assim, epigeneticamente, essas modificações de histonas podem desempenhar um papel fundamental no controle da expressão gênica, assim como na metilação do DNA, na ativação do genoma embrionário e na inativação do cromossomo X.

Foram descritas diversas modificações de histonas como, por exemplo, acetilação, metilação, fosforilação, ubiquitinação, SUMOilação, ADP-ribosilação, deaminação, citrulinação, entre outras. Neste capítulo, serão abordadas a metilação e desmetilação de histonas e a acetilação e desacetilação de histonas por, atualmente, serem as modificações mais estudadas e bem elucidadas.

Metilação e desmetilação de histonas: Os aminoácidos sujeitos à metilação covalente das histonas são a arginina e a lisina. A lisina pode estar mono- (me1), di- (me2) ou trimetilada (me3), enquanto a arginina pode estar me1 ou me2. A metilação de histona não altera a carga do aminoácido, porém, causa uma modificação química (grupamento metil) que aumenta a alcalicidade e hidrofobicidade, o que leva a uma maior afinidade por moléculas, como o DNA, ao maior recrutamento e ligação de proteínas regulatórias (NICIMURA; SARAIVA, 2014).

A metilação de histonas ocorre através da ação das metiltransferases de proteínas (PMTs) que promovem a metilação de resíduos de lisina (metiltransferases de lisinas ou PKMTs) ou de arginina (metiltransferases de argininas ou PRMTs), pela transferência do grupo metil do cofator SAM, resultando no subproduto SAH (**Figura 5**), de maneira semelhante ao mecanismo de metilação do DNA descrito no item 3 deste capítulo. Já a desmetilação é promovida pelas histonas desmetilases (HDMs).

Figura 5. Monometilação (me1) de lisina (K) e arginina (R) na histona H3.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Mariângela B. Cordeiro Maldonado.

Nota: A metilação da arginina ocorre por ação da metiltransferase de arginina (PRMT), e a da lisina ocorre por ação da metiltransferase de lisina (PKMT), ambas transferem um grupo metil (-CH₃) do cofator S-adenosil-L-metionina (SAM), tendo como resultado S-adenosil-L-homocisteína (SAH) e arginina ou lisina monometilada (Rme1 e Kme1, respectivamente).

As marcas das histonas são abreviadas e incluem o nome da histona, a posição da marca, e a natureza e o número de marcas. Por exemplo, a marca epigenética H3K9me2 corresponde a uma dimetilação da lisina 9 da histona H3.

A metilação de histonas pode contribuir tanto para a ativação como para o silenciamento de genes, dependendo da posição da marca de metilação. Por exemplo, a metilação de H3K9, H3K27 e H4K20 promove a condensação da cromatina e, conseqüentemente, o silenciamento gênico, enquanto a metilação de H3K4, H3K36 e H3K79 promove a descondensação da cromatina e, conseqüentemente, a ativação gênica.

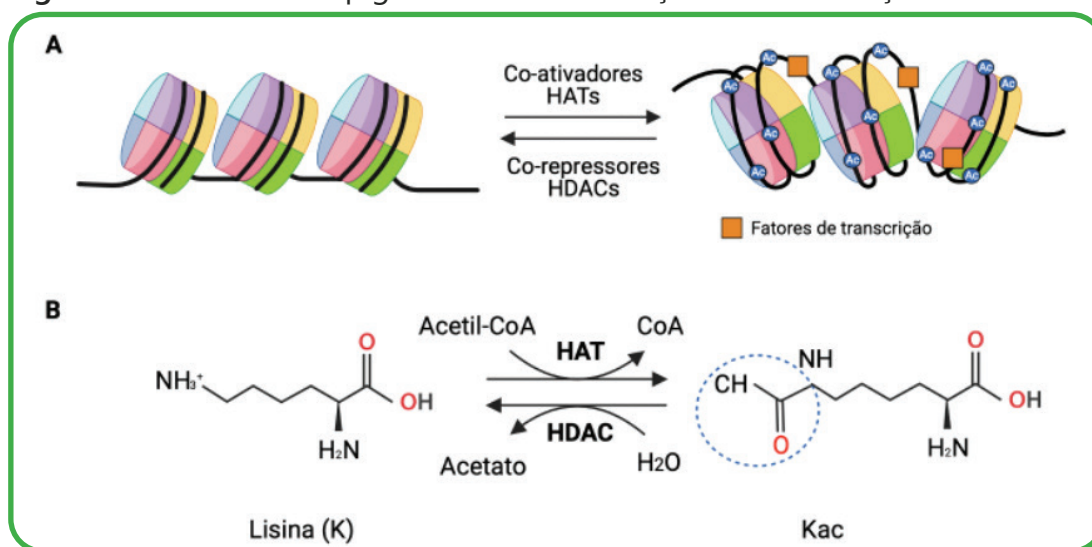
As PMTs interagem diretamente com as proteínas envolvidas na metilação do DNA (DNMTs), desse modo, a metilação de histonas regula a expressão gênica, parcialmente, por meio de sua associação com a metilação do DNA.

Acetilação e desacetilação de histonas: Os processos de acetilação e desacetilação ocorrem em resíduos de lisina na terminação N de proteínas histonas H3, H4, H2A e H2B. A acetilação de histona faz com que a carga positiva nos resíduos de lisina seja neutralizada, reduzindo a afinidade da cauda da histona com o DNA local carregado negativamente, causando a abertura local das estruturas da cromatina. Isso faz com que a RNA polimerase e os fatores de transcrição acessem com mais facilidade a região propiciada, favorecendo

a expressão gênica. Dessa forma, a acetilação de histonas está geralmente associada à ativação da transcrição gênica e, inversamente, a desacetilação de histonas está geralmente associada ao silenciamento transcricional.

A acetilação de histonas ocorre através da ação das enzimas acetiltransferases de histonas (HATs), também conhecidas como acetiltransferases de lisina (KATs), enquanto a desacetilação ocorre por meio das desacetilases de histonas (HDACs), conforme ilustrado na **Figura 6**.

Figura 6. Mecanismos epigenéticos de acetilação e desacetilação de histonas.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Mariângela B. Cordeiro Maldonado.

Nota: A) Na parte esquerda da figura está representado o mecanismo de desacetilação por ação das enzimas desacetilases de histonas (HDACs) que causam o fechamento da cromatina, dificultando o acesso de fatores de transcrição e, conseqüentemente, desfavorecendo a transcrição dos genes. Na parte direita da figura está representado o mecanismo de acetilação por ação das enzimas acetiltransferases de histonas (HATs) que afrouxam a estrutura da cromatina, facilitando o acesso de fatores de transcrição e, conseqüentemente, favorecendo a transcrição dos genes. B) Acetilação de lisina (Kac) pela ação das HATs, que retiram o grupo acetil (Ac) da acetil-coenzima A (Acetil-CoA) e desacetilação pelas HDAC, que transferem o Ac para a acetil-CoA.

Devido à existência de diversos tipos de marcas de histonas e de inúmeros resíduos que podem sofrer modificações nas diferentes histonas, há um vasto número de possíveis combinações de modificações de histonas. Assim, a posição e a natureza das modificações das histonas e as conseqüências dessas modificações no direcionamento de uma resposta biológica constituem o código das histonas.

É importante ressaltar que as modificações das histonas também facilitam as interações dos nucleossomos com outras proteínas não histônicas, favorecendo ou não o processo de transcrição.

5 RNAS NÃO CODIFICANTES (ncRNAs)

Segundo o dogma central da biologia molecular, o DNA é transcrito em ácido ribonucleico (RNA), que por sua vez, é traduzido em proteínas. No entanto, o conceito de que a regulação da transcrição dos genes era exclusivamente controlada por proteínas (fatores de transcrição) precisou ser revisto. Acreditou-se, a princípio, que a porção do DNA que não era responsável por codificar proteínas não possuía função biológica, sendo denominada por muito tempo de "DNA lixo". O que não se sabia, e foi revelado por estudos do projeto genoma humano, é que apenas 2% do genoma é codificante, ou seja, resulta, após a tradução, na produção de proteínas. Na época, esse número foi muito aquém das expectativas dos pesquisadores.

Atualmente, sabe-se que, dos 98% de DNA não-codificante, 46% é composto por sequências repetitivas, 27% são regiões de íntrons e regiões não codificantes do RNA mensageiro (UTRs) e 25% são regiões associadas a elementos regulatórios e a RNAs não codificantes (ncRNAs).

Os ncRNAs consistem em qualquer molécula de RNA que não possuem sequências de bases potencialmente codificadoras de proteínas. São difíceis de serem diferenciados dos RNAs codificantes, pois também podem conter uma fase aberta de leitura.

Estudos desenvolvidos na última década descreveram a importância e presença de ncRNAs em organismos unicelulares, plantas e organismos mais complexos como os mamíferos. Os ncRNAs estão envolvidos em diversos processos biológicos, tais como, desenvolvimento de organismos ou tecidos, mecanismos celulares, processos fisiológicos e etiologia de doenças, sendo assim, capazes de desempenhar funções de reguladores de transcrição de transcrição, transporte, *splicing* e controle de estabilidade e tradução de RNA mensageiro (mRNA) (NICIMURA; SARAIVA, 2014). Até o momento, todos os ncRNAs estudados agem por um mecanismo comum de associação com proteínas ligantes do RNA que, por sua vez, fazem parte de um complexo modificador da cromatina.

Os ncRNAs são classificados de acordo com o tamanho de sua sequência de nucleotídeos, polaridade, maneira como são gerados e função. Transcritos de ncRNAs podem ser divididos em ncRNAs regulatórios e ncRNAs *housekeeping*. A maioria dos ncRNAs regulatórios está associada com RNAs não codificantes longos (lncRNA) e dentre os ncRNAs curtos estão os microRNAs (miRNAs), *small interfering RNAs* (siRNAs) e Piwi-interacting RNAs (piRNAs). Transcritos *housekeeping* geralmente são expressos de maneira constitutiva e incluem os RNAs ribossomais, de transferência, e pequenos RNAs nucleares (snRNAs) e nucleolares (snoRNAs). Neste capítulo, serão descritos com mais detalhes os miRNAs, pois, dentre os tipos de ncRNAs curtos, envolvidos nos mecanismos epigenéticos, esses são os mais estudados.

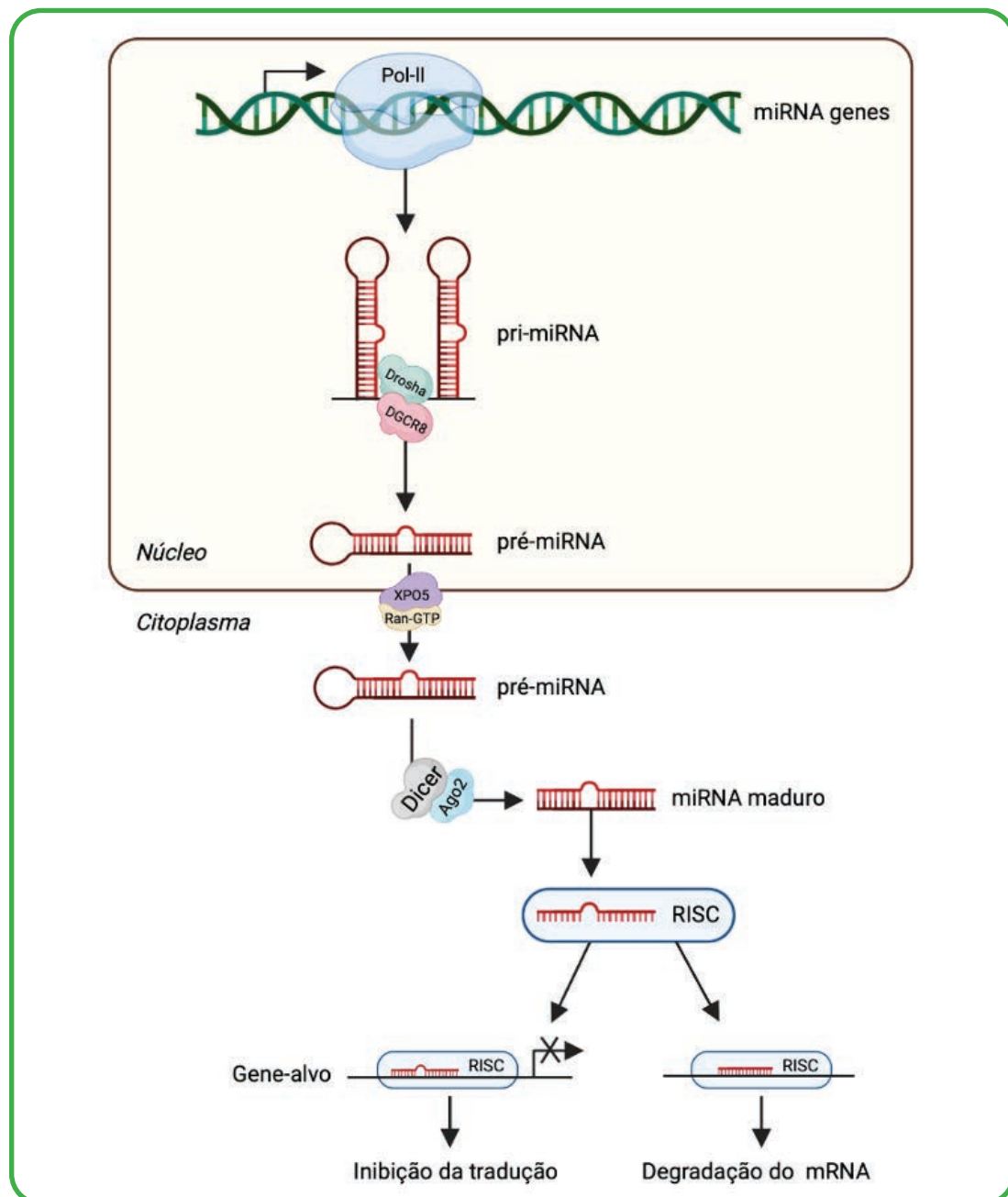
MicroRNAs (miRNAs): Constituem uma classe de moléculas curtas de RNAs endógenos, com aproximadamente 22 nucleotídeos, que atuam como reguladores pós-transcricionais, normalmente resultando na repressão da tradução ou degradação de RNAs mensageiros alvo, e, conseqüentemente, em silenciamento do gene alvo. Encontram-se distribuídos no genoma em regiões intergênicas, intrônicas ou exônicas.

O primeiro miRNA (Lin-4) foi identificado em 1993, por Rosalind Lee e colaboradores, em *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), como uma classe de ncRNAs curtos relacionados à regulação da expressão gênica. Demonstrou-se que o Lin-4 regulava negativamente o nível da proteína LIN-14 (da primeira fase larvar), diminuindo sua expressão ao longo do tempo (LEE; FEINBAUM; AMBROS, 1993).

Atualmente, os miRNAs são reconhecidos como reguladores fundamentais da expressão gênica em plantas e animais, sendo o processo de regulação gênica bem conservado pela evolução das espécies. Embora os mecanismos de ação dos miRNAs ainda não estejam completamente esclarecidos, essas moléculas já foram relacionadas a diversos processos biológicos. Em animais, a ação dos miRNAs como controladores da tradução do transcriptoma regula funções de fundamental importância, como regulação hormonal; adaptação ao estresse e meio ambiente; desenvolvimento de organismos (celular, tecidual e organogênico); e participação de etiologia de patologias como câncer (NICIMURA; SARAIVA, 2014). Para dimensionar sua importância, é estimado que os miRNAs regulem cerca de 1/3 da expressão gênica em mamíferos.

Os miRNAs passam por diversos processos antes de atingirem a maturidade na forma de um complexo miRNA maduro. A biogênese dos miRNAs (**Figura 7**) se inicia de um longo transcrito dupla fita denominados miRNA primário (pri-miRNA), com aproximadamente 110 pares de base (pb).

Figura 7. Biogênese dos microRNAs (miRNAs).



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Mariângela B. Cordeiro Maldonado.

Nota: A) No núcleo de uma célula eucariótica, o miRNA é transcrito pela RNA polimerase II (Pol-II) formando alças *hairpin*, que dão origem ao miRNA primário (pri-miRNA). O complexo de endonucleases DGCR8/Droscha cliva o pri-miRNA, dando origem a uma estrutura mais curta (pré-miRNA), capaz de sair com maior facilidade do núcleo da célula. O pré-miRNA é exportado do núcleo da célula para o citoplasma pela ação das enzimas Exportina 5 (XPO5) e Ran-GTP. No citoplasma, a enzima Dicer cliva o pré-miRNA em miRNA maduros, que são associados à proteína Argonaute 2 (Ago2) formando o complexo RISC (do inglês, *RNA-induced silencing complex*). A ação do complexo RISC pode levar ao silenciamento por sequestro do RNA ligado ao miRNA e à inibição da tradução, ou mesmo ao aceleração da destruição do RNA mensageira (mRNA).

Os pri-miRNAs são transcritos pela enzima RNA polimerase II formando estruturas de *hairpin* ou *stem-loops*, que são essenciais para o reconhecimento das enzimas de processamento de miRNAs. No núcleo da célula, o pri-miRNA é processado em pré-miRNA (~70pb) pela ação do complexo enzimático Drosha-DGCR8, que reconhece e cliva as extremidades de pequenas estruturas de RNA em forma de *hairpin*. Após o processamento nuclear, cada pré-miRNA é exportado para o citoplasma pela ação das enzimas exportina 5 (XPO5) e ran-GTP. Então, o pré-miRNA é reconhecido pela enzima Dicer que cliva a região do *stem-loop*, resultando em uma molécula de dupla fita de RNA (dsRNA; ~22pb). Esse processo recruta proteínas da família argonauta (Ago2) para formar o complexo de silenciamento induzido por RNA (RISC). O complexo RISC se liga a uma das duas fitas do dsRNA para gerar o miRNA maduro, que atua na regulação de um mRNA-alvo. A outra fita é degradada ou capaz de formar outro RISC e realizar a regulação de outro mRNA-alvo.

Foram descritas várias famílias de miRNAs, e cada um deles é capaz de atuar sozinho ou em conjunto com outros miRNAs na regulação de um gene. Os miRNAs estão catalogados em inúmeras bases de dados, como por exemplo a miRbase, com informações sobre sua origem genômica e acesso a sua sequência e ao seu alvo, quando conhecidos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Somente o código genético não é capaz de definir a expressão gênica e o fenótipo dos indivíduos. Para que as funções celulares ocorram de forma correta, além do código genético, as células também devem decodificar o código epigenético. A epigenética é a ciência que estuda os mecanismos que não alteram a sequência do DNA, porém, alteram o fenótipo por controlarem a expressão gênica e serem herdáveis. Os mecanismos epigenéticos ocorrem naturalmente no organismo, mas também podem ser influenciados por inúmeros fatores externos. Os estudos desses mecanismos vêm sendo aplicados em muitos campos das ciências biológicas, auxiliando no esclarecimento de questões que eram incompreendidas. O conhecimento que se tem sobre os processos epigenéticos avança na medida em que novas biotecnologias são disponibilizadas, mas ainda são necessários muitos estudos. Porém, está claro que tanto o contexto genômico quanto o epigenômico são fundamentais em diversos processos fisiológicos e patológicos, sendo capazes de influenciar a evolução das espécies.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte financeiro, processos nº 2015/20557-5 e nº 2016/07584-6.

REFERÊNCIAS

- GRIFFITH, J. S.; MAHLER, H. R. DNA ticketing theory of memory. **Nature**, [s. l.], v. 223, n. 5206, p. 580-582, 1969.
- HAIG, D. The (dual) origin of epigenetics. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, [s. l.], v. 69, p. 67-70, 2004.
- HOLLIDAY, R. The inheritance of epigenetic defects. **Science**, [s. l.], v. 238, n. 4824, p. 163-170, 1987.
- HOLLIDAY, R.; PUGH, J. E. DNA modification mechanisms and gene activity during development. **Science**, [s. l.], v. 187, n. 4173, p. 226-232, 1975.
- HOTCHKISS, R.D. The quantitative separation of purines, pyrimidines, and nucleosides by paper chromatography. **Journal of Biological Chemistry**, v. 175, p. 315-332, 1948.
- HUNTER, P. We are what we eat. The link between diet, evolution and non-genetic inheritance. **EMBO Reports**, v. 9, n. 5, p. 413-415, 2008.
- LEE, R. C.; FEINBAUM, R. L.; AMBROS, V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. **Cell**, [s. l.], v. 75, n. 5, p. 843-854, 1993.
- MORAES, D.; PAIVA, B. V. B.; CURY, S. S.; ARAÚJO JUNIOR, J. P.; MORI, M. A. S.; CARVALHO, R. F. Prediction of SARS-CoV interaction with host proteins during lung aging reveals a potential role for TRIB3 in COVID-19. **Aging and disease**, Fort Worth, v. 12, n. 1, p. 42-49, 2021.
- NICIMURA, S. C. M; SARAIVA, N. Z. **Epigenética**: bases moleculares, efeitos na fisiologia e na patologia, e implicações para a produção animal e vegetal. Brasília, DF: Embrapa, 2014.
- NOGUEIRA, S. Os genes não definem nosso destino. **Superinteressante**, 2016. Disponível em: <https://super.abril.com.br/ciencia/os-genes-nao-definem-nosso-destino/>. Acesso em: 25 maio 2020.
- OBESIDADE e diabetes dobram o risco de ter um filho autista. **Veja**, 2016. Disponível em: <https://veja.abril.com.br/saude/obesidade-e-diabetes-dobram-o-risco-de-ter-um-filho-autista/>. Acesso em: 7 mar. 2021.
- RIGGS, A. D. X inactivation, differentiation, and DNA methylation. **Cytogenetics and Cell Genetics**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 9-25, 1975.
- SEUS GENES podem definir quanto o coronavírus vai afetar seu organismo. **Galileu**, 2020. Disponível em: <https://revistagalileu.globo.com/Ciencia/Saude/noticia/2020/03/seus-genes-podem-definir-quanto-o-coronavirus-vai-afetar-seu-organismo.html>. Acesso em: 11 nov. 2020.
- TIRABOSCHI, J. Epigenética: a culpa é dos seus pais. **Galileu**, 2009. Disponível em: <http://revistagalileu.globo.com/Revista/Common/0,,ERT112902-17579,00.html>. Acesso em: 11 nov. 2020.
- WADDINGTON, C. The Epigenotype. **International Journal of Epidemiology**, v. 41, n. 1, p. 10-13, 2012.

CAPÍTULO 21

EPIGENÉTICA NO MELHORAMENTO E PRODUÇÃO DE FRUTAS

Maria Gabriela Fontanetti Rodrigues

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Antonio Flávio Arruda Ferreira

Universidade Estadual do Mato Grosso
(UNEMAT), Alta Floresta, Mato Grosso,
Brasil.

Laís Naiara Honorato Monteiro

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira
(FEIS), Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

Eduarda Sayuri Nakanishi

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Resumo

A fruticultura constitui-se em importante estratégia econômica para a reprodução social dos produtores rurais, podendo ser implantada como nova fonte de variabilidade agrícola, agregando vantagens tanto do ponto de vista econômico quanto social. Adicionalmente, o melhoramento genético de frutíferas se torna uma linha de pesquisa importante para a melhoria do setor, sendo necessário reunir informações para que projetos de propagação e manejo adequados sejam realizados. Em plantas, a regulação epigenética é responsável pelo desenvolvimento, diferenciação e respostas da planta ao ambiente, tais como estresses bióticos e abióticos, sendo a metilação do DNA um dos marcadores epigenéticos associados a elementos transponíveis de silenciamento e a genes de imprinting genômico, bem como à plasticidade fenotípica. No caso de tais alterações hereditárias em células reprodutoras, a interferência ocorre na variabilidade fenotípica disponível dentro de uma população, o que é, potencialmente, relevante na evolução e no melhoramento de frutíferas visando, principalmente, uma maior produção na mesma área de cultivo existente e uma maior resistência à pragas e doenças, com benefícios tanto aos produtores quanto ao meio ambiente, sendo uma maneira importante de incremento do cultivo sustentável de frutas. Assim, este capítulo objetiva, de maneira geral, trazer informações atuais sobre sua definição, aplicação e métodos de detecção.

1 MELHORAMENTO GENÉTICO NA FRUTICULTURA

A Fruticultura mundial, principalmente devido ao apelo renovado pelo consumo saudável e pela importância reiterada na inserção de trabalhadores e de receita, tem crescido cada vez mais, com destaque para o Brasil que está entre os maiores países produtores, com estimativa de 43 milhões de toneladas de frutas em 2019 (CARVALHO, 2019).

Diante desse cenário, a busca por maiores produções, visando a qualidade dos produtos e a sua adaptação aos mais variados locais de cultivo torna-se uma estratégia importante para o desenvolvimento do setor, sendo o melhoramento genético imprescindível para tais objetivos.

Assim, o melhoramento genético de plantas busca elevar o aparecimento de alelos de interesse nas populações para que sejam expandidas as suas qualidades ou para acrescentar características que vão exercer uma função benéfica à produção agrícola, como uma maior produtividade e resistência ou tolerância às intempéries bióticas e abióticas (BORÉM; MIRANDA, 2013).

Os programas de melhoramento voltados especificamente para as frutíferas não diferem da essência do melhoramento genético em si, apenas são mais centrados nas necessidades das frutíferas, alcançando assim melhores resultados para a produção dessas culturas. Os principais objetivos do melhoramento de frutíferas para as condições edafoclimáticas distintas de cada região são o desenvolvimento de novas cultivares das espécies frutíferas que sejam altamente produtivas; a excelência em termos de qualidade; e resistência às principais doenças que afetam as culturas em condições climáticas distintas (FACHINELLO *et al.*, 2014).

Entretanto, as culturas perenes têm certas características biológicas que são diferentes das demais culturas, como a sobreposição de gerações, o ciclo reprodutivo longo, a reprodução sexuada e assexuada e a expressão dos caracteres ao longo das várias idades (JUHÁSZ *et al.*, 2013). Com isso, a seleção e a recuperação de um genótipo que associe as características básicas da cultivar original e as que se pretendiam introduzir, vão depender dos recursos genéticos disponíveis, ou seja, do conhecimento do seu germoplasma.

O germoplasma é a fonte de variabilidade genética disponível para o melhoramento de plantas, servindo como um reservatório de genes aos quais podem se acessar para resolver problemas específicos, tal como a resistência a uma doença. De acordo com Frankham (2005), a diversidade genética se torna a chave para a sobrevivência da espécie e adaptação às mudanças no ambiente, e uma tarefa fundamental é a elucidação dos mecanismos da origem e manutenção dessa variação (PLATT *et al.*, 2010; HUANG *et al.*, 2014a). Também, a informação detalhada da variação genética pode ser aplicada para revelar a história demográfica e estrutural da população de uma espécie e os mecanismos genéticos de adaptação local e mudanças

evolucionárias (HANSEN *et al.*, 2012; MITA *et al.*, 2013; BERG; COOP, 2014).

Em tal contexto, a avaliação genética, a caracterização e a seleção de germoplasmas superiores são passos imprescindíveis em um programa de melhoramento, com perspectivas de assegurar cultivares competitivas e melhoradas ao mercado (PENNA, 2005). Um dos passos imperativos para automaticamente preservar e conservar a diversidade biológica é reconhecê-la, compreendê-la e identificá-la (KOLIVAND *et al.*, 2018).

He *et al.* (2016) destacam a importância da manutenção de acessos disponíveis nos Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) para a cultura, bem como medidas para sua conservação, devendo ser implementadas em populações diferentes de acordo com seu potencial de adaptação às mudanças futuras no clima e às mudanças ambientais induzidas pelo homem.

Ter conhecimento sobre a variabilidade genética e associá-la com a principal cultivar das culturas usadas comercialmente no Brasil é extremamente importante para definir qual o programa de melhoramento melhor se encaixará no objetivo final, pois é necessária certa elucidação preliminar sobre os parâmetros de seleção para as características demandadas pelos distintos tipos de usuários (aqueles que irão produzir e os que irão consumir apenas). Isso porque existe diferenciação, tanto na inclinação do produto pelo empreendedor rural, que visa ter produções altíssimas livres de pragas e doenças, quanto na expectativa do consumidor, que quer um produto de extrema qualidade e perfeição, espelhando assim na adaptabilidade e estabilidade fenotípica das variedades, nas condições climáticas e outros fatores alusivos às regiões onde se exercem o programa.

No caso de espécies perenes, esse conhecimento pode ser efetuado com base em descritores morfológicos e agrônômicos, características apropriadamente relacionadas à produção e ao mercado. Também as características físico-químicas dos frutos são utilizadas, pois estão relacionadas à qualidade do fruto e às imposições do mercado consumidor, sendo já constada a ocorrência de variações entre cultivares das frutíferas perenes (RESENDE *et al.*, 2014).

Assim, os dados biométricos de plantas possuem extremo valor ecológico, auxiliando na determinação da variabilidade da espécie e possibilitando diferenciar parâmetros fenotípicos entre os indivíduos de uma população, o que se constitui em uma das mais importantes fontes de variabilidade disponíveis para o melhoramento da cultura (RÖPER *et al.*, 2015; PALACE *et al.*, 2016; STOJANOVIĆ *et al.*, 2016).

Porém, sendo organismos sésseis, as plantas são frequentemente expostas a condições ambientais que não podem escapar (DOOREN *et al.*, 2020). As respostas de estresse a essas condições são multivariadas (CLAEYS; INZÉ, 2013), envolvendo, por exemplo, condutância estomática alterada ou quantidades de proteínas protetoras, caracterizando o significado da

expressão plasticidade fenotípica. As respostas de crescimento à competição e as respostas de defesa ao ataque de organismos são dois exemplos clássicos de plasticidade fenotípica adaptativa nas plantas (FERNÁNDEZ-MILMANDA *et al.*, 2020).

Além disso, as fortes pressões de seleção impostas por ambientes extremos e nichos especializados às vezes podem levar à evolução independente de características morfológicas e/ou fisiológicas semelhantes em diferentes linhagens (SACKTON; CLARK, 2019), sendo os organismos adaptados a ambientes extremos especialmente interessantes para o estudo das questões fundamentais da biologia evolucionária.

Assim, uma vez bem estabelecido que modificações no DNA não são a única fonte de variação fenotípica em plantas (DOOREN *et al.*, 2020), muitas vezes os acessos de um BAG podem apresentar características fenotípicas semelhantes, sendo indivíduos distintos geneticamente ou o inverso, plantas fenotipicamente distintas sendo semelhantes genotipicamente, ocasionando redundância na caracterização do BAG.

2 A EPIGENÉTICA E A METILAÇÃO DO DNA

Na atualidade, a capacidade de poder decifrar o código genético tem gerado muitas informações sobre a organização dos genes e a estrutura dos cromossomos. De tal modo, a genômica tem se esforçado para entender a regulação dos genes ao caracterizar seus padrões de expressão em homeostasia, como também quando há situações de estresse. Dessa maneira, quando a interação do genoma e da fenologia não se comporta conforme esperado, pode-se interpretar através da epigenética (FRAGA, 2005).

A epigenética é a parte da genética que trata de modificações herdáveis (tanto por mitose quanto por meiose) na expressão gênica, que não está associada às mudanças na própria sequência de genes (JABLONKA; RAZ, 2009). Trata-se também de implicações na sua estrutura e acessibilidade na transcrição, sem envolver mutações ou modificações na sequência de bases do DNA (CASADESUS; LOW, 2006; BIRD, 2007), sendo que a metilação é o mecanismo epigenético mais conhecido e bem caracterizado, frequentemente.

Constitui-se em modificações moleculares que interferem no acesso dos eventos de transcrição da cromatina, e, dessa forma, induz desde a modelação à expressão gênica (INGLIS *et al.*, 2016). Assim, os estudos relacionados à epigenética têm propiciado o desenvolvimento de metodologias que identificam regiões que são metiladas ao longo de todo o desenvolvimento de vida do organismo. E em vegetais, por exemplo, possibilitam saber como ocorre a regulação de determinado gene em sua disposição ao longo do genoma (HASBÚN *et al.*, 2016), fornecendo subsídios para compreender a variação ocorrente no fenótipo de populações naturais ao longo de gerações, e que não podem ser explicadas ou compreendidas simplesmente no nível

da sequência de DNA. Além disso, permite a obtenção de informações sobre os fatores que possibilitam respostas do organismo ao meio ambiente (BOSSDORF; RICHARDS; PIGLIUCCI, 2008).

Está associada com o silenciamento gênico, estabilidade do genoma, *imprinting* genômico e repressão da transcrição (ZHANG *et al.*, 2018), sendo essa ligação citada posteriormente, ocorrendo pela transferência de grupo metil a algumas bases de citosinas do DNA situadas prévia e contiguamente a uma guanina, como ao carbono 5 no anel de pirimidina de citosina (DODGE *et al.*, 2002). Em procariontes, a metilação age de maneira a proteger o DNA da digestão por suas próprias enzimas de restrição projetas para a eliminação de DNA estrangeiro, já em eucariotos a metilação funciona em outro nível de regulação gênica, associada à regulação gênica, diferenciação celular e defesa do genoma (BERNSTEIN; MEISSNER; LANDER, 2007).

Dessa maneira, estudos recentes têm revelado algumas modificações epigenéticas que afetam importantes características agronômicas (MANNING *et al.*, 2006; MARTIN *et al.*, 2009), e a capacidade de detectar e quantificar a metilação do DNA de maneira eficiente e com maior precisão demonstra a importância dessa área para a ciência na agricultura para a diferenciação varietal e comportamental das plantas.

3 MÉTODOS DE DETECÇÃO DA METILAÇÃO LOCAL E GLOBAL DO GENOMA DE PLANTAS

A capacidade de quantificar e detectar metilação do DNA de forma eficiente e precisa é essencial para o estudo da epigenética em casos como a expressão gênica, doenças genéticas e muitos outros aspectos importantes da biologia (ASHWELL; ANGEL, 2010). Até o presente momento, uma série de métodos foi desenvolvida para quantificar a metilação do DNA, dos quais os mais utilizados serão abordados a seguir.

Para analisar o perfil de metilação do DNA, uma ferramenta bastante utilizada é a técnica *Methylation-sensitive amplified polymorphism (MSAP)* (PCR sensível à metilação com *primers* arbitrários- desenvolvida por Reyna-López, Simpson e Ruiz-Herrera (1997), uma adaptação do *Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP)* (VOS *et al.*, 1995). Baseia-se na amplificação seletiva do DNA e na comparação entre os fragmentos gerados por duas enzimas de restrição *MspI* e *HpaII*, que distinguem entre sequências metiladas e não metiladas. Ambas as enzimas clivam as sequências CCGG, porém, não há clivagem pela *HpaII* se a citosina do dinucleotídeo central CG estiver metilada, permitindo a quantificação de mudanças na sequência e locais de metilação do DNA (isto é, metilação *de novo* e desmetilação) em um único experimento (BEDNAREK; ORŁOWSKA; NIEDZIELA, 2017).

Entretanto, a comparação da expressão gênica de genótipos com contraste fenotípico proporciona o desenvolvimento de novos estudos

voltados à identificação e à caracterização dos genes envolvidos. Segundo Zilberman *et al.* (2007), sendo a metilação do DNA a grande responsável na regulação transcricional do genoma, bem como no direcionamento da deposição de outras marcas epigenéticas e remodelação da cromatina, a regulação epigenética na expressão genica torna-se um complexo mecanismo de interações, sendo sua localização nos genes de fundamental importância no entendimento do seu funcionamento.

Para tanto, protocolos de sequenciamento genômico têm sido desenvolvidos para verificar o estado da metilação de genes dentro de regiões selecionadas, gerando mapas exatos de metilação de DNA único, a partir de moléculas individuais de DNA genômico, tratado com bissulfito de sódio, indicando a posição de cada 5-metilcitosina.

Desenvolvida por Frommer *et al.* (1992) e por Clark *et al.* (1994), o **sequenciamento de DNA tratado com bissulfito de sódio** é uma técnica amplamente empregada em pesquisas em epigenética. Baseia-se na capacidade do bissulfito de sódio (NaHSO_3) em gerar íons bissulfito (HSO_3^-) que convertem a citosina não metilada em uracilas, por meio de desaminação, enquanto as citosinas metiladas são protegidas da conversão. Durante a amplificação via PCR são produzidos polinucleotídeos, nos quais os resíduos de citosina representam os resíduos de 5-mC no DNA original metilado (HAYATSU, 2008; SCHAEFER *et al.*, 2009; SMITH *et al.*, 2009).

O rendimento do sequenciamento bissulfito de sódio mostra resolução ótima de dados (FERNANDEZ *et al.*, 2012). Com o avanço de criação de programas para o estudo de presenças de ilhas CpG, das técnicas e das tecnologias para sequenciamento, o estado de metilação do segmento de DNA é, então, determinado pela comparação do DNA tratado com bissulfito de sódio com o DNA não tratado, que é realizada pelas análises computacionais de bioinformática.

O alinhamento de sequências tratadas com bissulfito de sódio necessita, principalmente, levar em consideração a diminuição seletiva de Cs não metiladas. Para tanto, duas abordagens alternativas foram desenvolvidas: programas de alinhamento específicos, como *Bisulfite Sequence MAPping* (BSMAP) (XI; LI, 2009) e *QUantification tool for Methylation Analysis* (QUMA) (KUMAKI; ODA; OKANO, 2008), que substituem as citosinas da sequência do DNA genômico por letras chaves; e programas de alinhamento de três letras, como Bismark (KRUEGER *et al.*, 2011) e MethylCoder (PEDERSEN *et al.*, 2011), que simplificam o alinhamento de bissulfito de sódio, convertendo todos os C em Ts, fazendo o alinhamento exclusivamente em um alfabeto de três letras (isto é, A, G e T), usando um alinhador padrão.

Dentro desse contexto, os programas de alinhamento específicos são os mais utilizados, pois há uma maior cobertura do genoma, uma vez que mantêm os níveis de metilação do DNA. Isso porque os programas de alinhamento de três letras retiram os Cs restantes da sequência tratada com

bissulfito de sódio, e assim, diminuem a complexidade da sequência, de tal modo que uma maior percentagem de leituras é descartada devido a posições de alinhamento ambíguas (BOCK, 2012).

No caso dos genes, que são expressos de um modo tecido-específico, são principalmente metilados nas regiões promotoras, estando, essa posição de metilação, relacionada ao silenciamento gênico. Ao mesmo tempo, a metilação de regiões codificadoras normalmente não resulta no silenciamento de genes (COKUS *et al.*, 2008; ZANG *et al.*, 2006). Os genes que apresentam metilação dentro da sua sequência de codificação exibem níveis moderados de expressão e são menos propensos a ter a expressão tecido-específica, sendo, portanto, a metilação das regiões codificadoras responsável pelo nível de expressão daquele gene (FENG; JACOBSEN, 2011).

Para tanto, várias ferramentas desenvolvidas pela bioinformática permitem o acesso e a análise dos dados. A ferramenta mais popular de comparação de sequências de DNA com os bancos de dados genômicos é o programa computacional **BLAST** ou *Basic Local Alignment Search Tool* (ALTSCHUL *et al.*, 1990). Por meio de uma busca por similaridade, esse algoritmo compara uma sequência de DNA qualquer com todas as sequências genômicas contidas no banco de dados do *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*, permitindo, assim, a determinação das posições dos genes nele contidos.

Com relação ao estado de metilação do DNA, além das análises específicas de uma sequência, as principais técnicas utilizadas podem ser divididas em abordagens globais amplas no genoma. Nesse contexto, têm sido utilizados métodos que dão uma informação sobre o nível global de metilação dos DNAs genômicos, por meio de ensaios baseados em imun química, como o teste de *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*, que permite um rápido processamento de múltiplas amostras. Essa metodologia, por meio de anticorpos sensíveis à metilação do DNA (anti 5-metil citosina - 5-mC), marcados com uma molécula fluorescente, que reconhecem e se ligam a uma região alvo, permite visualizar e detectar mudanças espaciais na metilação dessas regiões específicas por meio de leitura de comprimento de onda, permitindo a detecção colorimétrica da quantidade relativa de metilação do DNA em relação ao controle positivo, que apresenta um DNA 100% metilado (GUERRERO-PRESTON *et al.*, 2010).

4 ATUALIDADES EM PESQUISAS

A variabilidade de uma característica quantitativa depende de fatores genéticos, epigenéticos e ambientais, bem como das suas interações mútuas (HAUBEN *et al.*, 2009). A epigenética está envolvida no controle de diversos processos de desenvolvimento de plantas e na moldagem da plasticidade fenotípica das plantas, incluindo respostas adaptativas às condições

ambientais (GALLUSCI *et al.*, 2017). O maior desafio para a investigação das teorias de adaptação epigenética é identificar os loci genômicos que sofrem alterações epigenéticas em resposta às circunstâncias ambientais, as quais alteram a expressão hereditária e melhoram a capacidade da planta de se adaptar às condições provocadas (MEYER, 2015).

Devido a isso, pesquisadores começaram a reconsiderar as ligações entre genótipos e fenótipos, uma vez que se espera que as variações ampliem o espaço fenotípico vegetal para melhorar a adaptação das plantas sob condições ambientais oscilantes e/ou para assegurar o rendimento das culturas e a qualidade da produção (ZHANG *et al.*, 2013; SPRINGER, 2013; PIKAARD; MITTELSTEN, 2014). Há na literatura numerosos relatos que as mudanças epigenéticas podem ser mantidas durante muitas gerações (HAUBEN *et al.*, 2009).

Nesse contexto, desenvolveu-se abordagens e ferramentas para avaliar e quantificar variações epigenéticas em relação aos seus impactos não só nos processos de desenvolvimento das plantas e nas respostas em relação às restrições ambientais, como também, importantes características agrônomicas tais como respiração, eficiência na utilização de energia, componentes de rendimento e qualidade das sementes, as quais fornecem perspectivas práticas para os produtores (LONG *et al.*, 2011).

De acordo com Gallusci *et al.* (2017), as variações epigenéticas podem ser exploradas em modelos de previsão, no entanto, as suas características de transmissão e as estratégias de estabilidade devem ser totalmente caracterizadas para que ocorra uma previsão quantitativa dos impactos no fenótipo da espécie vegetal. Dessa maneira, a previsão do impacto das variações epigenéticas no fenótipo e no desempenho das plantas torna-se um grande desafio, uma vez que, apesar de ainda escassas, as abordagens de modelagem avaliam o valor acrescentado da reprogramação epigenética para o melhoramento vegetal (COLICCHIO *et al.*, 2015; HU *et al.*, 2015). A resposta da modelagem será útil para desenvolver estratégias de reprodução orientadas por modelos que se baseiem na seleção ou na geração de plantas de interesse com aspecto agrônômico específico (GALLUSCI *et al.*, 2017).

Segundo Ric-Varas *et al.* (2020), a super floração não ocorre geralmente na descendência dos parentais, o que, para os autores, indica que esta resposta é epigenética. Nesse sentido, quando genes que codificam as metiltransferases e as demetilases do DNA foram identificados em morango silvestre (*Fragaria vesca*), observou-se que alterações epigenéticas podem regular o início da maturação dos frutos (GU *et al.*, 2016).

A ocorrência natural da metilação do DNA é outra causa de mutação de plantas (WANG *et al.*, 2013). Os processos epigenéticos, como a metilação/demetilação do DNA, têm demonstrado desempenhar papéis importantes na regulação da expressão genética em razão da resposta a condições ambientais (ANGERS; CASTONGUAY; MASSICOTTE, 2010).

A disseminação da maçã (*Malus domestica*) se distingue por uma variabilidade genética muito elevada, a qual sempre acompanhou uma seleção adequada de modo que as formas saborosas e de grande porte prevalecessem (PEREIRA-LORENZO *et al.*, 2018). Estudos realizados por El-Sharkawy, Liang e Xu (2015) caracterizaram quatro fases de desenvolvimento de uma rara maçã mutante de casca amarela (deficiente em antocianina) e seu progenitor de cor vermelha ('Gala'). Uma série de análises da rede genética RNA-seq e co-expressão e ensaios de metilação demonstraram que a mutação de perda de cor na mutante é, provavelmente, a consequência da repressão coletiva de um módulo de rede genética de 34 genes altamente associados à antocianina. Além disso, os autores observaram que as atividades de metilação fortemente diferenciadas nas regiões promotoras (MR3 e MR7) de MdMYB10, fator de transcrição conhecido como principal regulador da antocianina na maçã, são provavelmente fatores epigenéticos causadores da variação da cor do fruto entre a mutante de casca amarela e seu progenitor com casca vermelha.

A disponibilidade adequada (elevada) de frio durante o período de dormência está associada à redução da metilação do genoma da maçã (*Malus x domestica* Borkh.) ao longo da superação do repouso vegetativo e da frutificação (KUMAR *et al.*, 2016). Além disso, os estudos demonstraram que a modificação epigenética através da metilação da citosina é um mecanismo regulador importante para controlar a superação da dormência na maçã e, possivelmente, é modulada pelo frio durante esse período. As variações da metilação da citosina têm o potencial de desempenhar um papel na plasticidade fenotípica como resposta ao estresse ambiental (WANG *et al.*, 2013).

Os flavonoides cítricos são um grupo diversificado de compostos, derivados da flavanona naringenina e modificados por metilação, entre outros processos, para formar vários derivados. Embora alguns genes que codificam as enzimas que biossintetizam a estrutura central tenham sido caracterizados nos citros, dados sobre os genes responsáveis pelo processo de metilação dos flavonoides ainda são escasso na literatura. Nesse contexto, novas pesquisas contribuirão para elucidar os mecanismos de acumulação de flavonoides em citros e facilitarão a estratégia de modificação do conteúdo e sua composição de flavonoides, sendo que sua melhoria do conteúdo e da composição por meio da manipulação da via biossintética será significativa para a saúde humana, bem como no incremento do valor de mercado da frutífera (MA *et al.*, 2020).

Possivelmente, os níveis de metilação não são estáticos durante o desenvolvimento e o amadurecimento dos citros, pois os perfis de expressão de vários genes relacionados com a metilação como CsMET1, CsCMT1, CsCMT2, CsDRM1, e CsDMEs mostraram maior expressão na casca do que na polpa da laranja (XU *et al.*, 2015).

Quando Rodrigues *et al.* (2012) estudaram a irradiação gama em cultivares de figueira (*Ficus carica* L.), concluíram que a variação fenotípica em plantas dessa frutífera poderia ser devido à variação epigenética, o que foi confirmado em trabalho posterior utilizando a técnica das enzimas de restrição sensíveis à metilação do DNA (RODRIGUES *et al.*, 2013). Assim como a análise transcriptômica de folhas, endosperma e tecidos embrionários em um estudo de expressão genética do coco (*Cocos nucifera*), indicou que a metilação do DNA orientada pelo RNA é fundamental para o desenvolvimento das sementes, principalmente na maturidade do endosperma (HUANG *et al.*, 2014b).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As marcas epigenéticas estão se tornando cada vez mais fundamentais para o entendimento do complexo sistema adaptativo das plantas às mudanças no ambiente, sendo a chave para o processo evolutivo e sobrevivência das espécies.

Assim, como a metilação do DNA se mostra como um dos mecanismos mais importantes nesse contexto, estudos nessa linha de pesquisa são de extrema relevância a fim de subsidiar trabalhos de conservação, melhoramento genético e incremento na produção das culturas frutíferas.

REFERÊNCIAS

- ALTSCHUL, S. F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E. W.; LIPMAN, D. J. Basic local alignment search tool. **Journal Molecular Biology**, [s. l.], v. 215, n. 3, p. 403-410, 1990.
- ANGERS, B.; CASTONGUAY, E.; MASSICOTTE, R. Environmentally induced phenotypes and DNA methylation: how to deal with unpredictable conditions until the next generation and after. **Molecular Ecology**, [s. l.], v. 19, n. 7, p. 1283-1295, 2010.
- ASHWELL, C. M.; ANGEL, R. Nutritional genomics: a practical approach by early life conditioning with dietary phosphorus. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. esp., p. 268-278, 2010.
- BEDNAREK, P. T.; ORŁOWSKA, R.; NIEDZIELA, A. A relative quantitative Methylation-Sensitive Amplified Polymorphism (MSAP) method for the analysis of abiotic stress. **BMC Plant Biology**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 79, 2017.
- BERG, J. J.; COOP, G. A population genetic signal of polygenic adaptation. **PloS Genetics**, [s. l.], v. 10, n. 8, p. 1-25, 2014.
- BERNSTEIN, B. E.; MEISSNER A.; LANDER, E. S. The mammalian epigenome. **Cell**, [s. l.], v. 128, p. 669-681, 2007.
- BIRD, A. Perceptions of epigenetics. **Nature**, [s. l.], v. 447, p. 396-8, 2007.
- BOCK, C. Analysing and interpreting DNA methylation data. **Nature Reviews**, [s. l.],

v. 13, p. 705-719, 2012.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 2013. 523 p.

BOSSDORF, O.; RICHARDS, C. L.; PIGLIUCCI, M. Epigenetics for ecologists. **Ecology Letters**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 106-115, 2008.

CARVALHO, C. **Anuário brasileiro de horti-fruti 2020**. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2019. 96 p.

CASADESUS, J.; LOW, D. Epigenetic gene regulation in the bacterial world. **Microbiology and molecular biology reviews**, Washington, v. 70, n. 3, p. 830-856, 2006.

CLAEYS, H.; INZÉ, D. The agony of choice: how plants balance growth and survival under water-limiting conditions. **Plant Physiology**, [s. l.], v. 162, n. 4, p. 1768-1779, 2013.

CLARK, S. J.; HARRISON, J.; PAUL, C. L.; FROMMER, M. High sensitivity mapping of methylated cytosines. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 22, n. 15, p. 2990-2997, 1994.

COKUS, S. J.; FENG, S.; ZHANG, X.; CHEN, Z.; MERRIMAN, B.; HAUDENSCHILD, C. D.; PRADHAN, S.; NELSON, S. F.; PELLEGRINI, M.; JACOBSEN, S. E. Shotgun bisulphite sequencing of the Arabidopsis genome reveals DNA methylation patterning. **Nature**, [s. l.], v. 452, p. 215-219, 2008.

COLICCHIO, J. M.; MIURA, F.; KELLY, J. K.; ITO, T.; HILEMAN, L. C. DNA methylation and gene expression in *Mimulus guttatus*. **BMC Genomics**, v. 16, n. 507, p. 1-15, 2015.

DODGE, E.; RAMSAHOYE, B. H.; WO, Z. G.; OKAMO, M. Methylation of MMLV provirus in embryonic stem cells: CpG versus non -CpG methylation. **Gene**, [s. l.], v. 289, p. 41-48, 2002.

DOOREN, T. J. M.; SILVEIRA, A. B.; GILBAULT, E.; JIMÉNEZ-GÓMEZ, J. M.; MARTIN, A.; BACH, L.; TISNÉ, S.; QUADRANA, L.; LOUDET, O.; COLOT, V. Mild drought in the vegetative stage induces phenotypic, gene expression and DNA methylation plasticity in Arabidopsis but no transgenerational effects. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 170, n. 12, p. 3588-3602, 2020.

EL-SHARKAWY, I.; LIANG, D.; XU, K. Transcriptome analysis of an apple (*Malus domestica*) yellow fruit somatic mutation identifies a gene network module highly associated with anthocyanin and epigenetic regulation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 66, n. 22, p. 7359-7376, 2015.

FACHINELLO, J.C.; PASA, M.S.; SCHMTIZ, J.D.; BETEMPS, D.L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 109-120, 2011.

FENG, S.; JACOBSEN, S. E. Epigenetic modifications in plants: an evolutionary perspective. **Current Opinion in Plant Biology**, Londres, v. 14, n. 2, p. 179-186, 2011.

FERNANDEZ, A. F.; ASSENOV, Y.; MARTIN-SUBERO, J. I.; BALINT, B.; SIEBERT, R.; TANIGUCHI, H.; YAMAMOTO, H.; HIDALGO, M.; TAN, A.-C.; GALM, O.; FERRER, I.; SANCHEZ-CESPEDES, M.; VILLANUEVA, A.; CARMONA, J.; SANCHEZ-MUT, J. V.; BERDASCO, M.; MORENO, V.; CAPELLA, G.; MONK, D.; BALLESTAR, E.; ROPER, S.; MARTINEZ, R.; SANCHEZ-CARBAYO, M.; PROSPER, F.; AGIRRE, X.; FRAGA, M. F.;

GRAÑA, O.; PEREZ-JURADO, L.; MORA, J.; PUIG, S.; PRAT, J.; BADIMON, L.; PUCA, A. A.; MELTZER, S. J.; LENGAUER, T.; BRIDGEWATER, J.; BOCK, C.; ESTELLER, M. A DNA methylation fingerprint of 1628 human samples. **Genome Research**, Cold Spring Harbor, v. 22, n. 2, p. 407-419, 2012.

FERNÁNDEZ-MILMANDA, G. L.; CROCCO, C. D.; REICHELT, M.; MAZZA, C. A.; KÖLLNER, T. G.; ZHANG, T.; CARGNEL, M. D.; LICHY, M. Z.; FIORUCCI, A.-S.; FANKHAUSER, C.; KOO, A. J.; AUSTIN, A. T.; GERSHENZON, J.; BALLARÉ, C. L. A light-dependent molecular link between competition cues and defence responses in plants. **Nature Plants**, [s. l.], v. 6, p. 223-230, 2020.

FRAGA, M. F.; BALLESTAR, E.; PAZ, M. F.; ROPERO, S.; SETIEN, F.; BALLESTAR, M. L.; HEINE-SUÑER, D.; CIGUDOSA, J. C.; URIOSTE, M.; BENITEZ, J.; BOIX-CHORNET, M.; SANCHEZ-AGUILERA, A.; LING, C.; CARLSSON, E.; POULSEN, P.; VAAG, A.; STEPHAN, Z.; SPECTOR, T. D.; WU, Y.-Z.; PLASS, C.; ESTELLER, M. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 102, n. 30, p. 106-109, 2005.

FRANKHAM, R. Genetics and extinction. **Biological Conservation**, [s. l.], v. 126, n. 2, p. 131-140, 2005.

FROMMER, M.; MCDONALD, L. E.; MILLAR, D. S.; COLLIS, C. M.; WATT, F.; GRIGG, G. W.; MOLLOY, P. L.; PAUL, C. L. A genomic sequencing protocol that yields a positive display of 5-methylcytosine residues in individual DNA strands. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 89, n. 5, p. 1827-1831, 1992.

GALLUSCI, P.; DAI, Z.; GÉNARD, M.; GAUFFRETAU, A.; LEBLANC-FOURNIER, N.; RICHARD-MOLARD, C.; VILE, D.; BRUNEL-MUGUET, S. Epigenetics for Plant Improvement: Current Knowledge and Modeling Avenues. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 22, n. 7, p. 610-623, 2017.

GU, T.; REN, S.; WANG, Y.; HAN, Y.; LI, Y. Characterization of DNA methyltransferase and demethylase genes in *Fragaria vesca*. **Molecular Genetics and Genomics**, [s. l.], v. 291, n. 3, p. 1333-1345, 2016.

GUERRERO-PRESTON, R.; GOLDMAN, L. R.; BREBI-MIEVILLE, P.; ILI-GANGAS, C.; LEBRON, C.; WITTER, F. R.; APELBERG, B. J.; HERMÁNDEZ-ROYSTACHER, M.; JAFFE, A.; HALDEN, R. U. Global DNA hypomethylation is associated with in utero exposure to cotinine and perfluorinated alkyl compounds. **Epigenetics**, Georgetown, v. 5, n. 6, p. 539-546, 2010.

HANSEN M. M.; OLIVIERI I.; WALLER D. M.; NIELSEN E. E. Monitoring adaptive genetic responses to environmental change. **Molecular Ecology**, [s. l.], v. 21, n. 6, p. 1311-1329, 2012.

HASBÚN, R.; ITURRA, C.; BRAVO, S.; REBOLLEDO-JARAMILLO, B.; VALLEDOR, L. Differential Methylation of Genomic Regions Associated with Heteroblasty Detected by M&M Algorithm in the Nonmodel Species *Eucalyptus globulus* Labill. **International Journal of Genomics**, [s. l.], v. 2016, n. esp., p. 1-7, 2016.

HAUBEN, M.; HAESSENDONCKX, B.; STANDAERT, E.; VAN DER KELEN, K.; AZMI, A.; AKPO, H.; VAN BREUSEGEM, F.; GUISEZ, Y.; BOTS, M.; LAMBERT, B.; LAGA, B.; DE BLOCK, M. Energy use efficiency is characterized by an epigenetic component that can be directed. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 106, n. 47, p. 20109-20114, 2009.

HAYATSU, H. Discovery of bisulfite-mediated cytosine conversion to uracil, the key

reaction for DNA methylation analysis: a personal account. **Proceedings of the Japan Academy**, v. 84, n. 8, p. 321-330, 2008.

HE, S. L.; HOLLINGSWORTH, P.; YI, T. S.; LI, D. Z. Environmental and Historical Determinants of Patterns of Genetic Differentiation in Wild Soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc). **Scientific Reports**, v. 6, n. 22795, p. 1-11, 2016.

HU, Y.; MOROTA, G.; ROSA, G. J. M.; GIANOLA, D. Prediction of plant height in *Arabidopsis thaliana* using DNA methylation data. **Genetics**, [s. l.], v. 201, n. 2, p. 779-793, 2015.

HUANG, P.; FELDMAN, M.; SCHRODER, S.; BAHRI, B. A.; DIAO, X.; ZHI, H.; ESTEP, M.; BAXTER, I.; DEVOS, K. M.; KELLOGG, E. A. Population genetics of *Setaria viridis*, a new model system. **Molecular ecology**, [s. l.], v. 23, n. 20, p. 4912-4925, 2014a.

HUANG, Y. Y.; LEE, C. P.; FU, J. L.; CHANG, B. C. H.; MATZKE, A. J. M.; MATZKE, M. De novo transcriptome sequence assembly from coconut leaves and seeds with a focus on factors involved in RNA-directed DNA methylation. **G3 (Bethesda)**, Bethesda, v. 4, n. 11, p. 2147-2157, 2014b.

INGLIS, P. W.; SILVA, J. P.; PAPPAS, M. C. R.; GRATTAPAGLIA, D. Implantação de Metodologia MSAP (Methylation Sensitive Amplified Polymorphism) para Análise Global de Diversidade Epigenética. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**: comunicado técnico, v. 1, p. 1- 9, 2016.

JABLONKA, E.; RAZ, G. Transgenerational epigenetic inheritance: prevalence, mechanisms and implications for the study of heredity and evolution. **The Quarterly Review of Biology**, v. 84, p. 131-176, 2009.

JUHÁSZ, A. C. P.; RESENDE, M. D. V. de; LAVIOLA, B. G.; COSTA, M. R. Melhoramento genético de *Jatropha curcas*: considerações e metodologias. In: RESENDE, J. C. F. de; LONDE, L. N.; NEVES, W. dos S. (ed.). **Pinhão-mansô**. Nova Porteirinha: Epamig, 2013. p. 89-152.

KOLIVAND, H.; FERN, B. M.; RAHIM, M. S. M.; SULONG, G.; BAKER, T.; TULLY, D. An expert botanical feature extraction technique based on phenetic features for identifying plant species. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 1-28, 2018.

KRUEGER, F.; ANDREWS, S. R. Bismark: a flexible aligner and methylation caller for Bisulfite-Seq applications. **Bioinformatics**, Oxford, v. 27, n. 11, p. 1571-1572, 2011.

KUMAKI, Y.; ODA, M.; OKANO, M. QUMA: quantification tool for methylation analysis. **Nucleic acids research**, Londres, v. 36, p.170-175, 2008.

KUMAR, G.; RATTAN, U. K.; SINGH, A. K. Chilling-mediated DNA methylation changes during dormancy and its release reveal the importance of epigenetic regulation during winter dormancy in apple (*Malus x domestica* Borkh.). **PLoS ONE**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 1-25, 2016.

LONG, Y.; XIA, W.; LI, R.; WANG, J.; SHAO, M.; FENG, J.; KING, G. J.; MENG, J. Epigenetic QTL mapping in *Brassica napus*. **Genetics**, [s. l.], v. 189, n. 3, p. 1093-1102, 2011.

MA, G.; ZHANG, L.; SUGIURA, M.; KATO, M. Citrus and health. In: TALON, M.; CARUSO, M.; GMITTER JUNIOR, F. G. (ed.). **The Genus Citrus**. Cambridge - UK, [s. n.], 2020. p. 495-511.

MANNING, K.; TOR, M.; POOLE, M.; HONG, Y. A naturally occurring epigenetic

mutation in a gene encoding an SBPbox transcription factor inhibits tomato fruit ripening. **Nature genetics**, Nova Iorque, v. 38, n. 8, p. 948-952, 2006.

MARTIN, A.; TROADEC, C.; BOUALEM, A.; RAJAB, M. A transposon-induced epigenetic change leads to sex determination in melon. **Nature**, [s. l.], v. 461, n. 7267, p. 1135-1138, 2009.

MEYER, P. Epigenetic variation and environmental change. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 66, n. 12, p. 3541-3548, 2015.

MITA, S.; THUILLET, A. C.; GAY, L.; AHMADI, N.; MANEL, S.; RONFORT, J.; VIGOUROUX, Y. Detecting selection along environmental gradients: analysis of eight methods and their effectiveness for outbreeding and selfing populations. **Molecular ecology**, Oxford, v. 22, n. 5, p. 1383-1399, 2013.

PALACE, M.; SULLIVAN, F. B.; DUCEY, M.; HERRICK, C. Estimating Tropical Forest Structure Using a Terrestrial Lidar. **PLoS One**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 1-19, 2016.

PEDERSEN, B.; HSIEH, T. F.; IBARRA, C.; FISCHER, R. L. MethylCoder: software pipeline for bisulfite-treated sequences. **Bioinformatics**, v. 27, n. 17, p. 2435-2436, 2011.

PENNA, J. C. V. Melhoria do algodão. In: BORÉM, A. (ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2005. p. 15-23.

PEREIRA-LORENZO, S.; FISCHER, M.; RAMOS-CABRER, A. M.; CASTRO, I. Apple (*Malus* spp.) Breeding: present and future. In: AL-KHAYRI, J. M.; JAIN, S. M.; JOHNSON, D. V. (ed.). **Advances in Plant Breeding Strategies: fruits**. Cham: Springer, 2018. p. 3-29.

PIKAARD, C. S.; SCHEID, O. M. Epigenetic regulation in plants. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, Woodbury, v. 6, n. 12, p. 1-31, 2014.

PLATT, A.; HORTON, M.; HUANG, Y. S.; LI, Y.; ANASTASIO, A. E.; MULYATI, N. W. The scale of population structure in *Arabidopsis thaliana*. **PLoS genetics**, San Francisco, v. 6, n. 2, p. 1-8, 2010.

RESENDE, M. A. V. DE; FREITAS, J. A. DE; LANZA, M. A.; RESENDE, M. D. V. de; AZEVEDO, C. F. Divergência genética e índice de seleção via BLUP em acessos de algodoeiro para características tecnológicas da fibra. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 3, p. 334-340, 2014.

REYNA-LÓPEZ, G. E.; SIMPSON, J.; RUIZ-HERRERA, J. Differences in DNA methylation patterns are detectable during the dimorphic transition of fungi by amplification of restriction polymorphism. **Molecular & general genetics**, Berlin, v. 253, n. 6, p. 703-710, 1997.

RIC-VARAS, P.; PALOMO-RÍOS, E.; MATAS, A. J.; PLIEGO-ALFARO, F.; MERCADO, J. A. *Fragaria x ananassa* Strawberry. In: LITZ, R. E.; PLIEGO-ALFARO, F.; HORMAZA, J. I. (ed.). **Biotechnology of Fruit and Nut Crops**. Londres: CAB International, 2020. p. 418-439.

RODRIGUES, M. G. F.; MARTINS, A. B. G.; BERTONI, B. W.; FIGUEIRA, A.; GIULIATTI, S. Search for methylation-sensitive amplification polymorphisms in mutant figs. **Genetics and Molecular Research**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 2267-2280, 2013.

RODRIGUES, M. G. F.; MARTINS, A. B. G.; DESIDÉRIO, J. A.; BERTONI, B. W.; ALVES, M. C. Genetic characterization of fig tree mutants with molecular markers.

Genetics and Molecular Research, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 1990-1996, 2012.

RÖPER, A. C.; ORABI, J.; LÜTKEN, H.; CHRISTENSEN, B.; SKOU, A. M. T.; MÜLLER, R. Phenotypic and Genotypic Analysis of Newly Obtained Interspecific Hybrids in the *Campanula* Genus. **PLoS One**, [s. l.], v. 10, n. 9, p. 1-21, 2015.

SACKTON, T. B.; CLARK, N. Convergent evolution in the genomics era: new insights and directions. **Philosophical transactions of the royal society B**, [s. l.], v. 374, n. 1777, p.1-4, 2019.

SCHAEFER, M.; POLLEX, T.; HANNA, K.; LYKO, F. RNA cytosine methylation analysis by bisulfite sequencing. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 1-10, 2009.

SMITH, Z. D.; GU, H.; BOCK, C.; GNIRKE, A.; MEISSNER, A. High-throughput bisulfate sequencing in mammalian genomes. **Methods**, San Diego, v. 48, n. 3, p. 226-232, 2009.

SPRINGER, N. M. Epigenetics and crop improvement. **Trends in Genetics**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 241-247, 2013.

STOJANOVIĆ, M.; PEZO, L.; LAČNJEVAC, Č.; MIHAJLOVIĆ, M.; PETROVIĆ, J.; MILOJKOVIĆ, J. Biometric approach in selecting plants for phytoaccumulation of uranium. **International journal of phytoremediation**. n, Boca Raton, v. 18, n. 5, p. 527-533, 2016.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T. V. de; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, Londres, v. 23, n. 21, p. 4407-4414, 1995.

WANG, Z.; MENG, D.; WANG, A.; LI, T.; JIANG, S.; CONG, P.; LI, T. The methylation of the PcMYB10 promoter is associated with green-skinned sport in max red bartlett pear. **Plant Physiology**, [s. l.], v. 162, n. 2, p. 885-896, 2013.

XI, Y.; LI, W. BSMAP: whole genome bisulfite sequence MAPping program. **Bioinformatics**, [s. l.], v. 10, n. 232, p. 1-9, 2009.

XU, J.; XU, H.; XU, Q.; DENG, X. Characterization of DNA methylation variations during fruit development and ripening of sweet orange. **Plant Molecular Biology Reporter**, [s. l.], v. 33, p. 1-11, 2015.

ZHANG, H. M.; LANG, Z. B.; ZHU, J. K. Dynamics and function of DNA methylation in plants. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [s. l.], v. 19, n. 8, p. 489-506, 2018.

ZHANG, X.; YAZAKI, J.; SUNDARESAN, A.; COKUS, S.; CHAN, S.W.; CHEN, H.; HENDERSON, I. R.; SHINN, P.; PELLEGRINI, M.; JACOBSEN, S. E.; ECKER, J.R. Genome-wide high-resolution mapping and functional analysis of DNA methylation in *Arabidopsis*. **Cell**, Cambridge, v. 126, n. 6, p.1189-1201, 2006.

ZHANG, Y. Y.; FISCHER, M.; COLOT, V.; BOSSDORF, O. Epigenetic variation creates potential for evolution of plant phenotypic plasticity. **New Phytologist**, Londres, v. 197, n. 1, p. 314-322, 2013.

ZILBERMAN, D.; GEHRING, M.; TRAN, R. K.; BALLINGER, T.; HENIKOFF, S. Genome-wide analysis of *Arabidopsis thaliana* DNA methylation uncovers an interdependence between methylation and transcription. **Nature Genetics**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 61-69, 2007.

CAPÍTULO 22

PREDIÇÃO DE VALOR GENÉTICO EM ESPÉCIES DO GÊNERO *EUCALYPTUS*: MÉTODOS TRADICIONAIS VS INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL

Yanca Araujo Frias

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Victor Hugo Cruz

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

João Paulo Pereira Chitéro

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Lorena Marques Compareti

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Paulo Renato Matos Lopes

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Rafael Simões Tomaz

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Resumo

Com o estabelecimento comercial da espécie *Eucalyptus spp*, várias pesquisas e programas de melhoramento foram iniciados com o intuito de gerar indivíduos superiores geneticamente. Para tanto, são utilizados métodos estatísticos que permitem prever o valor genético dos indivíduos. Uma nova classe de metodologias baseadas em inteligência artificial tem sido desenvolvida e aplicada às mais diversas áreas das ciências florestais. As Redes Neurais Artificiais (ANN) - "*Artificial Neural Networks*" - têm sido utilizadas na modelagem florestal para estimar o desempenho de indivíduos baseados em características como diâmetro à altura do peito (DAP), altura (H) e volume (V) de árvores. Dentre as ANN, vêm se destacando as redes de aprendizagem profunda ou "*Deep Learning*", utilizadas para executar funções complexas e resolver problemas. O uso de tais tecnologias tem ocorrido de forma concomitante a técnicas tradicionais. Nesse sentido, este capítulo tem como objetivo apresentar exemplos de predição de valor genético e a aplicação em progênies híbridas de *E. grandis* e *E. urophylla* por meio de método REML-BLUP e por meio de método baseado em Redes Neurais Artificiais (*Deep Learning*), de forma a permitir uma avaliação comparativa entre as metodologias e buscar a aplicação prática dessas últimas na resolução de problemas associados ao melhoramento florestal.

1 INTRODUÇÃO

As florestas plantadas de espécies do gênero *Eucalyptus* em solo brasileiro correspondem a 6,97 milhões de hectares (INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES - IBÁ, 2020), sendo de grande importância econômica tanto no Brasil quanto no mundo. A estratégia de melhoramento associadas a tais espécies resultam basicamente da combinação do uso de delineamentos genéticos e estatísticos, e métodos de seleção, sendo que uma etapa básica envolve normalmente a implantação de testes de progênies a partir dos quais os materiais genéticos são identificados e selecionados (PIRES *et al.*, 2011).

Associado ao processo de melhoramento genético, uma mensuração mais acurada conduz à predição do valor genético também mais acurado, o que permite ao melhorista genético selecionar os indivíduos que vão proporcionar maiores ganhos genéticos. Segundo Bhering *et al.* (2015), as mensurações florestais constituem um elemento importante no manejo florestal, uma vez que fornecem informações precisas sobre a floresta, permitindo a adequada tomada de decisão. A avaliação das características mensuradas tem sido realizada por meio do procedimento chamado de Máxima Verossimilhança Restrita - Melhor Predição Linear Não-Viesada (REML-BLUP), sendo considerado o procedimento padrão para avaliação genética de experimentos florestais, permitindo a obtenção de estimativas precisas e acuradas dos parâmetros genéticos e dos valores genotípicos (RESENDE, 2016).

No entanto, uma nova categoria de metodologias, baseadas em inteligência artificial têm sido utilizadas com sucesso em diversas áreas das ciências agrárias. As Redes Neurais Artificiais (ANN) – “*Artificial Neural Networks*” – surgiram como uma área da informática cujo objetivo básico era o de criar modelos artificiais de forma a imitar o cérebro humano (BRAGA; CARVALHO; LUDERMIR, 2000; HAYKIN, 2008), que na prática funciona como um modelo não linear dependente da estrutura a qual foi especificada para a rede (GOODFELLOW; BENGIO; COURVILLE, 2016).

As aplicações da metodologia na genética florestal existem, embora escassas. De acordo com Zhou *et al.* (2018), devido às suas propriedades, as ANN têm se tornado um método interessante para estudar e emular as relações existentes em sistemas complexos como os ecossistemas florestais. Özçelik *et al.* (2010) utilizaram dois tipos de modelos de ANN visando a avaliação dendrométrica em quatro espécies florestais, tendo obtido resultados satisfatórios. Bhering *et al.* (2015) relataram que foram capazes de prever volume em eucalipto com as ANN.

Assim, a demanda pela pesquisa para obtenção de parâmetros genéticos por meio das ANN vem crescendo, de forma a permitir que elas sejam utilizadas no processo de seleção genética. Nesse sentido, este capítulo objetivou apresentar exemplos de aplicação e comparar a aplicação entre o método REML-BLUP e o método baseado em Redes Neurais Artificiais (*Deep*

Learning) no melhoramento genético florestal.

2 MELHORAMENTO GENÉTICO FLORESTAL

O melhoramento genético é a aplicação de técnicas de seleção e recombinação, com vistas ao aumento da frequência dos alelos favoráveis das características de interesse, em uma dada população (PIRES *et al.*, 2011). Ele depende da correta escolha dos melhores indivíduos para serem os genitores das próximas gerações (CRUZ; CARNEIRO, 2006). Uma das maneiras de identificar os indivíduos portadores de genes desejáveis se faz por meio da avaliação genética. A seleção deve ser realizada com base nos valores genéticos aditivos dos indivíduos que serão utilizados na recombinação, e por meio dos valores genotípicos dos indivíduos que serão clonados, sendo necessária a obtenção da estimativa da variância genética aditiva para a predição de ganhos a partir de estratégias baseadas na reprodução sexuada; e também da variância genética não aditiva, para estratégias baseadas na reprodução assexuada (ROCHA *et al.*, 2006).

As estratégias de melhoramento de espécies perenes resultam basicamente da combinação entre delineamentos genéticos e estatísticos, e métodos de seleção considerando a estrutura das populações. A etapa básica do processo de melhoramento refere-se à implantação de testes de progênies e testes clonais, a partir dos quais os materiais genéticos serão selecionados e/ou recombinados para recomendação em plantios de produção ou para a continuidade do melhoramento (PIRES *et al.*, 2011). Dessa maneira, a utilização de testes genéticos auxilia na seleção de materiais com maior crescimento, produtividade e qualidade. Nesse sentido, os testes de progênies são de grande importância, pois permitem estimar parâmetros genéticos entre e dentro de famílias, e os ganhos genéticos mediante seleção (AZEVEDO *et al.*, 2015).

As espécies do gênero *Eucalyptus* assumem grande importância econômica tanto no Brasil quanto no mundo. Em relatório emitido no ano de 2020, a IBÁ contabilizou, em 2019, o total de 9 milhões de hectares de árvores plantadas no país, sendo 6,97 milhões de hectares de *Eucalyptus*, 1,64 milhões de hectares de *Pinus* e 0,39 milhão de hectares de outras espécies. Dessa forma, o eucalipto é a espécie exótica mais plantada no Brasil devido à sua adaptação às condições edáficas, e por apresentar rápido crescimento, alta produtividade de madeira, ciclos curtos de produção se comparado com espécies nativas do país, aliado à multiplicidade de uso das diversas espécies.

No Brasil, um dos usos mais expressivos da madeira de eucalipto está relacionada à produção de celulose de fibra curta. Dentre as espécies utilizadas para tal fim, têm sido utilizados o *Eucalyptus saligma*, o *Eucalyptus globulus*, o *Eucalyptus dunni*, o *Eucalyptus grandis*, o *Eucalyptus urophylla*, além dos seus híbridos, que visam combinar as boas características de crescimento

com as desejáveis características industriais, com destaque para o *E. grandis* x *E. urophylla*, que, segundo Paiva *et al.* (2011), tem sido chamado de *E. urograndis*. De acordo com Rocha *et al.* (2006), a utilização desse híbrido tem permitido aliar o grande potencial de adaptação, rusticidade, capacidade de brotação e rápido crescimento do *E. urophylla* com as propriedades físico-químicas, de rendimento de polpa, e de qualidade de madeira do *E. grandis* (CARVALHO, 2000; GONÇALEZ *et al.*, 2014), desejáveis ao processo industrial de extração da celulose. Independente das condições climáticas, clones de *E. urophylla* x *E. grandis* têm sido amplamente plantados no Brasil, sendo relatados clones adaptados e produtivos (PAIVA *et al.*, 2011).

Agronomicamente, buscam-se clones com bom desempenho para as características altura total (H) e diâmetro à altura do peito (DAP), as quais são facilmente mensuráveis em campo. A altura total das árvores, uma vez que possui alta correlação com o volume de madeira no fuste (CAMPOS *et al.*, 2016), é necessária para a sua estimação. O DAP, mensurado a 1,30 metros de altura, é considerado a principal medida a ser obtida da árvore (SCOLFORO; THIERSCH, 2004) uma vez que a sua mensuração permite a obtenção do volume, área basal, peso e sortimentos. O volume de madeira é obtido pela aplicação de modelos volumétricos, de razão volumétrica ou de afilamento, que, em sua maioria, possuem como variáveis independentes o DAP e H (BINOTI; BINOTI; LEITE, 2013). Outras características desejáveis, como a densidade da madeira, estão diretamente relacionadas com a espessura da parede celular e com o diâmetro das fibras de celulose. O incremento na densidade básica da madeira promove um ganho adicional na quantidade de celulose contida em um metro cúbico de madeira, o que proporciona economia em todas as operações de manuseio desta (ASSIS, 1996). No caso da produção de celulose, é notório a preferência por madeira que apresenta densidade variando de 0,40 a 0,58 g/cm³, com alto teor de celulose e baixo teor de lignina, além de apresentar coloração clara, o que facilita o processo de branqueamento da celulose (PAIVA *et al.*, 2011).

Com o estabelecimento da espécie, várias pesquisas e programas de melhoramento foram iniciados, a fim gerar indivíduos superiores genética e fenotipicamente, adaptados aos mais diversos ambientes. Um dos delineamentos mais usados em programas de melhoramento é o teste de progênies híbridas (TPH), no qual são avaliadas famílias, normalmente constituídas por meios-irmãos, irmãos completos de *E. urograndis* ou outros híbridos (PIRES *et al.*, 2011). Dessa forma, o TPH constitui uma forma de promover a ocorrência de heterose ou vigor híbrido para aquelas características que apresentam dominância alélica (PIRES *et al.*, 2011), permitindo a obtenção de genótipos superiores por meio da junção das características desejáveis das duas espécies. Para tanto, faz-se necessária a estimação de parâmetros genéticos os quais permitirão nortear o processo de tomada de decisão, e estimar ganhos com o processo de melhoramento genético.

A partir das avaliações do TPH, os materiais selecionados são reavaliados

em testes clonais de menor escala, sendo esses avaliados por diversos anos e locais. Devem ser avaliadas as capacidades do material genético com relação ao seu potencial de propagação vegetativa e sua capacidade de proporcionar mudas de qualidade (ALFENAS *et al.*, 2009). Previamente ao plantio em escala comercial, os clones devem ser submetidos a testes clonais ampliados, o que consiste basicamente em avaliá-los em diferentes condições edafoclimáticas representativas da empresa, e em maior escala, visando confirmar a superioridade do material genético selecionado. De acordo com Alfenas *et al.* (2009), o ideal é executar os testes clonais de modo a submeter os clones a uma ampla diversidade de ambientes.

3 PREDIÇÃO DE VALOR GENÉTICO

Dentre os principais procedimentos para a estimação dos parâmetros genéticos em TPH, destacam-se a análise de variância (ANOVA), utilizada visando a obtenção de componentes de variância a partir das esperanças matemática dos quadrados médios (RESENDE, 2007), e o procedimento REML-BLUP. Na genética florestal, no entanto, esse último procedimento tem sido largamente utilizado e recomendado devido às suas propriedades.

3.1 REML-BLUP

O método REML-BLUP constitui o procedimento padrão para avaliação genotípica em experimentos florestais, permitindo a obtenção de estimativas precisas e acuradas dos parâmetros genéticos e dos valores genotípicos (RESENDE, 2016). Este procedimento é considerado uma generalização da ANOVA para situações mais complexas, permitindo lidar com dados desbalanceados, e com parentesco entre tratamentos (RESENDE, 2016). Ainda, ele possui algumas vantagens práticas em seu uso, que, de acordo com Resende (2016), são:

- permitir a comparação de indivíduos ou variedades ao longo do tempo (gerações, anos) e espaço (diferentes locais e/ou blocos em um mesmo local);
- permitir a correção simultânea de efeitos ambientais; estimar componentes de variância e prever de valores genéticos de forma acurada; e
- permitir lidar com estruturas de dados complexas, sejam elas mensurações repetidas, informações de diversos anos e/ou locais, sendo altamente recomendado o tratamento de dados com algum grau de desbalanceamento.

Segundo Resende (2007), o BLUP é o procedimento de seleção ideal para obtenção dos efeitos genéticos aditivos (a), dos efeitos de dominância (d) e dos valores genotípicos (g), por possuir algumas propriedades importantes,

a citar:

- o BLUP maximiza a correlação entre as predições dos valores genéticos e os valores genéticos verdadeiros quando os indivíduos são avaliados nas mesmas condições ambientais, uma vez que minimiza o erro de predição;
- o BLUP é não viciado, conforme requerido na sua derivação, ou seja,;
- o BLUP de $L'\hat{g}$ é invariante, isto é, $L'\hat{g}$ tem translação invariante. Isso é consequência da restrição; e
- na análise dos preditores lineares com média zero, o BLUP $L'\hat{g}$ maximiza a probabilidade de um correto ordenamento dos elementos de g , o que confere ao método a qualidade de ótimo.

Dessa forma, o BLUP permite a estimação de efeitos fixos simultaneamente com a predição dos efeitos aleatórios sendo, portanto, mais completo e conduzindo à maximização do ganho genético por ciclo de seleção. Associado a ele, o método iterativo REML tem sido utilizado visando a obtenção de estimativas não-viciadas de componentes de variância, sendo superior ao método dos quadrados mínimos, largamente utilizado pela comunidade científica. Diversos exemplos de utilização de modelos dessa natureza são encontrados na literatura.

Alves *et al.* (2018) avaliaram a aplicabilidade e eficiência do BLUP na seleção genética de *Eucalyptus*. Os caracteres estudados foram H, DAP e volume. Os componentes de variância e os parâmetros genéticos foram preditos por meio do REML-BLUP, e conduziram à obtenção de elevadas estimativas de herdabilidades. Castro *et al.* (2018) relataram a utilização do software Selegen REML-BLUP (RESENDE, 2016), visando investigar o comportamento das populações clonais de eucalipto em 3 e 9 anos de idade, o padrão de interação genótipos x ambiente (interação GxA) nos dois anos, e a ocorrência de diferenças na expressão dos valores genotípicos dos clones entre os ambientes. Já Furlan (2018) relatou a utilização do procedimento REML-BLUP na obtenção de parâmetros genéticos e seleção de clones de *Eucalyptus* visando a tolerância à seca, e no estudo da interação GxA, tendo encontrado resultados satisfatórios.

3.2 ANN (Artificial Neural Networks)

As ANN são um tipo de sistema de inteligência artificial semelhante ao cérebro humano, tendo uma capacidade computacional adquirida através da aprendizagem (BRAGA; CARVALHO; LUDERMIR, 2000).

De acordo com Russell *et al.* (1995), as ANN podem ser interpretadas como um modelo matemático para a representação das operações do cérebro, sendo que os elementos aritméticos da computação representam os neurônios e a rede corresponde à coleção de neurônios interconectados. As

ANN são constituídas de unidades de processamento simples, denominadas neurônio artificial, sendo esse composto por: um conjunto de conexões, cada uma delas com um peso; um elemento somatório capaz de somar as informações de entrada; e uma função de ativação com o intuito de restringir a amplitude da resposta, e disparar uma saída associada ao neurônio (BRAGA; CARVALHO; LUDERMIR, 2000). O neurônio artificial é a unidade básica de processamento das ANN (HAYKIN, 2008), sendo uma estrutura projetada para funcionar de forma análoga ao neurônio biológico, apresentando as mesmas características e possuindo a capacidade de adquirir conhecimento.

O termo rede neural, de acordo com Hastie, Tibshirani e Friedman (2008), tem sido utilizado para englobar um grande conjunto de modelos e métodos de aprendizagem que envolvem normalmente modelos estatísticos não lineares. Uma rede neural constitui-se de uma regressão em dois estágios ("*two-stage regression*") ou um modelo de classificação, normalmente representado em um diagrama de rede. Essa categoria de rede pode ser utilizada para modelar uma ou múltiplas variáveis quantitativas, categóricas, ou suas combinações. Os autores ainda ressaltaram que existe certa dificuldade do entendimento científico da metodologia, fazendo-a parecer algo mágico ou misterioso por parte de pesquisadores acostumados com o uso de modelos determinísticos ou estocásticos.

Para Castro *et al.* (2013), uma ANN pode ajudar a identificar as variáveis de entrada mais críticas para prever o crescimento em DAP e H, e fornece uma melhor compreensão da dinâmica dos modelos em nível de árvore individual, tornando-se uma ferramenta valiosa para o manejo florestal dos eucaliptos.

Özçelik *et al.* (2010) relataram que as ANN são normalmente referidas como uma caixa preta ("*black-box*"), dado ao fato de seus coeficientes ou pesos não serem interpretáveis, e devido às suas propriedades tais como: a existência de camadas ocultas de neurônios, e a utilização de funções não lineares para o tratamento da informação. Os autores ressaltam ainda que, embora na prática a ANN constitua-se de uma metodologia de modelagem matemática, não compreendemos ao certo como elas aprendem a solução de um problema particular, e como elas são capazes de extrapolar conclusões.

A dinâmica de um estudo baseado em ANN exige que, para cada problema, é necessário ajustar uma arquitetura de rede com um número variável de camadas intermediárias ocultas, com quantidade de neurônios e funções de ativação específicas. Redes dessa natureza são referenciadas como redes neurais artificiais profundas, ou por meio do termo "*Deep Learning*" (GOODFELLOW; BENGIO; COURVILLE, 2016). Essas, algumas vezes são bastante simples, mas, dependendo do tipo de problema, podem se tornar muito complexas. Sua utilização prática envolve processos de treinamento, aprendizado e validação, devendo-se considerar a arquitetura planejada anteriormente (SILVA; SPATTI; FLAUZINO, 2010).

Uma das propriedades que torna as ANN atraentes é a habilidade de detectar implicitamente relações não lineares dos dados sem a necessidade de especificação prévia de um modelo (MARTINS *et al.*, 2016), diferindo da abordagem por regressão. Além disso, a modelagem por meio de ANN permite a inclusão de variáveis de diversas naturezas com certa facilidade. No entanto, a parte mais delicada da modelagem é a generalização, o desenvolvimento de um modelo que seja confiável para prever os valores de saída, usando um novo conjunto de dados (ÖZÇELİK *et al.*, 2010). Quando não modelada de forma adequada, a rede é susceptível ao chamado “*overfitting*”, o que faz com que a ANN memorize ou decore os exemplos individuais, ao invés de “entender” e “encontrar tendências” no conjunto de dados.

Conforme Zhou *et al.* (2018), devido à sua adaptabilidade e flexibilidade, as ANN têm se tornado um método interessante para estudar e emular as relações existentes em sistemas complexos como os ecossistemas florestais. Segundo os autores, elas têm sido capazes de lidar com estruturas de dados robustas e inter-relacionadas, e, por tal motivo, têm se tornado um método popular entre os cientistas de dados. De acordo com Gianfranco, Laura e David (2007), elas detêm ainda a propriedade de serem pouco afetadas por “*outliers*” e por vieses existentes no conjunto de dados. Além disso, têm sido utilizadas para o ajuste de modelos e para a previsão de tendências em problemas que envolvem, dentre outros, o manejo de recursos florestais (CASTAÑO-SANTAMARÍA *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2011).

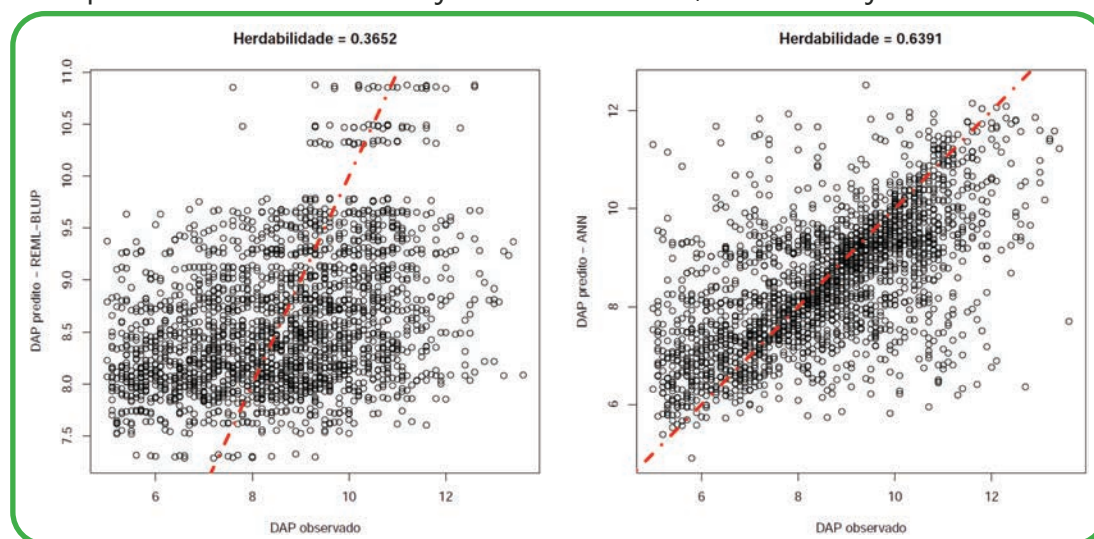
Diversos exemplos do uso das ANN são encontrados na literatura. Özçelik *et al.* (2010) utilizaram dois tipos de modelos de ANN visando a estimação de volume de madeira em quatro espécies florestais, e concluíram que as ANN apresentaram bons resultados no processo de estimação, em que uma rede específica apresentou resultados acurados e não viesados, sendo uma alternativa viável para estimação do volume de madeira, reduzindo, inclusive, o tempo de avaliações dendrométricas em campo. Embora apresente avanços quanto à utilização de ANN, o trabalho não é focado em análise genética.

Bhering *et al.* (2015) utilizaram ANN para predizer o volume em eucalipto. A ANN foi modelada com uma camada de entrada, três camadas intermediárias e uma camada de saída. Para a entrada da ANN, os autores utilizaram estimativas de DAP. Nas camadas intermediárias, o número de neurônios por camada variou entre 1 a 10 neurônios na primeira camada, 1 a 20 na segunda camada e 1 a 8 e na terceira camada. A camada de saída consistia de um neurônio que refletia a estimativa de volume de madeira. Esse valor era conhecido no treinamento, mas desconhecido na validação. Foram consideradas 2.100 plantas aos 3 anos de idade e 1.400 plantas aos 6 anos de idade, no processo de treinamento da rede e 1.400 plantas aos 3 e 6 anos de idade na validação. A melhor arquitetura de rede foi estabelecida por aquela com maior precisão média, considerando 43.200 possibilidades investigadas. Para os dados aos três anos de idade, o melhor desempenho foi alcançado usando quatro neurônios na primeira camada oculta e apenas três

neurônios na segunda camada oculta. Ambas as camadas apresentaram o melhor desempenho quando a função de ativação *tansig* foi utilizada. A ANN apresentou bons resultados para o processo de avaliação genética. Embora similares, tais resultados ainda se mostraram aquém daqueles obtidos por meio do método de modelos lineares. Após análise de dados, os autores concluíram que as ANN são potencialmente úteis, considerando como factível a sua utilização na estimação de fenótipos de volume individual de madeira em *Eucalyptus*. Embora focado em genética e melhoramento, e apresentar avanços com relação ao uso de ANN para tal fim, os autores não discutiram os métodos por meio dos quais foram obtidas as variâncias genéticas e herdabilidades por meio da ANN.

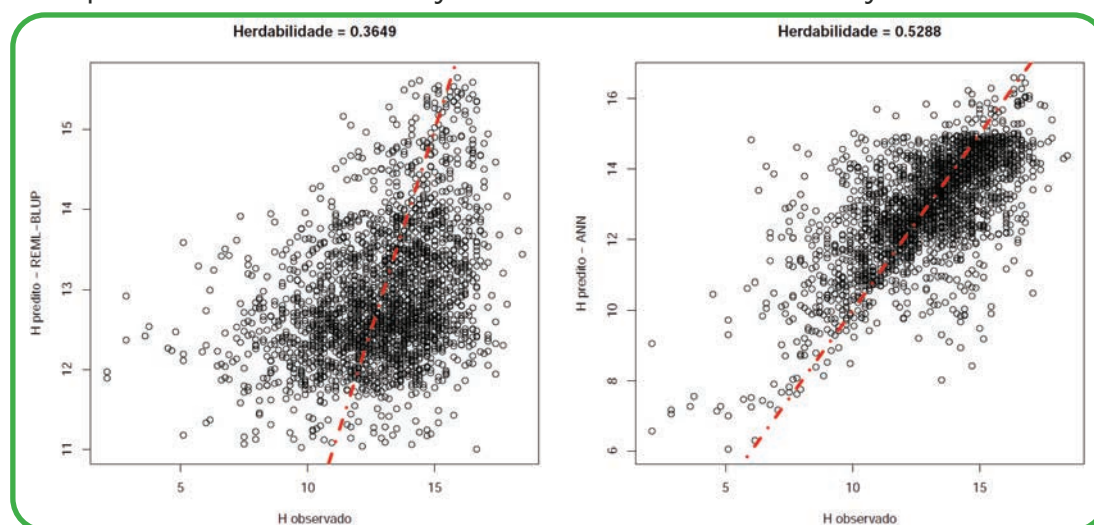
As Figuras 1 e 2 apresentam exemplos de predição de valor genético para as características DAP e H em teste de progênies híbridas de *E. grandis* e *E. urophylla* instalados em uma fazenda no Estado do Mato Grosso do Sul. Os resultados são apresentados nos gráficos em que: (A) por meio de método REML-BLUP, e (B) por meio de método baseado em Redes Neurais Artificiais – “*Deep Learning*”, de forma que permite uma avaliação comparativa entre as metodologias aplicadas ao melhoramento florestal. As plotagens mostram, em gráficos bidimensionais, os valores observados e preditos para a característica DAP e H, respectivamente, obtidos pelos métodos REML-BLUP (A) e pela ANN (B), além das estimativas de herdabilidade estimadas para ambos os métodos. As estimativas da ANN foram de 0,6391 e 0,5288, para DAP e H, respectivamente, valor numericamente superior ao do método tradicional. Em ambas as figuras, a linha tracejada em vermelho apresenta ângulo de 45° em relação ao eixo X. Isso é mais facilmente percebido nas Figuras 2A e 2B cujas escalas dos eixos apresentados nas figuras estão mais alinhadas. De qualquer forma, quanto mais próximos os pontos estão da linha tracejada em vermelho, maior é a correspondência entre a predição do valor genético proporcionada pelos respectivos métodos e o valor observado da característica. Maior ainda é a acurácia do método para selecionar, o que permite acessar aqueles indivíduos que têm melhores valores genéticos. Em ambos os casos, a ANN se mostrou superior ao método utilizado tradicionalmente.

Figura 1. Comparativo dos valores observados e preditos para a característica DAP pelos métodos (A) REML-BLUP, e (B) pela melhor ANN ajustada. Quanto mais próximo das linhas tracejada em vermelho, melhor o ajuste.



Fonte: elaborado pelos autores.

Figura 2. Comparativo dos valores observados e preditos para a característica H pelos métodos (A) REML-BLUP, e (B) pela melhor ANN ajustada. Quanto mais próximo das linhas tracejada em vermelho, melhor o ajuste.



Fonte: elaborado pelos autores.

Azevedo *et al.* (2020) utilizaram a metodologia de *Multilayer Perceptron* (MLP), que tem a retropropagação como principal algoritmo para o treinamento das redes, para modelar múltiplos volumes do caule das árvores de eucalipto, e concluíram que as ANN são mais adequadas do que os modelos de regressão na estimativa de volumes múltiplos de eucaliptos, revelando maior precisão e praticidade.

Silva *et al.* (2020) também compararam o uso de modelos de ANN e

de regressão para determinar a melhor alternativa na modelação de altura e volume de eucaliptos em sistemas agrossilvopastoris, e verificaram que ambos apresentaram valores próximos. Entretanto, apesar do desempenho satisfatório demonstrado por ambas as abordagens, os resultados gerados pela ANN em alguns casos foram ligeiramente superiores.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora seja fácil listar os diversos fatores que influenciam a produtividade florestal, é quase impossível isolar ou medir todos os componentes bióticos e abióticos que influenciam o crescimento e o desenvolvimento das culturas no campo. As redes neurais artificiais (ANN) têm sido amplamente utilizadas para modelar a produtividade florestal, uma vez que a modelagem habitual é dificultada pela inclusão de diversas variáveis.

Novas tecnologias para a mensuração da altura, diâmetro a altura do peito e volume de árvores são extremamente importantes, uma vez que a medição dessas características é considerada componente significativo no custo do inventário florestal.

Tais argumentos fazem com que as ANN se destaquem, pois, sua metodologia de ajuste é baseada na aprendizagem de máquinas independentemente do modelo. Assim, são ferramentas de modelagem de dados utilizadas em previsões, mapeamentos e reconhecimento de padrões, sendo capazes de ir além da capacidade humana de pesquisar grandes bases de dados e relacioná-las a uma característica específica e desejável. Nesse sentido, as ANN têm proporcionado desempenho satisfatório na genética florestal, superando os métodos tradicionais de análise de dados.

REFERÊNCIAS

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, A. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2009.

ALVES, R. S.; ROCHA, J. R. A. S. C.; TEODORO, P. E.; RESENDE, M. D. V.; HENRIQUES, E. P.; SILVA, L. A.; CARNEIRO, P. C. S.; BHERING, L. L. Multiple-trait BLUP: a suitable strategy for genetic selection of *Eucalyptus*. **Tree Genetics & Genomes**, [s. l.], v. 14, n. 77, p. 1-8, 2018.

ASSIS, T. F. Melhoramento genético do eucalipto. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 18, n. 185, p. 32-51, 1996.

AZEVEDO, L. P. A.; COSTA, R. B.; MARTINEZ, D. T.; TSUKAMOTO FILHO, A. A.; BRONDANI, G. E.; BARETTA, M. C.; AJALA, W. V. Seleção genética em progênies de *Eucalyptus camaldulensis* em área de cerrado mato-grossense. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 11, p. 2001-2006, 2015.

AZEVEDO, G. B.; TOMIAZZI, H. V.; AZEVEDO, G. T. O. S.; TEODORO, L. P. R.; TEODORO, P. E.; SOUZA, M. T. P.; BATISTA, T. S.; EUFRATE-JUNIOR, H. J.; GUERRA, S. P. S. Multi-volume modeling of *Eucalyptus* trees using regression and artificial

neural networks. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 15, n. 9, p. 1-17, 2020.

BHERING, L. L.; CRUZ, C. D.; PEIXOTO, L. A.; ROSADO, A. M.; LAVIOLA, B. G.; NASCIMENTO, M. Application of neural networks to predict volume in eucalyptus. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v.15, n. 3, p. 125-131, 2015.

BINOTI, M. L. M. S.; BINOTI, D. H. B.; LEITE, H. G. Aplicação de redes neurais artificiais para estimação da altura de povoamentos equiâneos de eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 37, n. 4, p. 639-645, 2013.

BRAGA, A. D. P.; CARVALHO, A. P. L. F.; LUDERMIR, T. B. **Redes neurais artificiais: teoria e aplicações**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2000.

CAMPOS, B. P. F.; SILVA, G. F.; BINOTI, D. H. B.; MENDONÇA, A. R.; LEITE, H. G. Predição da altura total de árvores em plantios de diferentes espécies por meio de redes neurais artificiais. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 36, n. 88, p. 375-385, 2016.

CARVALHO, A. M. **Valorização da madeira do híbrido *Eucalyptus grandis* através da produção conjunta de madeira serrada em pequenas dimensões, celulose e lenha**. 2000. 128 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

CASTAÑO-SANTAMARÍA, J.; CRECENTE-CAMPO, F.; FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, J. L.; BARRIO-ANTA, M.; OBESO, J. R. Tree height prediction approaches for uneven-aged beech forests in northwestern Spain. **Forest Ecology and Management**, [s. l.], v. 307, p. 63-73, 2013.

CASTRO, R. V. O.; SOARES, C. P. B.; LEITE, H. G.; SOUZA, A. L.; NOGUEIRA, G. S.; MARTINS, F. B. Individual growth model for *Eucalyptus* stands in Brazil using artificial neural network. **ISRN Forestry**, [s. l.], v. 2013, p. 1-12, 2013.

CASTRO, C. A. O.; NUNES, A. C. P.; SANTOS, O. P.; RESENDE, R. T.; SANTOS, G. A.; RESENDE, M. D. V.; CRUZ, C. D. Comportamento da interação genótipos por locais aos três e nove anos em clones de eucalipto. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 46, n. 120, p. 594-605, dez. 2018.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006.

FURLAN, R. A. **Seleção de clones de eucalipto para tolerância à seca no nordeste do Brasil**. 2018. 97 p. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2018.

GOODFELLOW, I.; BENGIO, Y.; COURVILLE, A. **Deep learning: adaptive computation and machine learning**. MIT press, 2016.

GONÇALEZ, J. C.; SANTOS, G. L.; SILVA JUNIOR, F. G.; MARTINS, I. S.; COSTA, J. A. Relações entre dimensões de fibras e de densidade da madeira ao longo do tronco de *Eucalyptus urograndis*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 42, n. 101, p. 81-89, 2014.

HASTIE, T.; TIBSHIRANI, R.; FRIEDMAN, J.H. **The elements of statistical learning: data mining, inference and prediction**. 2. ed. New York: Springer, 2008.

HAYKIN, S. **Neural networks and learning machines**. 3. ed. New York: Prentice Hall, 2008.

IBÁ. **Relatório anual 2020**: ano base 2019. FGV: São Paulo, 2020.

MARTINS, E. R.; BINOTI, M. L. M. S.; LEITE, H. G.; BINOTI, D. H.; DUTRA, G. C. Configuração de redes neurais artificiais para estimação do afilamento do fuste de árvores de eucalipto. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 11, n. 1, p. 33-38, 2016.

ÖZÇELİK R.; DIAMANTOPOULOU, M. J.; BROOKS, J. R.; WIANT JR., H. V. Estimating tree bole volume using artificial neural network models for four species in Turkey. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 91, n. 3, p. 742-753, 2010.

PAIVA, H. N.; JACOVINE, L. A. G.; TRINDADE, C.; RIBEIRO, G. T. **Cultivo de eucalipto**: implantação e manejo. Viçosa: Aprenda Fácil, 2011.

PIRES, I. E.; RESENDE, M. D. V.; SILVA, R. L.; RESENDE JUNIOR, M. F. R. **Genética Florestal**. Viçosa: UFV, 2011.

RUSSELL, S. J.; NORVIG, P.; CANNY, J. F.; MALIK, J. M.; EDWARDS, D. D. **Artificial intelligence**: a modern approach. Local: Prentice hall Englewood Cliffs, 1995.

RESENDE, M. D. V. **SELEGEN-REML/BLUP**: sistema estatístico e seleção genética computadorizada via modelos lineares mistos. Colombo: Embrapa Florestas, 2007.

RESENDE, M. D. V. Software Selegen-REML/BLUP: a useful tool for plant breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 16, n. 4, p. 330-339, 2016.

ROCHA, M. G. B.; PIRES, I. E.; XAVIER, A.; CRUZ, C. D.; ROCHA, R. B. Avaliação genética de progênes de meio-irmãos de *Eucalyptus urophylla* utilizando os procedimentos REML/BLUP e E(QM). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 16, n. 4, p. 369-379, 2006.

SILVA, I. N. D.; SPATTI, D. H.; FLAUZINO, R. A. **Redes neurais artificiais para engenharia e ciências aplicadas**. 1. ed. São Paulo: ArtLiber Editora, 2010.

SILVA, S.; OLIVEIRA NETO, S. N.; LEITE, H. G.; ALCÂNTARA, A. E. M.; OLIVEIRA NETO, R. R.; SOUZA, G. S. A. Productivity estimate using regression and artificial neural networks in small familiar areas with agrosilvopastoral systems. **Agroforestry Systems**, [s. l.], v. 94, p. 2081-2097, 2020.

SCOLFORO, J. R. S.; THIERSCH, C. R. **Biometria florestal**: medição, volumetria e gravimetria. Lavras: UFLA: FAEPE, 2004.

SCRINZI, G.; MARZULLO, L.; GALVAGNI, D. Development of a neural network model to update forest distribution data for managed alpine stands. **Ecological Modelling**, v. 206, n. 3-4, p. 331-346, 2007.

WANG, S. H.; ZHANG, M. Z.; ZHAO, P. A.; CHEN, J. X. Modelling the spatial distribution of forest carbon stocks with artificial neural network based on TM images and forest inventory data. **Acta Ecologica Sinica**, [s. l.], v. 31, p. 998-1008, 2011.

ZHOU, R.; WU, D.; FANG, L.; XU, A.; LOU, X. A Levenberg–Marquardt backpropagation neural network for predicting forest growing stock based on the least-squares equation fitting parameters. **Forests**, [s. l.], v. 9, n. 12, p. 757, 2018.

CAPÍTULO 23

USO DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL APLICADA À FENOTIPAGEM POR MEIO DA ANÁLISE DE IMAGENS EM EUCALIPTO

Victor Hugo Cruz

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Vitória Costa Mingoranci

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Yanca Araujo Frias

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Vitor Corrêa de Mattos Barretto

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Ronaldo Cintra Lima

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Rafael Simões Tomaz

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Resumo

A aplicação da inteligência artificial, prioritariamente as redes neurais artificiais (RNAs), visando a extração de informações a partir da manipulação de imagens, é uma metodologia que tem sido frequentemente empregada no ambiente agrícola. O principal objetivo do processamento de imagens é extrair informações quantitativas e/ou qualitativas de dados espectrais. A extração de atributos informativos é somente possível por meio de algoritmos que permitem classificar e analisar as imagens. São elas os mapas auto-organizáveis de Kohonen, apresentados por meio de spectrogramas, wavelets, componentes principais, expansão de imagens via transformada de Fourier, dentre outras. Outra categoria de RNAs capazes de realizar tal tarefa são as *convolutional neural networks* (CNNs). Consideradas uma "*deep learning*" de altíssimo desempenho, as CNNs, vantajosamente, permitem o aprendizado hierárquico das informações, na qual as características inseridas nas redes são aprendidas automaticamente a partir dos dados de entrada, resultando em diferentes estratégias de aplicações. Dessa forma, a inteligência artificial congrega diversos ambientes de estudo, situando em uma área multidisciplinar que integra o conhecimento da ciência de plantas, sensoriamento espectral e engenharia mecânica. Todavia, trabalhos utilizando inteligência artificial, precisamente as redes neurais convolucionais, em viveiros florestais para caracterização fenotípica são escassos e necessitam de aprimoramento científico. Dessa forma, a fenotipagem de eucalipto, por meio de uma "*computer vision*" torna-se uma tecnologia promissora e desempenhará papéis significativos, tanto no prognóstico quanto na previsão de características de plantas por meio de modelagem de genótipo relações / fenótipo.

1 GÊNERO *EUCALYPTUS*: BREVE HISTÓRICO, PANORAMA ECONÔMICO E MELHORAMENTO GENÉTICO

O gênero *Eucalyptus*, árvore nativa da Austrália pertencente à família *Myrtaceae*, é composto por mais de 600 espécies, dispersas em distintas regiões e climas desse país. Em decorrência das condições fisiográficas brasileiras semelhantes às do continente australiano, o eucalipto expressou grande elasticidade ambiental, tornando o Brasil referência no panorama internacional de floresta plantada comercialmente. Em 2018, o Brasil possuía em torno de 7,83 milhões de hectares de florestas plantadas, sendo que 72,7% dessa área eram oriundos da eucaliptocultura. Os plantios de eucalipto estão concentrados, principalmente, nos estados de Minas Gerais (24%), São Paulo (17%) e Mato Grosso do Sul (16%).

A crescente demanda por produtos gerados pelo setor florestal tem propiciado aumento substancial de áreas plantadas, principalmente do eucalipto, dado a versatilidade do gênero em adaptação climática, como mencionado anteriormente, e pela sua multi-empregabilidade na construção civil, serraria, papel e celulose, carvão, dentre outras. De acordo com Caterina (2017), a produtividade do eucalipto está diretamente relacionada ao processo de melhoramento genético, que tem permitido a identificação e a seleção de materiais genéticos superiores e adaptados. Concatenado a este fato, houve, ainda, o aperfeiçoamento de técnicas florestais, em todas as etapas do sistema de condução e manejo das espécies arbóreas.

Apesar de não tolerar excesso de água e solos rasos, o eucalipto pode ser cultivado em terrenos de baixa fertilidade, não exigindo frequente aplicações de fertilizantes e defensivos agrícolas, quando comparado às demais plantas silviculturais (BENDLIN *et al.*, 2016). Ainda, a exploração madeireira do eucalipto atua no resguardo de áreas nativas remanescentes ou em recuperação de espaços que estejam desmatados (REIS NETO, 2019), o que evidencia a grandiosa vantagem em cultivar essas espécies arbóreas.

O gênero *Eucalyptus* apresenta importantes características morfológicas, que as tornam uma cultura muito valorizada no setor industrial: tronco retilíneo, desrama natural, cerne bem estruturado, entre outras. Segundo Ziller, Dechoum e Zenni (2019), espécies como *Eucalyptus grandis*, *E. urophylla*, *E. saligna*, *E. tereticornis*, *E. globulus* e *E. viminalis* expressam essas características, e, conseqüentemente, são as mais plantadas em povoamentos florestais. Sendo a espécie chave nas etapas melhoramento vegetal e cultivo, o *Eucalyptus grandis* apresenta acelerado crescimento em curto prazo, podendo ser favorecido na escolha de materiais que apresentam bom desempenho no campo e rápido estabelecimento enquanto mudas. Salienta-se também a sua elevada densidade de cerne, fina espessura de casca, boa desrama natural e boa forma de fuste (MARAGON, 2016).

Por sua vez, o *Eucalyptus urophylla* possui boa adaptação em regiões com características edafoclimáticas extremas, além de expressar tolerância

ao cancro do eucalipto propiciado pelo patógeno *Cryphonectria cubensis* (Brumer) Hodges, fator determinante para o estabelecimento da espécie no Brasil (ROCHA *et al.*, 2006).

O protocolo de micropropagação, técnica de clonagem de indivíduos fenotipicamente e genotipicamente superiores, tem sido utilizado desde os primórdios de estudo em genética molecular. Dessa forma, a clonagem de espécies arbóreas proporciona o rejuvenescimento dos rebentos, crescimento homogêneo do material vegetativo, tolerância a condições climáticas extremas, resistência a pragas e doenças. Porém, a necessidade de alcançar grandes produtividades florestais, resultou no desenvolvimento de espécies híbridas, como é o caso do *E. grandis* x *E. urophylla*, metodologia que otimizou o processo de produção de mudas (DUTRA; WENDLING; BRONDANI, 2009).

Apesar das vantagens mencionadas anteriormente, a micropropagação apresentava algumas limitações: surgimento de variação somaclonal, aparecimento de plantas anormais após o processo de multiplicação, tais como mudança na coloração das folhas e/ou concepção de plantas deformadas (ABIRI *et al.*, 2020). Portanto, o protocolo de micropropagação, associado à biotecnologia, proporciona ganhos genéticos, aumentando, deliberadamente, a produtividade em espécies florestais, principalmente o eucalipto. Instituído na biotecnologia, o melhoramento genético constitui na recombinação de distintos genótipos, com características priorizadas pelo melhorista e rendimento médio acima dos genitores (DUTRA; WENDLING; BRONDANI, 2009).

2 MODELO BASEADOS EM REDES NEURAIS ARTIFICIAL (RNA)

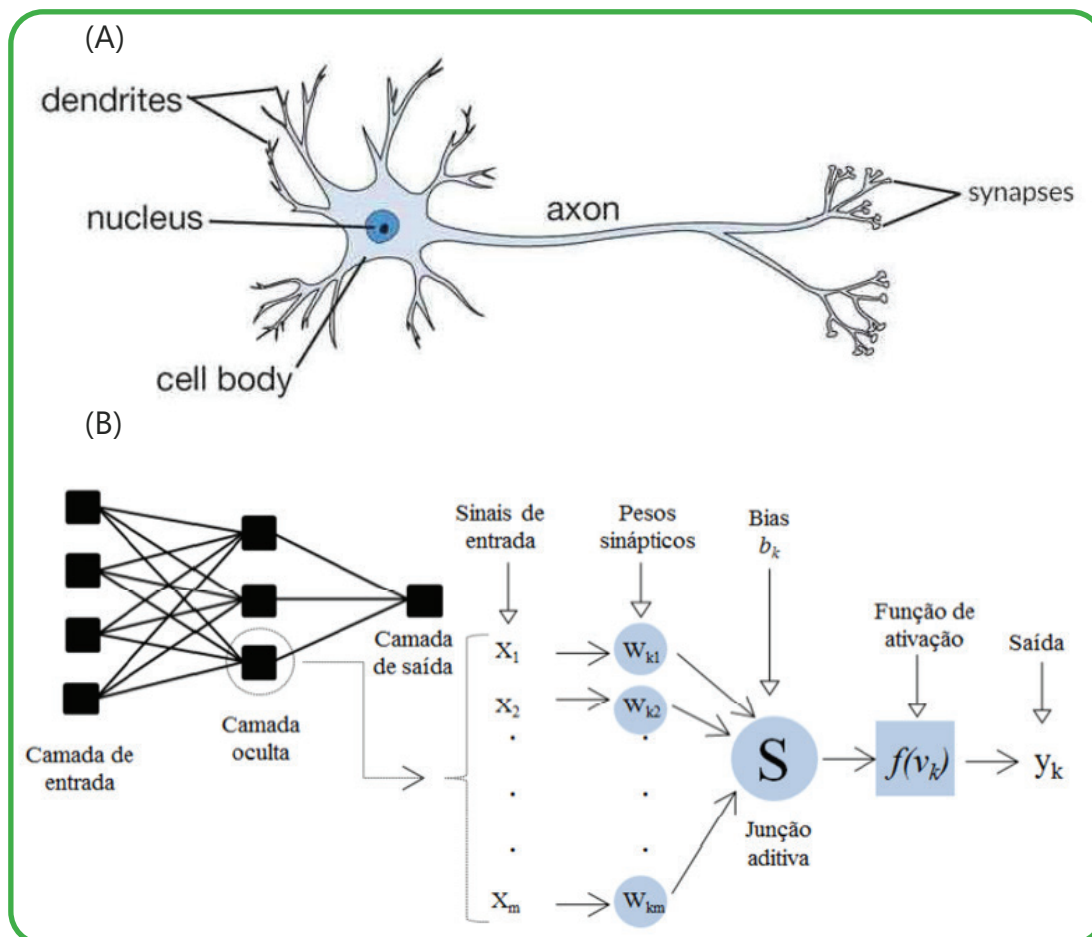
As redes neurais artificiais (RNAs) são sistemas computacionais paralelos, constituídos por neurônios artificiais ou unidades de processamento simples, conectados entre si, para realizar uma determinada atividade através da execução de funções matemáticas não-lineares (BINOTI; BINOTI; LEITE, 2013). O funcionamento dessas redes é inspirado na estrutura física de organismos inteligentes possibilitando replicar, de forma simplificada, o funcionamento do cérebro humano nos equipamentos computadorizados (FLECK *et al.*, 2016).

Constituídas por uma ou várias camadas de neurônios, independentemente de sua quantidade, as RNAs, estão interligadas por intermédio de conexões, normalmente unidirecionais. Cada neurônio artificial integrado na rede armazena e processa as informações, ponderadas por pesos sinápticos (MACHADO; FONSECA JUNIOR, 2013).

Na Figura 1 estão apresentadas duas formas de visualizar os neurônios, sendo que a Figura 1A se refere a um neurônio biológico, composto por dendritos, núcleo e corpo celular. Subsequentemente, na Figura 1B, está representada uma de rede neural artificial, contendo a camada de entrada,

camada oculta com a função de ativação e a camada de saída; cujos elementos principais são os neurônios, análogos ao neurônio real.

Figura 1. (A) Modelo de neurônio biológico. (B) Modelo de uma RNA.



Fonte: Massucatto (2018).

No neurônio biológico, os dendritos são responsáveis por receber os sinais de outros neurônios, conduzindo-os até o corpo da célula, onde serão somados todos os sinais de entrada recebidos. Após a somatória dos sinais de entrada atingir um limiar, o sinal percorre toda extensão do axônio, visando por fim propagar a informação para outros neurônios (MASSUCATTO, 2018).

Em relação à rede neural artificial, a camada de entrada recebe somente os valores das variáveis fornecidas, sejam elas quantitativas ou qualitativas, e as transmite para a camada intermediária e de saída. A camada intermediária (ou camada oculta) e a camada de saída identifica e processa as informações por meio de neurônios, também chamados de nós de computação. Um nó de computação recebe os sinais de entrada e pondera-os com pesos; uma soma é obtida por adição das entradas multiplicadas por seus respectivos pesos, adicionando um sinal preconizado. O resultado dessa soma atua através de

uma função de ativação e fornece a saída do neurônio (VENDRUSCOLO *et al.*, 2015).

Dessarte, o processo de treinamento da RNA inicia-se pela introdução de variáveis de entrada e de saída, em conjunto com valores aleatórios adicionados aos pesos sinápticos por meio de uma arquitetura pré-estabelecida (SOARES *et al.*, 2015). Baseado nos valores dos pesos, a saída inicial é comparada com o valor real da primeira observação, assim sendo realizada a diferença entre elas (FLECK *et al.*, 2016). O produto dessa rede gera um sinal de erro que calibra o ajuste de pesos, possibilitando um novo ciclo de análises, aproximando os valores estimados pela rede e o valor real, diminuindo constantemente a probabilidade de erro (VENDRUSCOLO *et al.*, 2015).

3 APLICAÇÃO DAS REDES NEURAIS ARTIFICIAIS EM MODELAGEM DE CRESCIMENTO VEGETAL

A avaliação da qualidade de mudas florestais em viveiros é realizada normalmente por meio da coleta de variáveis biométricas/fenotípicas, e ajustada graficamente em modelos de crescimento, seja eles, lineares ou não-lineares.

Segundo Dias *et al.* (2005), os modelos de crescimento são funções matemáticas que possuem o objetivo de projetar o desempenho futuro de um vegetal, garantindo a melhoria das atividades silviculturais. A aplicação dos modelos de crescimento em conjunto com a captação de dados reflete no controle fisiológico e morfológico do vegetal. Consequentemente, surge a possibilidade de prever o estado da muda ao longo de todo ciclo de desenvolvimento no viveiro de propagação. Entretanto, alguns modelos não são capazes de explicar todos os efeitos apresentados durante a fase jovem da muda e tampouco é possível projetar o seu crescimento, necessitando da complementação de outras modelagens para que tenha resultados confiáveis e satisfatórios.

De acordo com Leal *et al.* (2015), as redes neurais artificiais encaixam-se perfeitamente nos modelos de crescimento, apresentando desempenho superior em comparação aos outros métodos, em razão de diversos fatores como: estrutura complexa de neurônios e, paralelamente distribuída (camadas); habilidade de aprender e generalizar que as tornam capazes de resolver problemas complexos; são tolerantes a falhas e ruídos; podem modelar diversas variáveis e suas relações não-lineares; possibilidade de modelagem com variáveis categóricas (qualitativas), além das numéricas (quantitativas); analogia neurobiológica, pois as redes são inspiradas no cérebro humano.

A utilização da inteligência artificial, tal como a RNA, tem se mostrado grande potencial em relação às técnicas de regressão, aumentando a

precisão das estimativas e contribuindo para o aprimoramento do manejo dos recursos florestais. Diversas pesquisas têm sido desenvolvidas, visando a difusão e adaptação dessa tecnologia em áreas multidisciplinares como a estimação de variáveis biométricas (FERNANDES *et al.*, 2019), a prognose de povoamentos florestais (BINOTI *et al.*, 2015), a estimação de crescimento e produção de eucalipto (ALCÂNTARA, 2015), a distribuição diamétrica florestal (REIS *et al.*, 2018), a estimativa de volume de madeira por meio de fotografias (LEAL *et al.*, 2015), dentre outros.

Silva *et al.* (2020), por sua vez, estimaram a altura das árvores e a produção volumétrica de árvores de eucalipto nos sistemas agrossilvipastoris da Zona da Mata Mineira, Brasil, utilizando um multilayer perceptron (MLP) RNA e modelos de regressão para determinar a melhor alternativa. Evidentemente, as RNAs foram mais eficientes na estimativa da altura e volume de árvores de eucalipto e podem claramente ser recomendadas para esse fim.

4 APLICAÇÃO DAS REDES NEURAIS ARTIFICIAIS EM ANÁLISE DE IMAGENS

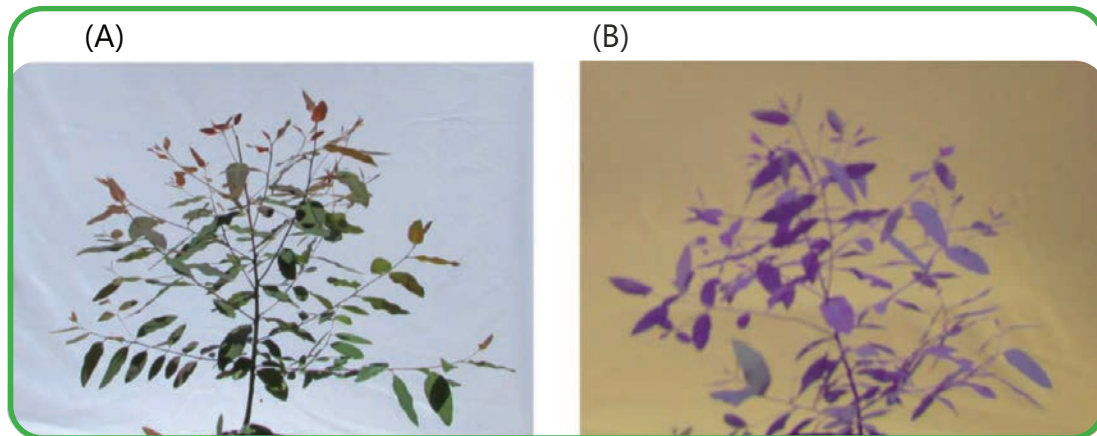
A aplicação de inteligência artificial visando a extração de informações a partir da manipulação de imagens é uma metodologia que tem sido frequentemente empregada na agricultura florestal. De acordo com Blaschke (2010), o principal objetivo do processamento de imagens é extrair informações quantitativas e/ou qualitativas de dados espectrais. Para a implementação desse método, é necessária a padronização e digitalização das fotografias, pois a ausência desses elementos preconiza a interpretação equivocada de dados.

Costa e Ortolan (2014) pontuaram, em seu trabalho, que a representação geral de uma imagem em termos matemáticos é definida como uma função bidimensional, em que se referem, respectivamente, aos eixos das abscissas e ordenadas contidas em um plano espacial, sendo que a função indica o nível de intensidade da imagem em um ponto amostrado. A resolução da imagem é retratada sob forma de pixels ou "*picture elements*". Conclui-se, dessa forma, que quanto maior o número de elementos (pixels) presentes na imagem, melhor será a resolução desta.

No processamento de imagens, a atribuição de valores em cada pixel é uma forma de codificar o objeto de estudo, separando as amostras em diversos níveis de intensidade, facilitando no armazenamento de dados. Dessa forma, é possível estabelecer modos distintos para a representação digital de imagens (COSTA; ORTOLAN, 2014). Uma delas é a manipulação de imagens em sistemas de cores RGB (Red, Green, Blue), que relaciona cada dimensão tridimensional da matriz com uma das cores primárias aditivas para constituir a tonalidade desejada utilizando valores normalizados no intervalo (Figura 2A). Outras escalas ou meios de captação podem ser bastante úteis

como a imagem obtida por meio de uma câmera especial RGN (Red Green NIR), apresentada na Figura 2B.

Figura 2. (A) Imagens em sistemas de cores RGB (Red, Green, Blue). (B) Imagens em escala RGN (Red Green NIR).



Fonte: Cruz (2020).

Embora diversas vantagens sejam relatadas na literatura, o processamento de imagens apresenta algumas dificuldades e limitações. De modo exemplar, a necessidade de manipular quantidades exponenciais de fotografias tornam o processo de interpretação de dados dispendiosos. A fim de facilitar a manipulação de imagens e reduzir a interpretação errônea de resultados, surge como principal solução a automatização do processo de classificação e extração de informações por meio de ferramentas computacionais (KHARBACH *et al.*, 2020).

Para que o processo de automatização ocorra de forma coerente, é necessário estabelecer alguns padrões analíticos, tal como as definições das características mensuráveis (altura da parte aérea, diâmetro de coleto, comprimento de raiz, número de folhas) e uniformização do tamanho da imagem associado ao conjunto com pixels. Ainda, antes de manipular a imagem, é necessário e importante fazer um pré-tratamento para retirada de informação redundantes, que não contribuirão para a interpretação das imagens. Dessa forma, a redução do tamanho das imagens (ou também denominado redução dos pixels), retirada do plano de fundo (background) e retirada dos pixels vazios são formas de tratamento que facilitarão na extração de informações (Figura 3), sem a necessidade de computadores de alto desempenho de processamento.

Figura 3. Exemplos de duas fotografias editadas por meio de software de edição de imagem. As fotografias têm tamanhos proporcionais aos tamanhos reais das mudas.



Fonte: Cruz (2020).

No tocante à manipulação de imagens, seu processo de classificação é realizado por meio de dois conjuntos de métodos, os supervisionados e os não supervisionados. A classificação supervisionada é realizada por meio de conjuntos amostrais, na qual o supervisor auxilia o sistema na construção de um modelo, definindo uma quantidade específica de classes, podendo ser utilizada para prever novas condições específicas de um objeto (SOUZA, 2015). O principal algoritmo utilizado na classificação supervisionada é o *backpropagation*, que por meio de pares de entrada e saída desejadas, são ajustados os pesos sinápticos de acordo com os mecanismos de correção de erros (CHENG *et al.*, 2015). Já na classificação não supervisionada, as características das imagens são associadas a uma classe que é memorizada com base na similaridade entre os padrões de treinamento.

As duas fases conferidas para a observação do conteúdo amostrado são treinamento e teste. Na fase de treinamento, são selecionadas características apropriadas para representar os padrões de entrada e o classificador é treinado por meio de algoritmos para particionar o espaço de memorização. Nessa fase, são manipulados de 70 a 90% dos dados amostrados para que seja possível o treinamento da rede neural. Comumente utilizado na fase de treinamento, o algoritmo *backpropagation* inclui dois módulos, no qual o primeiro refere-se à propagação *forward* que é utilizada para definir a saída da rede em conjunto com o padrão de entrada. Já a propagação *backward* utiliza a saída obtida pela rede e a saída desejada para realizar as devidas atualizações dos pesos (SILVA; STEINER, 2013). Na fase de teste, o classificador treinado atribui novas entradas para uma classe previamente estabelecida, baseado nas características extraídas anteriormente. Para o teste e a validação da rede, são utilizados o restante dos dados, que correspondem de 10 a 20% das informações extraídas (ERDMANN, 2016). Durante essa fase, o conjunto

de teste é utilizado para determinar o desempenho da rede com dados que não foram previamente utilizados.

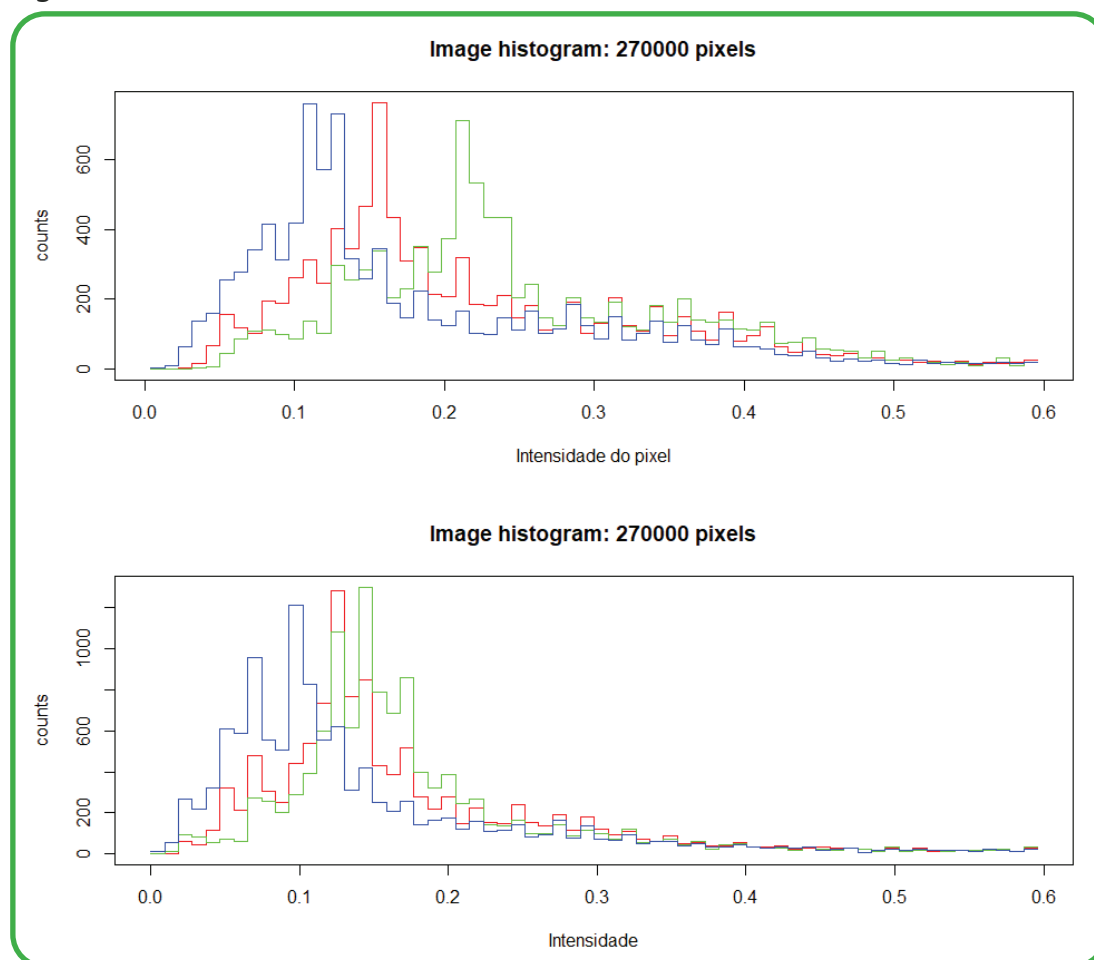
Segundo Feng *et al.* (2021), para garantir uma máxima precisão nessas fases é necessário coletar o maior número possível de informações, para diminuir a probabilidade de erro e otimizar o treinamento do classificador. Ainda, de acordo com os mesmos autores, as redes neurais artificiais auxiliam na identificação de padrões, por meio de treinamentos realizados por algoritmos e, dessa maneira, conseguem realizar a tarefa de categorizar a imagem.

5 “FEATURE EXTRACTION” E CONSTRUÇÃO DAS ANN

Um dos métodos mais simples de extração de informações (*feature extraction*) é a retratação por histogramas (Figura 4). Desse modo, são obtidas as estatísticas descritivas das camadas de cores: Vermelho, Verde e Azul (“red”, “green” e “blue” do sistema de cores RGB), as quais estão indicados pelas linhas coloridas nos histogramas. Consequentemente, o conjunto de dados extraídos a partir dos pixels são de grande valia para a possível modelagem das redes neurais artificiais (SACHAR; KUMAR, 2021). Além disso, a caracterização fenotípica da planta de eucalipto é recurso que deve ser aproveitado durante a modelagem, desde que esteja padronizada a combinação imagem-biometria. Dessa forma, não ocorrerá diferenciação entre esses dois atributos.

Na literatura, são relatados exemplos de RNA capazes de realizar “*feature extraction*”, com o intuito de classificar imagens ou permitir análise quantitativa a partir destas. Uma delas são os *self-organizing maps* (SOM) ou mapas auto-organizáveis de Kohonen (KOHONEN, 2013). De acordo com tal autor, a abordagem de classificação por meio de tais redes deve se basear na extração de informações a partir da imagem (“*feature*” – característica ou atributos), devendo a classificação ser realizada a partir dessa. Tais atributos devem ser o mais invariante possível, consistindo, por exemplo, de spectrogramas, *wavelets*, componentes principais, expansão de imagens via transformada de Fourier, dentre outras. Outra categoria de RNA capaz de realizar tal tarefa são as *convolutional neural networks* (CNN) ou redes neurais convolucionais. Considerada uma *deep learning* de altíssimo desempenho, as CNNs vantajosamente permitem o aprendizado hierárquico das informações, na qual as características inseridas nas redes são aprendidas automaticamente a partir dos dados de entrada, resultando em diferentes estratégias de aplicações (JIANG; LI, 2020).

Figura 4. Histograma da matriz de pixels RGB das imagens (A) e (B), após o pré-processamento das imagens originais, das imagens apresentadas na Figura 3.



Fonte: Cruz (2020).

Destarte, alguns autores têm relatado a utilização de metodologia que envolve "*computer vision*" associada à caracterização fenotípica de várias espécies vegetais. Ampatzidis e Partel (2019), utilizando um pequeno veículo aéreo não tripulado, analisaram imagens fenotípicas de pomar de citrus por meio da implementação de inteligência artificial baseada em redes neurais convolucionais para estimar o crescimento vegetativo da cultura. Resultados mostraram que a tecnologia é promissora, possibilitando a utilização em diversas áreas do conhecimento. Além disso, a automatização do processo de amostragem melhorou eficientemente a condução e o manejo do pomar.

Visando contabilizar automaticamente os níveis de maturação dos frutos de tomate, seja na própria planta ou nos frutos pós-colheita, os autores Rahnemoonfar e Sheppard (2017) utilizaram uma rede neural convolucional profunda baseada na modelagem Inception-ResNet-A. Dessa forma, os algoritmos, apresentando 91% de precisão, foram efetivamente capazes de

contabilizar a maturação dos frutos de tomate.

Sabanci, Kayabasi e Toktas (2017) modelaram uma rede neural de *feedforward backpropagation* baseada em MLP para classificar os grãos de trigo, por meio de características quantitativas e visuais. Segundo os autores, a taxa de precisão dos algoritmos ajustados nas redes neurais foi substancialmente satisfatória, sendo, portanto, recomendada a integração desses modelos à agroindústria para classificar automaticamente os grãos agrícolas. No estudo de Oliveira e Santana (2020), os autores usaram dois tipos de análise exploratória, os mapas auto-organizáveis e a análise de componentes principais para avaliar o uso do padrão de coloração foliar, as concentrações de nutrientes nas folhas de eucalipto e estabelecer relações entre os padrões de cores e as concentrações de nutrientes nas folhas. Os autores ainda identificaram que os mapas auto-organizáveis apresentaram uma ligeira superioridade de classificação em relação ao PCA.

Shah, Singha e Awate (2017) propuseram uma rede neural convolutiva de *dual path* para processar e aprender representações conjuntas de imagens das folhas de baunilha, explorando suas características de forma e textura. Em comparação à revisão bibliográfica e aos resultados encontrados, os autores concluíram que a rede neural convolutiva *dual path* otimiza o processo de classificação das folhas de baunilha.

Shin *et al.* (2021) compararam o desempenho entre *deep learning* não-supervisionadas e diferentes arquiteturas de redes neurais convolutivas para identificar doença do oídio em folhas de morango com base em imagens RGB. Como já era esperado, as redes convolucionais obtiveram melhor desempenho ao distinguir entre folhas infectadas e não infectadas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todos esses trabalhos mencionados demonstram a aplicabilidade e a versatilidade das modelagens de redes neurais artificiais. Com grande conjunto de dados de imagens e algoritmos baseados em CNN, as ferramentas disponíveis para fenotipagem por meio da "*computer vision*" mostraram avanços notórios no reconhecimento de plantas e classificação taxonômica.

A fenotipagem de plantas baseada em visão computacional ganhou um importante destaque na produção vegetal. A inteligência artificial congrega diversas ambientes de estudo, situando-se em uma área multidisciplinar. Todavia, trabalhos utilizando inteligência artificial, precisamente as redes neurais convolucionais, em viveiros florestais para caracterização fenotípica, são escassos e necessitam de aprimoramento científico. Dessa forma, a fenotipagem de eucalipto, por meio de uma "*computer vision*" torna-se uma tecnologia promissora, com potencial para desempenhar papéis significativos tanto no prognóstico quanto na predição de características de plantas por meio de modelagem das relações entre o genótipo e o fenótipo.

REFERÊNCIAS

- ALCÂNTARA, A. E. M. **Redes neurais artificiais para prognose do crescimento e da produção de povoamento de eucalipto em Minas Gerais**. 2015. 58 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015.
- ABIRI, R.; ATABAKI, N.; ABDUL-HAMID, H.; SANUSI, R.; AB SHUKOR, N. A.; SHAHARUDDIN, N. A.; AHMAD, S. A.; MALIK, S. The Prospect of Physiological Events Associated with the Micropropagation of Eucalyptus sp. **Forests**, v. 11, n. 11, p. 1211, 2020.
- AMPATZIDIS, Y.; PARTEL, V. UAV-based high throughput phenotyping in citrus utilizing multispectral imaging and artificial intelligence. **Remote Sensing**, v. 11, n. 4, p. 410-419, 2019.
- BENDLIN, L.; SOUZA, A.; SENFF, C. O.; PEDRO, J. J.; STAFIN, O. O. Production costs, return and risks expectations associated with eucalyptus plantations in the North Highlands region-Santa Catarina/Brazil. **Custos e Agronegócio On Line**, v. 12, n. 2, p. 2-33, 2016.
- BINOTI, M. L. M. S.; BINOTI, D. H. B.; LEITE, H. G. Aplicação de redes neurais artificiais para estimação da altura de povoamentos equiâneos de eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 37, n. 4, p. 639-645, 2013.
- BINOTI, M. L. M. S.; LEITE, H. G.; BINOTI, D. H. B.; GLERIANI, J. M. Prognose em nível de povoamento de clones de eucalipto empregando redes neurais artificiais. **Cerne**, Viçosa, v. 21, n. 1, p. 97-105, 2015.
- BLASCHKE, T. Object based image analysis for remote sensing. **ISPRS journal of photogrammetry and remote sensing**, v. 65, n. 1, p. 2-16, 2010.
- CATERINA, G. L. **Curvas de crescimento de *Eucalyptus* spp em plantios de diferentes espaçamentos**. 2017. 84 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2017.
- CHENG, Z.; SOUDRY, D.; MAO, Z.; LAN, Z. Training binary multilayer neural networks for image classification using expectation backpropagation. **arXiv Labs**: preprint, arXiv: 1503.03562, p. 1-8, 2015.
- COSTA, J. P. O.; ORTOLAN, L. D. **Classificação de imagens de sensoramento remoto utilizando redes neurais artificiais**. 2014. 80 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Sistemas de Informação) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2014.
- CRUZ, V. H. **Avaliação da qualidade do enraizamento e do desenvolvimento da parte aérea de clones de *Eucalyptus* sp. por meio de redes neurais artificiais aplicada à análise de imagem**. 2020. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrônômica), Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas – Unesp, Dracena, 2020.
- DIAS, A. N.; LEITE, H. G.; CAMPOS, J. C. C.; COUTO, L.; CARVALHO, A. F. Emprego de um modelo de crescimento e produção em povoamentos desbastados de eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 5, p. 731-739, 2005.
- DUTRA, L.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. A Micropropagação de eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 58, p. 49-59, 2009.

ERDMANN, A. C. **Reconhecimento de espécies florestais por meio de imagens defolhas**. 2016. 68 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia em Análise de Desenvolvimento de Sistemas) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2016.

FENG, L.; CHEN, S.; ZHANG, C.; ZHANG, Y.; HE, Y. A comprehensive review on recent applications of unmanned aerial vehicle remote sensing with various sensors for high-throughput plant phenotyping. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 182, n. 106033, p. 1-19, 2021.

FERNANDES, M. M.; SOUSA, F. L.; SILVA, J. P. M.; ARAUJO, E. F.; FERNANDES, M. R. M.; NÓBREGA, R. S. A. Redes Neurais Artificiais na estimação de variáveis biométricas de mudas de espécies florestais produzidas em diferentes substratos. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 18, n. 1, p. 47-58, 2019.

FLECK, L.; TAVARES, M. H. F.; EYNG, E.; HELMANN, A. C.; ANDRADE, M. A. M. REDES NEURAI ARTIFICIAIS: PRINCÍPIOS BÁSICOS. **Revista Eletrônica Científica Inovação e Tecnologia**, Medianeira, v. 1, n. 13, p. 47-57, 2016.

JIANG, Y.; LI, C. Convolutional Neural Networks for Image-Based High-Throughput Plant Phenotyping: a review. **Plant Phenomics**, v. 2020, p. 1-22, 2020.

KHARBACH, M.; MARMOUZI, I.; EL JEMLI, M.; BOUKLOUZE, A.; HEYDEN, Y. V. Recent advances in untargeted and targeted approaches applied in herbal-extracts and essential-oils fingerprinting: a review. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, [s. l.], v. 177, p. 1-52, 2020.

KOHONEN, T. Essentials of the self-organizing map. **Neural networks**, v. 37, p. 52-65, 2013.

LEAL, F. A.; MIGUEL, E. P.; MATRICARDI, E. A. T.; PEREIRA, R. S. Redes neurais artificiais na estimativa de volume em um plantio de eucalipto em função de fotografias hemisféricas e número de árvores. **Revista Brasileira de Biometria**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 234-250, 2015.

MACHADO, W. C.; FONSECA JUNIOR, E. S. Redes neurais artificiais aplicadas na previsão do VTEC no Brasil. **Boletim de Ciências Geodésicas**, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 227-246, 2013.

MARAGON, V. **Avaliação técnica e econômica da implantação de povoamento de Eucalyptus grandis W. (Hill ex. Maiden)**. 2016. 57 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2016.

MASSUCATTO, J. D. P. **Aplicação de conceitos de redes neurais convolucionais na classificação de imagens de folhas**. 2018. 70 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Computação) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2018.

OLIVEIRA, L. F. R.; SANTANA, R. C. Exploratory analysis of nutrient concentrations in Eucalyptus leaf color patterns. **Advances in Forestry Science**, Cuiabá, v. 7, n. 2, p. 973-979, 2020.

RAHNEMOONFAR, M.; SHEPPARD, C. Deep count: fruit counting based on deep

simulated learning. **Sensors**, v. 17, n. 4, p. 905-916, 2017.

REIS, L. P.; SOUZA, A. L.; REIS, P. C. M.; MAZZEI, L.; BINOTI, D. H. B.; LEITE, H. G. Prognose da distribuição diamétrica na amazônia utilizando redes neurais artificiais e autômatos celulares. **Floresta**, Curitiba, v. 48, n. 1, p. 93-102, 2018.

REIS NETO, A. F. **Redução do desmatamento e da degradação florestal (REDD): bases legais para implementação na Caatinga de Pernambuco**. 2019. 83 f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

ROCHA, M. G. B.; PIRES, I. E.; XAVIER, A.; CRUZ, C. D.; ROCHA, R. B.; ROCHA, M. G. de B.; PIRES, I. E.; XAVIER, A.; CRUZ, C. D.; ROCHA, R. B. Avaliação genética de progênies de meio-irmãos de *Eucalyptus urophylla* utilizando os procedimentos REML/BLUP E E(QM). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 16, n. 4, p. 369-379, 2006.

SABANCI, K.; KAYABASI, A.; TOKTAS, A. Computer vision-based method for classification of wheat grains using artificial neural network. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 8, p. 2588-2593, 2017.

SACHAR, S.; KUMAR, A. Survey of feature extraction and classification techniques to identify plant through leaves. **Expert Systems with Applications**, v. 167, n. 114181, p. 1-14, 2021.

SHAH, M. P.; SINGHA, S.; AWATE, S. P. Leaf classification using marginalized shape context and shape texture dual-path deep convolutional neural network. *In*: INTERNATIONAL CONFERENCE ON IMAGE PROCESSING (ICIP), 2017, Beijing. **Anais [...]**. Beijing: Institute of Electrical and Electronics Engineers, 2017. 5 p.

SHIN, J.; CHANG, Y. K.; HEUNG, B.; NGUYEN-QUANG, T.; PRICE, G. W.; AL-MALLAHI, A. A deep learning approach for RGB image-based powdery mildew disease detection on strawberry leaves. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 183, n. 106042, p. 1-8, 2021.

SILVA, S.; OLIVEIRA NETO, S. N.; LEITE, H. G.; ALCÂNTARA, A. E. M.; OLIVEIRA NETO, R. R.; SOUZA, G. S. A. Productivity estimate using regression and artificial neural networks in small familiar areas with agrosilvopastoral systems. **Agroforestry Systems**, v. 94, n. 6, p. 2081-2097, 2020.

SILVA, R. G.; STEINER, M. T. A. Uso de redes neurais artificiais em uma etapa do processo de produção de alumina para auxílio do controle ambiental. *In*: ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 1., 2013, Salvador. **Anais [...]**. Salvador: Centro de Análises de Sistemas Navais, 2013. 11 p.

SOARES, F. C.; ROBAINA, A. D.; PEITER, M. X.; RUSSI, J. L. Predição da produtividade da cultura do milho utilizando rede neural artificial. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 11, p. 1987-1993, 2015.

SOUZA, R. M. **Avaliação da predição de algoritmos de treinamento supervisionado de redes neurais artificiais aplicado a qualidade de biodiesel**. 2015. 82 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Eletricidade) - Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2015.

VENDRUSCOLO, D. G. S.; DRESCHER, R.; SOUZA, H. S.; MOURA, J. P. V. M.; MAMORÉ, F. M. D.; SIQUEIRA, T. A. S. Estimativa da altura de eucalipto por meio

de regressão não linear e redes neurais artificiais. **Revista Brasileira de Biometria**, Cuiabá, v. 33, n. 4, p. 556-569, 2015.

ZILLER, S. R.; DECHOUM, M. S.; ZENNI, R. D. Prevendo o risco de invasão de 16 espécies de eucalipto por meio de um protocolo de avaliação de risco desenvolvido para o Brasil. **Austral Ecology**, v. 44, n. 1, p. 28-35, 2019.

CAPÍTULO 24

PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES BOVINOS: A REVOLUÇÃO BIOTECNOLÓGICA NA PECUÁRIA

Adriano Felipe Mendes

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências (IB), Botucatu, São
Paulo, Brasil.

Mariângela Bueno Cordeiro Maldonado

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências e Letras (FCL), Assis,
São Paulo, Brasil.

Isabella Rio Feltrin

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências (IB), Botucatu, São
Paulo, Brasil.

Lucas de Oliveira Bezerra

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Claudia Maria Bertan Membrive

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Resumo

A produção *in vitro* (PIV) de embriões bovinos é uma biotécnica de interesse mundial que permite multiplicar de forma rápida, e, em larga escala, fêmeas geneticamente superiores. Na referida técnica, com a possibilidade de se utilizar fêmeas doadoras de oócitos em idade pré-púbere, a velocidade no melhoramento genético torna-se acelerada, reduzindo significativamente o intervalo de tempo entre as gerações. A PIV de embriões bovinos envolve, como etapa inicial, a coleta de oócitos das doadoras por aspiração folicular guiada por ultrassom (*in vivo*) ou por aspiração de ovários provenientes de abatedouros (*in vitro*). As etapas seguintes compreendem a maturação *in vitro* dos oócitos (MIV), fertilização *in vitro* dos oócitos maturados (FIV) e o cultivo *in vitro* dos embriões (CIV). Os embriões produzidos *in vitro* podem ser imediatamente transferidos para o corno uterino de receptoras fisiologicamente sincronizadas com o estágio de desenvolvimento do embrião ou podem ser criopreservados. A PIV de embriões bovinos contribui como uma biotecnologia de base para a aplicação das técnicas de clonagem e transgenia. Atualmente, o emprego de marcadores genéticos associados à PIV de embriões possibilita identificar características genômicas de interesse através de uma biópsia realizada no embrião. Assim, a PIV de embriões bovinos representa um alicerce de sustentação importantíssimo ao avanço biotecnológico na zootecnia de precisão da pecuária de corte.

1 INTRODUÇÃO

A produção *in vitro* (PIV) de embriões bovinos é uma técnica de reprodução assistida de interesse mundial que permite acelerar o ganho genético em rebanhos bovinos de corte e leite. O melhoramento genético é obtido por meio do cruzamento de animais geneticamente superiores para características de interesse zootécnico, com o objetivo de produzir uma prole geneticamente melhorada. A PIV de embriões constitui uma biotecnologia que pode acelerar tal processo, proporcionando, especialmente às fêmeas expoentes, um maior número de proles geradas ao longo da vida produtiva. Estima-se que uma vaca submetida à monta natural, inseminação artificial (IA) ou inseminação artificial em tempo fixo (IATF), seja capaz de gerar 1 prole/vaca/ano. O número de proles geradas cresce consideravelmente quando a PIV de embriões é implementada em um rebanho. Considerando que uma fêmea pode ser submetida a aspirações regulares consecutivas a cada 15 dias, essa pode gerar entre 50 e 100 embriões ao longo de um ano. Considerando que tais embriões possam resultar em 50% de prenhez, 25 a 50 bezerros podem ser gerados ao ano, equivalendo a aproximadamente 1 prole/vaca/semana (VARAGO *et al.*, 2014). Esses valores demonstram o grande potencial da PIV de embriões bovinos na rápida multiplicação de animais geneticamente superiores.

Em fêmeas bovinas de leite submetidas à PIV de embriões no sistema tradicional, a aspiração de oócitos é iniciada na doadora com aproximadamente 2 anos de idade, resultando no nascimento da primeira prole quando a fêmea alcança aproximadamente 3 anos de idade. Tal prática exige um intervalo de 15 anos para que se obtenha 5 gerações consecutivas. Atualmente, torna-se possível a coleta de oócitos em doadoras bezerras aos 2 meses de idade, resultando no nascimento da prole quando a fêmea tiver aproximadamente 1 ano de idade. Tal prática permite que se obtenha 5 gerações em um intervalo de 5 anos consecutivos. Considerando a segunda possibilidade, o intervalo entre gerações passa a ser muito menor, acelerando o melhoramento genético. Embora seja questionável a avaliação genética de uma boa matriz leiteira aos 2 meses de idade, inclusive como doadora de oócitos, a avaliação genômica aliada a PIV possibilita tal avaliação de forma segura.

Segundo Viana (2020), dados do Comitê da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS) registram que, em 2019, aproximadamente 1.031.567 embriões bovinos transferíveis foram produzidos *in vitro* no mundo, dos quais 525.078 foram produzidos na América do Norte, 430.355 na América do Sul, 62.009 na Europa, 10.480 na Austrália e 3.645 na África. Tais valores expressam a relevância do emprego da PIV de embriões bovinos na bovinocultura mundial.

A PIV também constitui uma ferramenta largamente empregada na pesquisa, uma vez que os embriões produzidos tornam-se um

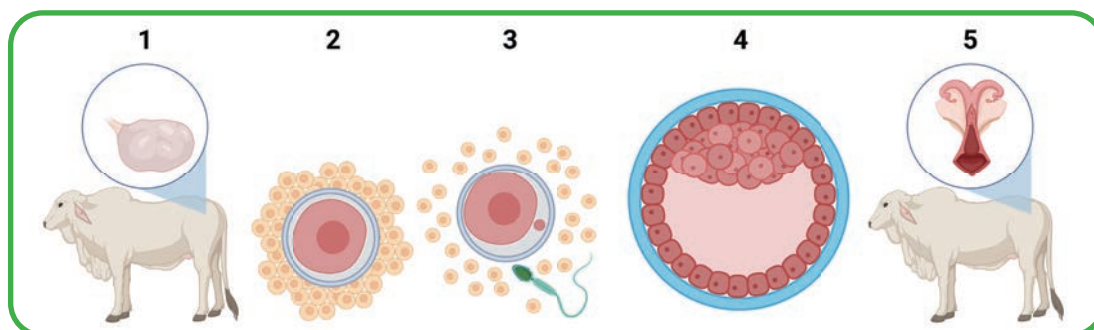
excelente modelo biológico para a elucidação dos complexos mecanismos biológicos envolvidos no processo de maturação oocitária, fecundação e desenvolvimento embrionário pré-implantação. A disponibilidade de ovários em abatedouros de bovinos favorece a obtenção de um material abundante para o desenvolvimento de pesquisas envolvendo a PIV.

Este capítulo descreve as diferentes etapas da PIV de embriões bovinos, compreendendo a coleta dos oócitos, maturação oocitária, fertilização, cultivo embrionário e transferência dos embriões para as receptoras. Também mostra a importância da PIV de embriões bovinos para aperfeiçoamento de biotécnicas como clonagem, transgenia e marcadores genômicos aliados à PIV de embriões bovinos, tornando possível encontrar animais com características genéticas de interesse ainda em fase embrionária.

2 ETAPAS DA PIV DE EMBRIÕES BOVINOS

A PIV de embriões envolve diferentes etapas. Conforme representado na **Figura 1**, a primeira etapa consiste na obtenção de oócitos imaturos por meio da aspiração de folículos antrais presentes nos ovários. Os oócitos aspirados são selecionados e destinados para a maturação oocitária. Após a maturação oocitária, esses gametas serão submetidos à fertilização *in vitro* (FIV). Em seguida, os possíveis embriões são transferidos para o cultivo *in vitro* (CIV), e os embriões produzidos normalmente são transferidos ao útero de receptoras com sete a oito dias de desenvolvimento. Cada uma das diferentes etapas será detalhada a seguir.

Figura 1. Representação esquemática das diferentes etapas da PIV de embriões bovinos que compreendem a punção dos folículos ovarianos (1), maturação *in vitro* (MIV) durante 24 horas dos complexos cumulus-oócito (CCOs) aspirados (2), fertilização *in vitro* (FIV) dos CCOs por 18 a 22 horas (3), cultivo *in vitro* (CIV) dos embriões por 7 dias (4) e transferência do embrião ao útero da fêmea receptora (5).

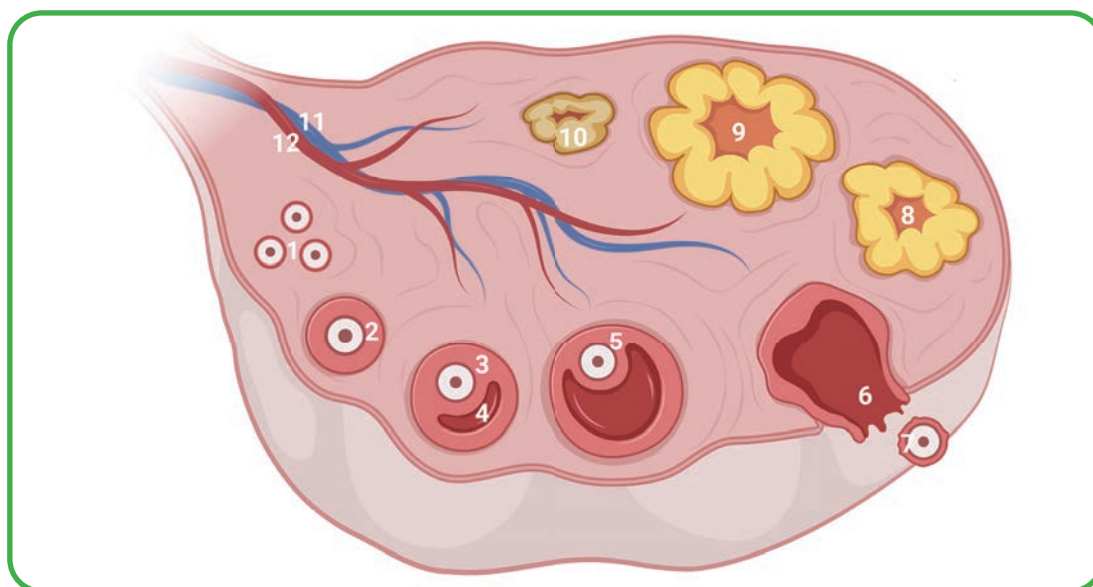


Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Adriano Felipe Mendes.

2.1 Obtenção dos oócitos

Os oócitos são obtidos por meio da aspiração dos folículos ovarianos, especificamente os folículos antrais. Conforme representado na **Figura 2**, os folículos antrais apresentam uma cavidade em seu interior preenchida por líquido e, quanto aos estágios de desenvolvimento, é sucessor dos folículos pré-antrais classificados em primordiais, primários e secundários, respectivamente, de acordo com o estágio de desenvolvimento.

Figura 2. Representação esquemática de um ovário com diferentes estruturas em estágios de desenvolvimento.

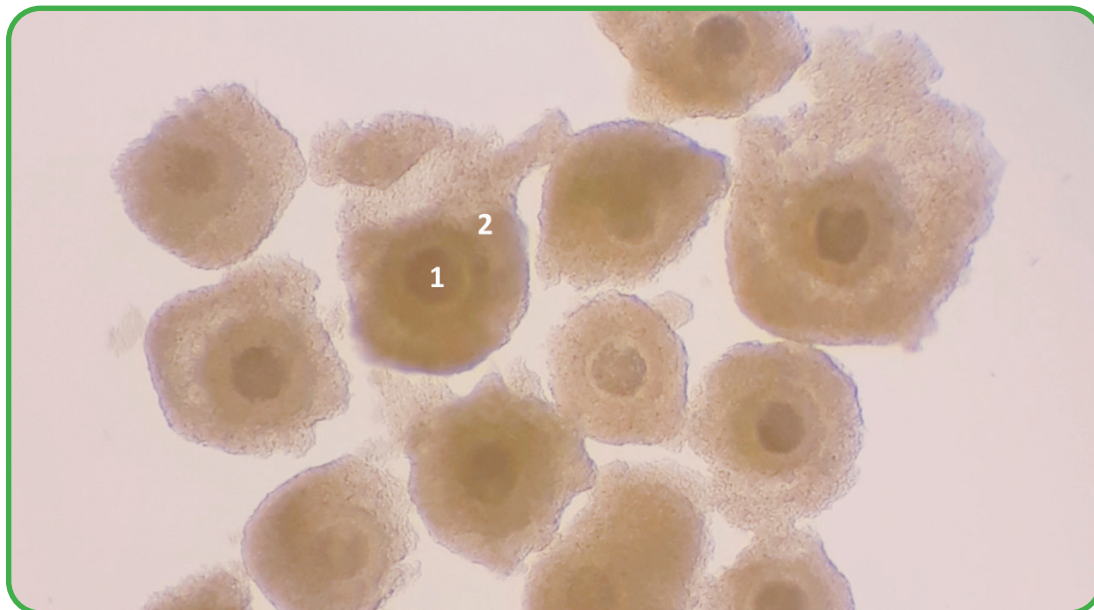


Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Adriano Felipe Mendes.

Nota: 1) folículo primário; 2) folículo secundário; 3) folículo terciário; 4) cavidade ou antro folicular; 5) folículo pré-ovulatório; 6) ruptura folicular e expulsão do oócito durante a ovulação; 7) complexo *cumulus*-oócito; 8) corpo hemorrágico; 9) corpo lúteo; 10) corpo albicans; 11) veia ovariana; 12) artéria ovariana.

O oócito é o alvo do processo e, conforme ilustrado na **Figura 3**, encontra-se intimamente ligado à múltiplas camadas de células somáticas, denominadas de células do *cumulus*, formando uma estrutura denominada de complexo *cumulus*-oócito (CCO). Existem vias de comunicação bidirecionais entre o oócito e as células do *cumulus* que são utilizadas para o transporte de substâncias durante o processo de maturação.

Figura 3. Complexos *cumulus*-oócito imaturos recuperados após aspiração de ovários provenientes de abatedouro.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Adriano Felipe Mendes.

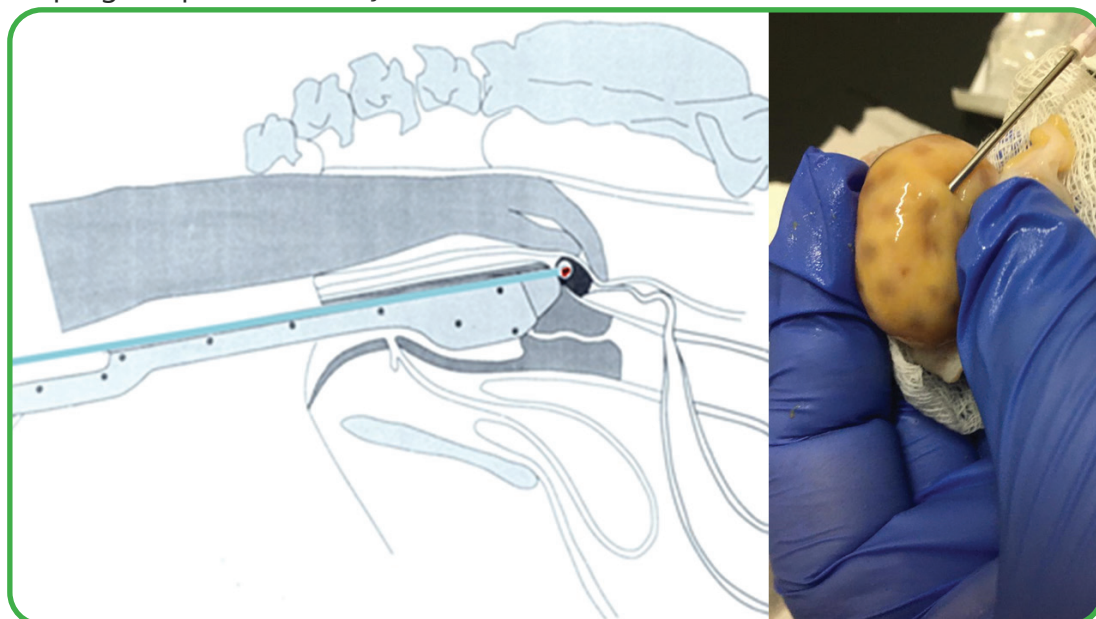
Nota: 1) oócito; 2) múltiplas camadas de células do *cumulus* compactas.

Os CCOs podem ser obtidos por meio da aspiração folicular em doadoras de oócitos vivas ou por aspiração de ovários provenientes de abatedouro obtidos de fêmeas abatidas.

Obtenção de oócitos *in vivo*: Conforme representado na **Figura 4**, a aspiração folicular guiada por ultrassonografia (AFGU) é a técnica empregada para a obtenção de oócitos de doadoras vivas. Resumidamente, a probe de um aparelho de ultrassonografia específica para esse procedimento é inserida no canal vaginal da fêmea enquanto uma das mãos é introduzida na ampola retal para conter o ovário. Uma imagem ultrassonográfica é gerada em um monitor externo, permitindo ao operador do procedimento visualizar e realizar a aspiração dos folículos visíveis através de uma agulha acoplada na probe introduzida na vagina e conectada a um sistema de vácuo presente no aparelho. Com a imagem ultrassonográfica do folículo e da posição da agulha em relação ao mesmo, a parede do fundo de saco da vagina é transpassada pela agulha que alcança o folículo e, com o auxílio de vácuo, os oócitos são prontamente aspirados junto com o fluido folicular e encaminhado por uma mangueira até um tubo graduado. A taxa de recuperação de oócitos de doadoras bovinas por meio da AFGU apresenta variações de acordo com a raça. De forma geral, as raças *Bos taurus indicus* parecem proporcionar maior recuperação de oócitos pela técnica de AFGU comparado às raças *Bos taurus taurus*. Watanabe *et al.* (2017), relatam a recuperação de 27,2 e 23,8 oócitos de zebuínos das raças Nelore e Gir (*Bos taurus indicus*), respectivamente. No mesmo estudo, as raças Senepol e Holandesa (*Bos*

taurus taurus) renderam 21,8 e 19,3 óócitos, respectivamente. Variações no número de óócitos recuperados também são encontradas entre os indivíduos de uma mesma raça e, considerando que o número de embriões produzidos *in vitro* é dependente do número de óócitos recuperados, torna-se relevante identificar as doadoras potencialmente mais produtivas na PIV de embriões, dessa forma reduzindo o custo por embrião produzido.

Figura 4. Desenho esquemático da aspiração folicular guiada por ultrassonografia, técnica empregada para a obtenção de óócitos *in vivo* (esquerda) e aspiração folicular realizada com agulha e seringa, técnica empregada para a obtenção de óócitos *in vitro* (direita).



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração esquerda: Adriano Felipe Mendes. Ilustração direita: imagem gentilmente cedida pela Med. Vet. Valeska de Castro Lourenço.

Obtenção de óócitos *in vitro*: A aspiração dos ovários provenientes de abatedouros é frequentemente utilizada para o desenvolvimento de pesquisas científicas envolvendo diferentes processos da PIV. Conforme representado na **Figura 4**, os ovários são coletados imediatamente após o abate das fêmeas e acondicionados em garrafa térmica contendo solução de NaCl a 0,9%, previamente aquecida a aproximadamente 37°C. Os ovários são encaminhados ao laboratório, onde a punção dos folículos é realizada normalmente com auxílio de agulha e seringa, e, menos frequentemente, com uma bomba de vácuo. A qualidade dos CCOs recuperados é influenciada pelo calibre e comprimento da agulha e pela pressão em mmHg quando o sistema de vácuo é adotado. Agulhas mais calibrosas, com 1,2 mm de diâmetro e 40 mm de comprimento (18G) são recomendadas, por possibilitarem a recuperação de um maior número de CCOs sem que ocorra um comprometimento da qualidade das estruturas. Pressões altas, no sistema

de vácuo, podem resultar em CCOs com menos células do *cumulus* ao redor do oócito, consequentemente comprometendo a sua qualidade.

Ao aspirar os folículos ovarianos obtêm-se os CCOs suspensos no fluido folicular. Pode ocorrer a presença de sangue no fluido, pois o ato da punção folicular causa o rompimento de pequenos vasos sanguíneos que irrigam o folículo aspirado. Os CCOs podem ser classificados morfológicamente quanto à qualidade. A avaliação visual dos CCOs baseia-se em duas características principais, a homogeneidade do citoplasma oocitário (ooplasma) e o número de camadas compactas de células do *cumulus* que cercam o oócito. Trata-se de uma análise subjetiva que, embora utilizada para predizer a capacidade de o oócito desenvolver um blastocisto, apresenta acurácia variável. Existem variações nos critérios de seleção, mas, de forma geral, os CCOs podem ser classificados em categoria 1: oócito com citoplasma homogêneo e múltiplas camadas de células *cumulus* compactas; categoria 2: heterogeneidade discreta no citoplasma oocitário e múltiplas camadas compactas de células do *cumulus* (mais de 5 camadas); categoria 3: oócito com citoplasma heterogêneo/vacuolizado e, embora apresente camadas sobrepostas de células do *cumulus* (3 a 5 camadas), inclui áreas não revestidas por essas células; categoria 4: oócito com citoplasma heterogêneo, desnudo (ausência de células do *cumulus*) ou parcialmente desnudo (STOJKOVIC *et al.*, 2001).

Oócitos desnudos, CCOs atrésicos e expandidos não são utilizados na maturação *in vitro* dos oócitos (MIV), pois a qualidade dos CCOs é relevante para os resultados da produção *in vitro* de embriões. As características genéticas das fêmeas doadoras de oócitos, raça, fatores nutricionais, idade e o diâmetro folicular de onde os CCOs foram obtidos são alguns dos fatores que influenciam a qualidade dos oócitos recuperados. Carvalho *et al.* (2008) verificaram que fêmeas bovinas *Bos taurus indicus* recrutam um maior número de folículos a cada onda de crescimento folicular, quando comparadas com fêmeas *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* e *Bos taurus taurus*, sendo o número de folículos recrutados por onda de 33,4; 29,6 e 25,4; respectivamente. Baruselli *et al.* (2012) também compararam fêmeas Nelore (*Bos taurus indicus*) com Holandesas (*Bos taurus taurus*) quanto ao número de folículos visualizados durante a aspiração folicular guiada por ultrassonografia (41 vs. 22,1; respectivamente), número de oócitos recuperados (37 vs. 15,4; respectivamente), número de embriões clivados (21,1 vs. 5,2; respectivamente) e número de blastocistos viáveis ao final da CIV (7,3 vs. 1,1; respectivamente). Tais resultados permitem afirmar que, em fêmeas *Bos taurus indicus*, ocorre maior eficiência na PIV de embriões quando comparadas às fêmeas *Bos taurus taurus*, tanto em relação ao maior número de oócitos aspirados, quanto na sua capacidade de se tornar um blastocisto viável ao final do processo. Atualmente, do total de embriões produzidos no Brasil, considerando tanto a produção *in vivo* quanto a *in vitro*, 44,3% do total são de raças leiteiras (*Bos taurus taurus*) e 55,7% em fêmeas de corte (*Bos taurus indicus*). Nas raças *Bos taurus indicus*, do total de embriões

produzidos, 98,9% são por PIV e 1,1% *in vivo*, enquanto nas raças *Bos taurus taurus*, do total de embriões produzidos, 89,8% são por PIV e 10,2% *in vivo*.

2.2 Maturação *in vitro* dos COCs

Os CCOs precisam passar pelo processo de maturação, seja *in vivo* ou *in vitro*, para se tornarem aptos à fertilização. Diversos eventos biológicos acontecem simultaneamente durante a maturação. Modificações nucleares e citoplasmáticas são observadas. A meiose do oócito precisa progredir até a metáfase II, caracterizada pela eliminação do primeiro corpúsculo polar, composto por metade dos cromossomos com uma pequena porção do citoplasma. O citoplasma também precisa passar por grandes mudanças para que a fertilização seja bem sucedida. A síntese de diferentes moléculas, mudanças na morfologia e na localização de organelas e na organização dos grânulos corticais na periferia da célula são algumas das mudanças citoplasmáticas.

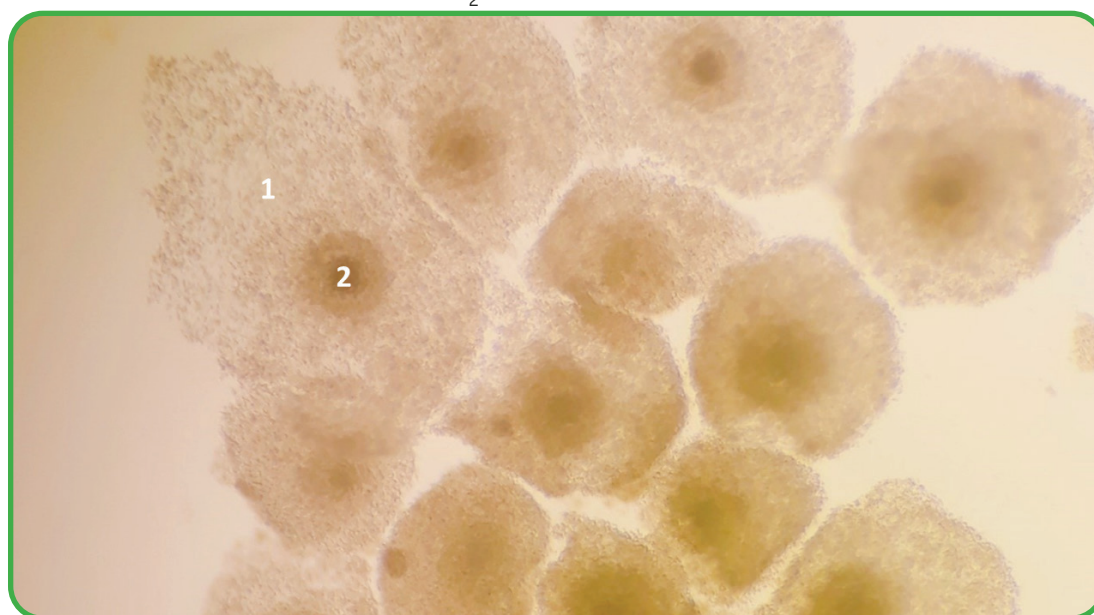
As células do *cumulus* também passam por mudanças durante a maturação. Conforme representado na **Figura 3**, essas células formam camadas compactas ao redor do oócito imaturo. Durante a maturação dos COCs acontece a expansão das células do *cumulus*, que ocorre por meio da secreção de uma matriz extracelular. Essa matriz afasta as células do *cumulus* umas das outras resultando em COCs expandidos (**Figura 5**). A MIV de CCOs bovinos é realizada em um período de 24 horas (**Figura 1**) em meio específico para esse fim. O meio de cultura tecidual conhecido como Tissue Culture Medium 199 (TCM 199) costuma ser utilizado como base para a MIV, e sua composição pode ser ajustada para melhorar os resultados obtidos. Dentre os componentes importantes que podem ser adicionados ao meio de MIV estão o hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH), ambos fundamentais no suporte à maturação. O estradiol é um outro hormônio que também pode ser adicionado ao meio de MIV.

O soro fetal bovino (SFB) é frequentemente utilizado como suplemento na PIV de embriões bovinos na concentração usual de 10% para a MIV de oócitos e 2,5% para o CIV dos embriões. O SFB contém lipídios, hormônios, proteínas e fatores de crescimento, tornando sua composição imprecisa e variável, determinando que diferentes lotes de SFB possam proporcionar resultados distintos na PIV. Embora a utilização de SFB promova melhores resultados na PIV, existem aspectos importantes que não podem ser ignorados. A utilização de SFB impede o conhecimento da real necessidade nutricional de oócitos e embriões por conta do desconhecimento de sua composição. É importante salientar que o SFB é um derivado sanguíneo de bovinos e, portanto, pode introduzir patógenos na PIV de embriões dessa espécie. O SFB também foi relacionado com a síndrome do bezerro gigante, caracterizada pelo nascimento de fetos gigantes.

Embriões cultivados na presença de SFB apresentam maior acúmulo de gotículas lipídicas, outra limitação da adição desse composto. O acúmulo de lipídios reduz a tolerância dos embriões à criopreservação. Estudos estão sendo conduzidos com o objetivo de encontrar compostos que possam substituir o SFB sem comprometer os resultados da PIV de embriões bovinos. Conforme ilustrado na **Figura 6**, a maturação, a fertilização de oócitos e o cultivo de embriões costumam ser realizados em gotas contendo meio de cultivo. As gotas ficam acondicionadas em placas de Petri ou em placas de múltiplos poços com ou sem óleo mineral. Normalmente, as gotas ficam submersas em óleo mineral que recobrirá o meio de cultivo. Gotas com aproximadamente 100 µL de meio são preparadas em placas de Petri. Cada gota recebe aproximadamente 20 CCOs na MIV. O volume pode ser semelhante na FIV e no CIV, mas é preciso substituir 50% de meio a cada 48 horas durante o CIV de embriões para repor os nutrientes consumidos durante o desenvolvimento dos embriões, procedimento denominado de "feeding".

O volume de meio de cultivo é maior quando placas de múltiplos poços são utilizadas; 500 microlitros é um volume frequentemente utilizado, mas pode variar de acordo com a quantidade de estruturas presentes. Placas de múltiplos poços possibilitam cultivar mais estruturas por poço em consequência da maior capacidade e, ainda, dispensa a necessidade de suplementação a cada 48 horas durante o cultivo embrionário.

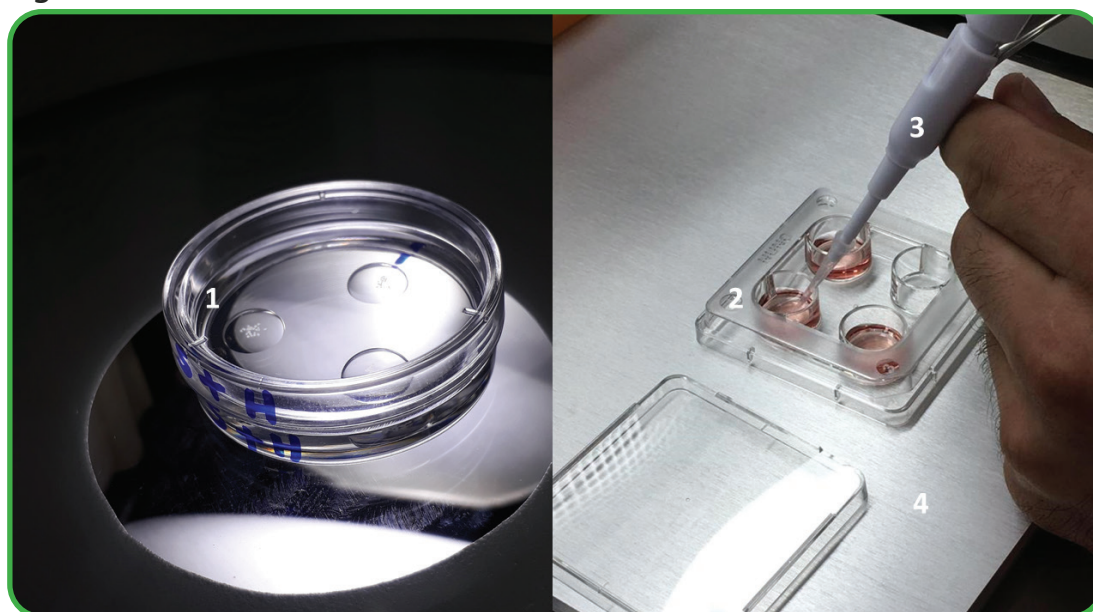
Figura 5. Complexos *cumulus*-oócito maturados *in vitro* por 24 horas em incubadora contendo 5% de CO₂ em atmosfera úmida.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Adriano Felipe Mendes.

Nota: 1) células do *cumulus* expandidas; 2) oócito.

Figura 6. Placas de cultivo utilizadas na PIV de embriões bovinos.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração esquerda: Adriano Felipe Mendes. Ilustração direita: imagem gentilmente cedida pela Med. Vet. Valeska de Castro Lourenço.

Nota: 1) placa de Petri contendo 3 gotas de meio de cultivo de 100 microlitros submersas em óleo mineral; 2) placa de 4 poços, dos quais 3 apresentam 500 microlitros de meio de cultivo; 3) pipeta automática utilizada para a manipulação de oócitos, espermatozoides e embriões; 4) placa aquecedora utilizada para manter as estruturas aquecidas.

Incubadoras programadas para trabalhar com atmosfera úmida contendo 5% de CO_2 e temperatura de $38,5^\circ\text{C}$ são utilizadas. Tais incubadoras trabalham com alta tensão de O_2 , uma vez que esse gás não é controlado em sua atmosfera interna, apresentando, portanto, equivalência com o nível de O_2 da atmosfera externa. A MIV também pode ser realizada em incubadoras com condições diferentes. Existem incubadoras conhecidas por proporcionar um ambiente com baixa tensão de oxigênio que contam com uma mistura gasosa composta de 5% de CO_2 , 5% de O_2 e 90% de N_2 .

2.3 Fertilização *in vitro*

Após a MIV, os CCOs são co-cultivados com espermatozoides para a realização da fertilização *in vitro* (FIV). O período da FIV pode variar de acordo com o protocolo adotado, mas em geral costuma durar de 18 a 22 horas (**Figura 1**). Amostras de sêmen congeladas em palhetas são rotineiramente utilizadas. Antes de ser utilizado, o sêmen criopreservado precisa ser submetido a alguns processos para que adquira o potencial de fertilização. Esse processo inclui a separação dos gametas viáveis, que pode ser realizada por meio de técnicas como "swin-up", gradiente de Percoll e lavagem por centrifugação. A seleção dos gametas viáveis por meio de gradiente de Percoll é o método mais usado para o sêmen bovino. O Percoll é formado por partículas de sílica coloidal revestidas com polivinilpirrolidona (PVP). Esse

composto permite que partículas leves, espermatozoides imaturos, detritos e células mortas sejam separados dos espermatozoides viáveis (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Para a seleção de gametas através do gradiente descontínuo de Percoll, o sêmen é depositado sobre duas camadas com densidades diferentes desse componente, 45% acima e 90% abaixo. Existem variações no protocolo de separação dos espermatozoides por gradiente de Percoll quanto ao número de centrifugações (uma ou duas, sendo a segunda em meio de FIV), tempo e força centrífuga adotados no processo. Durante a centrifugação em gradiente descontínuo de Percoll, as partículas leves, os espermatozoides imaturos, os detritos e as células mortas são separados dos espermatozoides viáveis. Os espermatozoides viáveis se concentram em um *pellet* no fundo do tubo onde a densidade do gradiente é maior, enquanto os espermatozoides mortos e outras impurezas ficam na porção superior, com densidade menor.

Esse método permite a recuperação de gametas viáveis e a remoção de substâncias como plasma seminal e diluentes crioprotetores. Os espermatozoides dos mamíferos não estão aptos à fertilização no momento da ejaculação. Na condição natural, esses gametas adquirem tal capacidade antes de fecundação, dentro do sistema reprodutor feminino *in vivo*. A aquisição da capacidade de fecundação é resultado de alterações metabólicas, moleculares, biofísicas e bioquímicas. A heparina, um glicosaminoglicano, é uma molécula capaz de induzir a capacitação de espermatozoides bovinos durante a FIV (PARRISH *et al.*, 1988).

Após o processamento do sêmen, a quantidade de espermatozoides deverá ser ajustada para o volume da gota onde ficarão os CCOs. Uma pequena amostra do sêmen processado é separada, diluída e colocada em uma câmara de Neubauer para calcular a concentração de espermatozoides, com o auxílio de um microscópio. A concentração média de espermatozoides de bovinos zebuínos utilizada na FIV varia de 1×10^6 a 2×10^6 por mL. O volume em μL , para a fertilização, depende da concentração e motilidade dos espermatozoides avaliadas na Câmara de Neubauer. A dose calculada é adicionada à placa de FIV contendo os oócitos previamente preparados em gotas de 30 a 100 μL em placas de Petri ou placas de múltiplos poços com 300 ou 400 μL . Volumes menores de meio de FIV são adotados quando se utiliza sêmen sexado. Os oócitos maturados em meio de MIV são lavados em meio de FIV antes de serem transferidos para as a placa de FIV.

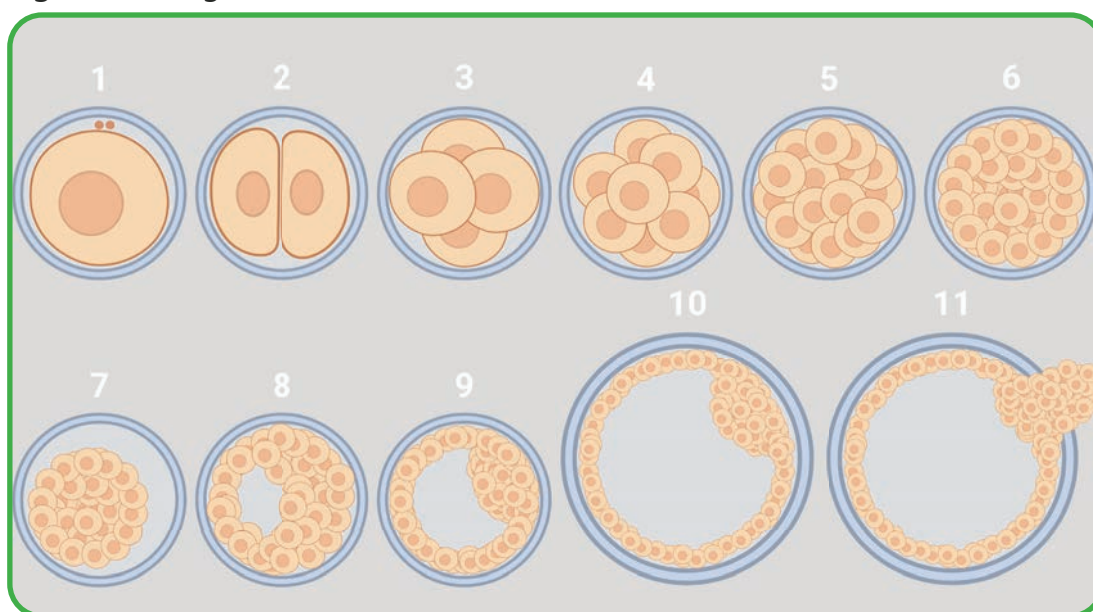
2.4. Cultivo *in vitro* de embriões

O CIV tem uma duração de aproximadamente 7 dias (**Figura 1**). Conforme representado na **Figura 7**, durante a fase de cultivo *in vitro* (CIV), os embriões se desenvolvem passando por diferentes estágios. Após a fecundação, há a formação de um embrião unicelular. A célula desse embrião, também chamada de blastômero, passará por sucessivas divisões mitóticas durante

o desenvolvimento embrionário. Além do processo de divisão celular, também chamado de clivagem, o embrião passará por outros eventos como a compactação dos blastômeros e a cavitação. Os blastômeros formam uma organização frouxa com amplo espaço entre si durante as primeiras divisões, e, a partir do estágio de 16 células, passam a se compactar, dando origem a fase de mórula. As células da mórula passam por um processo de compactação dando origem à mórula compacta. Após o estágio de mórula compacta, ocorre o início da formação de uma cavidade chamada de blastoceles. O estágio de blastocisto inicial (Bi) é o primeiro a aparecer depois da mórula compacta, seguido pelo blastocisto (Bl), blastocisto expandido (Bx) e blastocisto eclodido (Be), necessariamente nessa ordem. Esses eventos ocorrem no período de desenvolvimento embrionário pré-implantação. O desenvolvimento embrionário inicial é sustentado pelas reservas presentes no oócito e, posteriormente, pelo embrião propriamente dito após a ativação do genoma embrionário, que ocorre por volta do estágio de 8 a 16 células em bovinos.

Embriões podem ser produzidos *in vivo* ou *in vitro*. A superovulação e a colheita de embriões é uma biotecnologia difundida mundialmente. Resumidamente, essa técnica consiste na indução da ovulação de múltiplos folículos simultaneamente. Os oócitos liberados são fecundados e os embriões se desenvolvem inicialmente dentro do aparelho reprodutor da fêmea até serem coletados ao sétimo dia em fase de mórula ou blastocisto. Os embriões coletados são transferidos para receptoras que levarão a prenhez a termo. As etapas de maturação, fecundação e desenvolvimento embrionário inicial acontecem no trato reprodutor da fêmea quando a superovulação e a colheita de embriões são realizadas.

Figura 7. Estágios de desenvolvimento embrionário em bovinos.



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Adriano Felipe Mendes.

Nota: 1) 1 célula (0 a 2 dias de desenvolvimento); 2) 2 células (1 a 3 dias de desenvolvimento); 3) 4 células (2 a 3 dias de desenvolvimento); 4) 8 células (3 a 5 dias de desenvolvimento); 5) 16 células (4 a 5 dias de desenvolvimento); 6) mórula (5 a 6 dias de desenvolvimento); 7) mórula compacta (5 a 7 dias de desenvolvimento); 8) blastocisto inicial (7 a 8 dias de desenvolvimento); 9) blastocisto (7 a 9 dias de desenvolvimento); 10) blastocisto em expansão (8 a 10 dias de desenvolvimento); 11) blastocisto em eclosão (9 a 11 dias de desenvolvimento).

Além do estágio de desenvolvimento, os embriões podem ser avaliados quanto a diferentes características como, por exemplo, morfologia, coloração e presença de células extrusadas. Essas são algumas das características visuais que podem ser observadas. Embora a observação dessas características embrionárias seja adotada, trata-se de uma análise subjetiva e, por isso, pode não prever o real potencial de desenvolvimento embrionário. Mesmo embriologistas experientes podem discordar acerca da classificação de um embrião. Felizmente, já existem técnicas que buscam contornar as avaliações subjetivas, uma vez que possibilitam uma avaliação funcional. Muitas dessas técnicas ainda estão restritas ao ambiente acadêmico, mas podem integrar-se à rotina comercial no futuro.

A contagem do número total de células é adotada quando se pretende avaliar embriões, e existem diferentes formas de se realizar. A maneira mais comum consiste na coloração dos núcleos das células com um corante fluorescente chamado de *Hoechst 33342*. Após a realização da coloração, a estrutura é excitada com um comprimento de onda específico e os núcleos brilhantes são contados em um microscópio de epi-fluorescência. Essa técnica mostra o número total de células, mas sem diferenciar células vivas de células que entraram em processo de apoptose.

Para verificar o número de células em apoptose, a técnica de *terminal deoxynucleotidyl transferase-dUTP nick end labeling* (TUNEL) pode ser empregada. Associando a coloração das células totais com a técnica de TUNEL, é possível observar a proporção de células viáveis. Outra forma de investigar a qualidade de um embrião está na avaliação de seus transcritos. Existem genes essenciais para o sucesso do desenvolvimento embrionário, que podem ser investigados por meio da análise dos transcritos expressos.

Quando embriões produzidos *in vitro* e *in vivo* são comparados no êxito em promover uma prenhez na fêmea receptora, diferenças são observadas. Embriões produzidos *in vitro* apresentam qualidade inferior quando comparados aos embriões produzidos *in vivo*. Algumas características desfavoráveis que os embriões produzidos *in vitro* podem apresentar são citoplasma menos denso, maior conteúdo lipídico, zona pelúcida mais frágil, menor compactação da massa celular, formação precoce da blastocle e alterações na proporção entre a massa celular interna e o trofoblasto. As células da massa celular interna darão origem ao novo indivíduo e parte dos envoltórios extra embrionários. Já as células trofoblásticas são responsáveis

pela formação da placenta e, além disso, tem papel importante no reconhecimento materno da gestação.

A PIV de embriões bovinos é bastante comprometida em vacas leiteiras de alta produção em lactação durante os meses do verão. O estresse térmico eminente em todo o ano torna-se mais proeminente nos meses de verão. Para se ter uma ideia, nos meses de verão, dos 15 CCOs usualmente obtidos na coleta, a produção de embriões passa a ser de 15%.

Considerando uma taxa de prenhez de 25% após a transferência, chega-se a uma drástica média de aproximadamente 0,6 prenhez por doadora aspirada. Dessa forma, a PIV de embriões se torna muito pouco eficiente em vacas nessa condição. Mesmo *in vivo*, sabe-se que a produção de embriões é altamente comprometida nos seus três primeiros dias de desenvolvimento durante o estresse térmico pelo calor, pontualmente, as maiores perdas ocorrem nesse período. Assim, quando transferimos um embrião com sete dias de desenvolvimento, fora da janela temporal crítica, os resultados da transferência de embriões em tempo fixo (TETF) são melhores quando comparados ao uso de IA ou IATF. Assim, nos meses de verão, em vacas de alta produção, a TETF é amplamente empregada com o uso de embriões produzidos *in vivo* e *in vitro*.

Outro problema merece ser aqui mencionado. Em vacas classificadas como repetidoras de cio "*repeat-breeders*", ou seja, que receberam três inseminações consecutivas e não se tornaram prenhes, sabe-se que a TETF constitui uma excelente alternativa, quando a chance de prenhez passa de aproximadamente 20% para 40% nessas fêmeas. O uso da TETF, nessa condição e à essas, é comumente mencionada como "embrião terapia", para tanto, podem ser utilizados embriões produzidos *in vivo* ou *in vitro*.

O aperfeiçoamento das condições de CIV é essencial para obtenção de bons índices de produção de embriões. Nesse cenário, pesquisas são desenvolvidas para investigar o impacto de diferentes fatores sobre o desenvolvimento dessas estruturas. As abordagens seguem por diferentes caminhos, como, por exemplo, a composição dos meios de cultivo, as características da atmosfera gasosa e o impacto de diferentes sistemas de cultivo.

3 TRANSFERÊNCIA E CRIOPRESERVAÇÃO DE EMBRIÕES

O embrião produzido *in vitro* precisa, ao ser transferido para o útero da fêmea receptora, estar em uma sincronia fisiológica com o mesmo. É importante que útero da receptora esteja em sincronia fisiológica pós-ovulação com a idade do embrião após a fertilização para alcançar melhores taxas de prenhez. O período do ciclo estral em que a fêmea bovina se encontra pode ser verificado com a observação dos estros ou com protocolos de sincronização comumente utilizados para a IATF. A observação do estro

das receptoras oferece ampla margem de falhas na detecção. Para contornar as limitações da observação de estro, a transferência de embriões em tempo fixo (TETF) pode ser adotada.

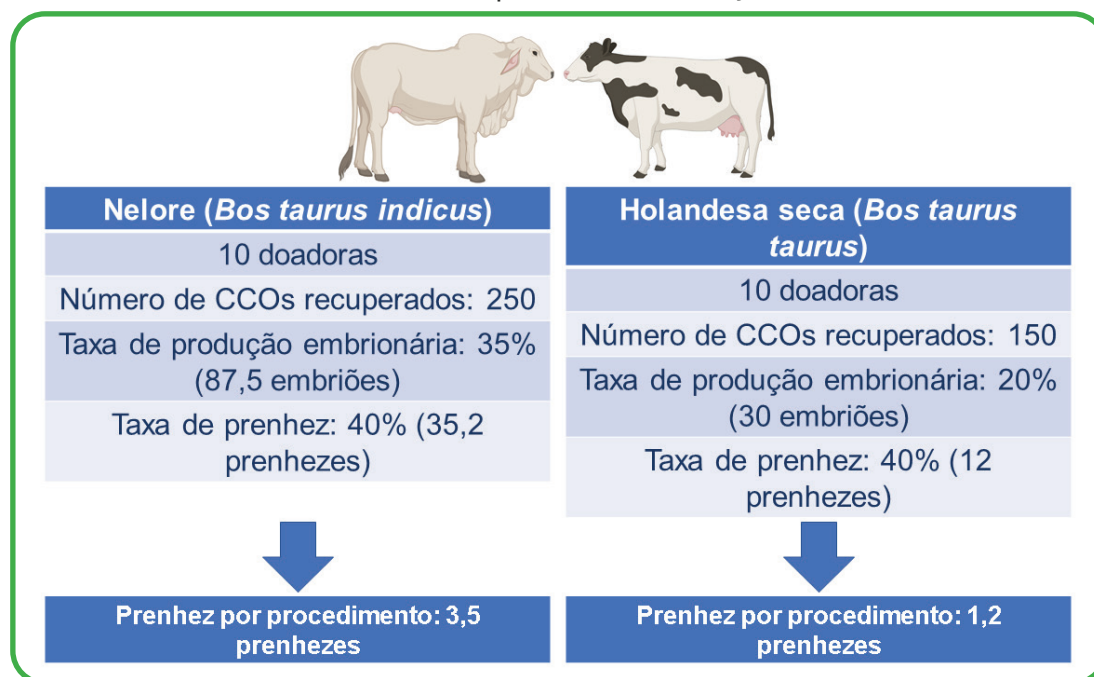
Essa técnica consiste no uso de um protocolo típico desenvolvido para a IATF, quando se controla a sincronização da emergência de onda, da luteólise e da ovulação. Entretanto, não se realiza o ato da inseminação e sim a transferência do embrião sete dias após a provável data do estro. Dessa forma, é possível determinar o horário preciso para a transferência dos embriões produzidos. A sincronia do útero da receptora com a fase de desenvolvimento do embrião é de grande importância para o sucesso na concepção após a TETF.

O uso de protocolos de TETF aumentam o aproveitamento das receptoras, sendo possível obter várias fêmeas aptas a TETF ao mesmo tempo; usualmente a taxa de aproveitamento das receptoras submetidas é de 70 a 80%. Normalmente, os embriões são transferidos no sétimo dia à partir do estro quando estão em fase de blastocisto ou, menos frequentemente, embriões menos desenvolvidos que ainda se apresentam como mórulas podem ser utilizados quando são particularmente valiosos e/ou há escassez de blastocistos (HANSEN, 2020).

O sucesso da TETF depende de um conjunto de fatores que podem ou não depender dos embriões produzidos *in vitro*. O aporte de progesterona luteal e a qualidade dos embriões são algumas das características que influenciam as taxas de sucesso da TETF. Além disso, problemas fetais e placentários podem acontecer em embriões produzidos *in vitro* e impactar negativamente nas taxas de prenhez após à TETF.

A **Figura 8** ilustra a diferenciada eficiência da PIV de embriões bovinos em fêmeas Nelore e vacas Holandesas secas. Em fêmeas Nelore, considera-se, em média, a coleta de 25 oócitos/doadora, que geram uma taxa de 35% na produção de embriões. Ao serem transferidos às receptoras, promovem uma taxa de prenhez de 40%, gerando uma média de aproximadamente 3,5 prenhez por vaca aspirada (AFGU). Em fêmeas Holandesas secas, considera-se, em média, a coleta de 15 oócitos/doadora, que geram uma taxa de 20% na produção de embriões. Ao serem transferidos às receptoras, promovem uma taxa de prenhez de 40%, gerando uma média de aproximadamente 1,2 prenhez por vaca aspirada (AFGU).

Figura 8. Eficiência na produção de prenhez por doadora aspirada comparando fêmeas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) com vacas Holandesas (*Bos taurus taurus*) secas (fora do período de lactação).



Fonte: elaborado pelos autores. Ilustração: Adriano Felipe Mendes.

Nota: CCOs: complexo *cumulus*-oócito.

A criopreservação de embriões é uma biotécnica intimamente ligada à PIV de embriões. Embriões produzidos *in vitro* não transferidos para receptoras podem ser criopreservados, evitando o seu descarte. A criopreservação possibilita a criação de bancos de germoplasma de animais com alto mérito genético e facilita a comercialização internacional de embriões trazendo, portanto, vantagens econômicas. A criopreservação também permite planejar o período em que os bezerros nascerão facilitando, portanto, o manejo dos animais. Embora a criopreservação proporcione diversas vantagens, atualmente, a eficiência da biotécnica é baixa. A menor qualidade observada em embriões produzidos *in vitro* e a falta de uniformidade nos resultados observados na sobrevivência de embriões submetidos à criopreservação são algumas características que limitam a ampla utilização da técnica na bovinocultura.

A criopreservação de embriões é realizada, rotineiramente, por duas técnicas: congelamento lento e vitrificação. A concentração de crioprotetores utilizada é menor no congelamento lento, mas há a possibilidade de formação de cristais de gelo intracelulares capazes de lesionar as células. A vitrificação é a biotécnica mais utilizada na PIV. Nessa biotécnica, os embriões resfriados rapidamente são expostos a altas concentrações de crioprotetores durante o processo de transição da água para um estado amorfo chamado de vítreo.

Os embriões vitrificados estão sujeitos a injúrias tóxicas e osmóticas em decorrência das altas concentrações de crioprotetores e à rápida desidratação das estruturas no processo. As taxas de prenhez variam em torno de 30% para embriões criopreservados pela técnica de vitrificação e 40% para embriões transferidos a fresco.

4 BIOTECNOLOGIAS UTILIZADAS ASSOCIADAS À PIV DE EMBRIÕES

Bioteχνologias moleculares como a análise genômica associada à PIV de embriões bovinos alavancam com mais força o avanço da pecuária mundial, permitindo selecionar animais geneticamente superiores ainda na fase embrionária. Além disso, a PIV de embriões bovinos dá suporte para o aperfeiçoamento de biotécnicas como a transferência nuclear ou a clonagem e a transgênese.

O incremento na produtividade da bovinocultura proporcionada pelo melhoramento genético clássico é bem conhecido. Agora temos uma nova ferramenta para continuar e acelerar ainda mais o processo: o melhoramento genético molecular. A associação de informações fenotípicas de interesse com marcadores genéticos permite a seleção animal assistida, uma vez que a presença de marcadores de interesse pode ser conhecida já no embrião. Se, por um lado, uma biópsia embrionária fornece material para investigações moleculares sem comprometimento da viabilidade do embrião, por outro, a seleção genômica de indivíduos de alto valor zootécnico o mais cedo possível, permite reduzir drasticamente o intervalo entre gerações e acelerar ainda mais o melhoramento genético dos animais. É possível saber se uma determinada característica está presente no animal em estágio de blastocisto, e essa precocidade no conhecimento das características carregadas pelo embrião permite encontrar e multiplicar rapidamente o número de animais com características de interesse.

Nas biotecnologias de clonagem e transgenia, o oócito é enucleado para receber o núcleo de uma célula doadora para a reconstrução embrionária. A MIV de oócitos traz vantagens no fornecimento de receptores para transferência nuclear. As vantagens incluem a facilidade na obtenção de oócitos em abatedouros e o controle da maturação do gameta. O núcleo utilizado pode ser derivado de blastômeros embrionários ou células somáticas. No contexto da pecuária, a utilização de células somáticas na clonagem traz como vantagens o conhecimento do fenótipo e genótipo do doador em potencial para a geração de animais de elite que serão multiplicados com variação genética mínima. Além dessas vantagens, a clonagem também é usada na produção de animais transgênicos. Animais transgênicos recebem genes por intervenção e, por isso, possuem DNA recombinante. A transgênese tem grande potencial na produção animal seja no desenvolvimento de modelos resistentes a doenças ou na incorporação de características produtivas quantitativas e qualitativas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As biotécnicas aplicadas à reprodução de bovinos dão suporte ao avanço tecnológico da pecuária mundial. Nesse contexto, a PIV de embriões bovinos se destaca por permitir a multiplicação rápida e em larga escala de animais geneticamente superiores. As diferentes etapas da PIV de embriões representadas pela obtenção dos oócitos *in vivo* ou *in vitro*, a maturação oocitária, a fertilização dos oócitos maturados e o cultivo embrionário foram discutidos nesse capítulo.

Os embriões produzidos *in vitro* são transferidos para as receptoras ou são criopreservados. A criopreservação viabiliza o comércio de embriões e a criação de bancos genéticos. A PIV de embriões bovinos também dá suporte para biotecnologias correlatas como a seleção genômica, a clonagem e a transgênese. Essas diferentes tecnologias causam impactos positivos na pecuária moderna. O constante aperfeiçoamento da PIV de embriões bovinos é essencial para que os resultados dessa biotécnica sigam em crescimento.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro, processos nº 2016/02805-4 e nº 2018/24168-1.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

- BARUSELLI, P. S.; SÁ FILHO, M. F.; FERREIRA, R. M.; SALES, J. N.; GIMENES, L. U.; VIEIRA, L. M.; MENDANHA, M. F.; BÓ, G. A. Manipulation of follicle development to ensure optimal oocyte quality and conception rates in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlim, v. 47, s. 4, p. 134-41, 2012.
- CARVALHO, J.B.; CARVALHO, N.A.T.; REIS, E.L.; NICH, M.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, [s. l.], v. 69, n. 2, p. 167-175, 2008.
- HANSEN, P. J. The incompletely fulfilled promise of embryo transfer in cattle-why aren't pregnancy rates greater and what can we do about it? **Journal of animal science**, Champaign, v. 98, n. 11, 2020.
- OLIVEIRA, L. Z.; HOSSEPIAN DE LIMA, V. F.; LEVENHAGEN, M. A.; SANTOS, R. M.; ASSUMPTÃO, T. I.; JACOMINI, J. O.; ANDRADE, A. F.; ARRUDA, R. P.; BELETTI, M. E. Transmission electron microscopy for characterization of acrosomal damage after Percoll gradient centrifugation of cryopreserved bovine spermatozoa. **Journal of veterinary science**, Seoul, v. 12, n. 3, p. 267-72, 2011.
- PARRISH, J. J.; SUSKO-PARRISH, J.; WINER, M. A.; FIRST, N. L. Capacitation of bovine

sperm by heparin. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 38, n. 5, p. 1171-80, 1988.

SIRARD, M. 40 years of bovine IVF in the new genomic selection context. **Reproduction**, Cambridge, v. 156, n. 1, p. R1-R7, 2018.

STOJKOVIC, M.; MACHADO, S. A.; STOJKOVIC, P.; ZAKHARTCHENKO, V.; HUTZLER, P.; GONCALVES, P. B.; WOLF, E. Mitochondrial distribution and adenosine triphosphate content of bovine oocytes before and after in vitro maturation: correlation with morphological criteria and developmental capacity after in vitro fertilization and culture. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 64, n. 3, p. 904-909, 2001.

VARAGO, F. C.; MENDONÇA, L. F.; LAGARES, M. A. Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 32, n. 2, p. 100-109, 2008.

VIANA, J. 2019 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. **Embryo Technology Newsletter**, Champaign, v. 38, n. 4, p. 1-15, 2020.

WATANABE, Y. F.; SOUZA, A. H.; MINGOTI, R. D.; FERREIRA, R. M.; BATISTA, E. O. S.; DAYAN, A.; WATANABE, O.; MEIRELLES, F. V.; NOGUEIRA, M. F. G.; FERRAZ, J. B. S.; BARUSELLI, P. S. Number of oocytes retrieved per donor during OPU and its relationship with *in vitro* embryo production and field fertility following embryo transfer. **Animal Reproduction**, Belo Horizonte, v. 14, n. 3, p. 635-44, 2017.

Imagem "hand" de artistlike por Pixabay
(<https://pixabay.com/pt/photos/mão-mundo-bola-manter-criança-644145/>)





PARTE 5

CIÊNCIAS HUMANAS E SOCIAIS

25 Conhecimento humano: ciência e ideologias

26 O consumidor agroalimentar 4.0

CAPÍTULO 25

CONHECIMENTO HUMANO: CIÊNCIA E IDEOLOGIAS

Fernando Curi Peres

Universidade de São Paulo (USP),
Escola Superior de Agricultura “Luiz de
Queiroz”, Piracicaba, São Paulo, Brasil.

Elaine Mendonça Bernardes

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas (FCAT), Dracena, São Paulo,
Brasil.

Vania Di Addario Guimarães

Universidade Federal do Paraná (UFPR),
Curitiba, Brasil.

José Roberto Fernandes Canziani

Universidade Federal do Paraná (UFPR),
Curitiba, Brasil.

Resumo

O capítulo apresenta as formas de conhecimento humano de modo a permitir o entendimento do papel do conhecimento científico entre as demais formas. Introduzir o leitor no vastíssimo mundo da epistemologia e tratar de uma proposta de classificação dos tipos de conhecimento são objetivos específicos do trabalho. À apresentação epistemológica, segue-se uma discussão da importância e as características de cada tipo de conhecimento resultados da criação de mitos ou símbolos, da revolução da consciência, das verdades reveladas, das habilidades de ofício, dos conhecimentos artísticos, dos normativos ou prescritivos e do conhecimento científico. Este último é diferenciado das outras formas, por se restringir aos conhecimentos gerados pelo, ou enquadráveis no “método das ciências”, que descreve fenômenos e suas relações causais. Ciência é um subconjunto muito restrito do conhecimento humano, com pretensão de ser objetivo na descrição de fatos, dos estados atuais ou dos eventos descritos por observadores não diretamente envolvidos neles (pretende explicar o mundo como ele é). O método da ciência é apresentado, dentro do enfoque positivista lógico, tendo a matemática como a sua principal linguagem, importante para apontar a existência de inconsistências lógicas. Nele, as teorias são, ou não, negadas em termos probabilísticos: para serem consideradas científicas, devem permitir a produção de hipóteses testáveis e apresentarem completa aderência a encadeamento lógicos de causa e efeito. Quando não passam nos testes estatísticos, as teorias devem ser ampliadas ou substituídas por outras capazes de explicar os novos dados. Outra forma de rejeitar uma teoria é a detecção de sua inconsistência lógica interna. Os autores enfatizam que ciência não se presta a indicar formas prescritivas ou normativas de comportamento humano. Essas formas prescritivas são objetos de escolhas políticas e o método das ciências é impotente, ou inadequado, para ser usado nas suas escolhas.

1 INTRODUÇÃO: COMO PODEMOS ESTUDAR O CONHECIMENTO HUMANO E ALGUMAS DE SUAS IMPLICAÇÕES

Muitos profissionais, e mesmo estudiosos de determinadas disciplinas ditas científicas e os de outras áreas do conhecimento — artes, religiões, éticas e de escolhas morais, ideológicas ou de opções políticas, de história e de outras formas — usam, em publicações, argumentações, discussões e em manifestações diversas, de forma mais ou menos indiscriminadas, elementos de mais de uma delas, sem precisar suas limitações metodológicas ou pressuposições básicas. O presente artigo é uma introdução ao estudo das formas, ou tipos, de conhecimento humano, com a clara intenção de ajudar o leitor a fugir do uso de sofismas em suas argumentações e levá-lo a refletir sobre o papel do conhecimento científico nas formas de conhecimento humano.

Estudar as diferentes formas do conhecimento humano é o campo da Epistemologia. Esta pode ter a conotação de conhecimento, no sentido que o associamos a conhecer uma pessoa mais intimamente ou a conhecer, saber e ter certa familiaridade com um processo, ou método qualquer, além de também incluir o conhecimento de linguagens de algum dos diferentes ramos das ciências e/ou saber utilizar o processo lógico utilizado nas respectivas demonstrações ou análises. Algumas angústias são identificadas no comportamento humano sobre as quais, infelizmente, não conhecemos a origem, ou razão de ser. Luc Ferry, um brilhante filósofo contemporâneo e ex-Ministro da Educação da França, sugere, em seu interessante livro introdutório, ou motivacional, para o, ou do, estudo da Filosofia, que a não conformação das pessoas com o caráter passageiro, temporário ou não eterno de nossos sentimentos de felicidade é uma das principais causas da angústia que faz os humanos aceitarem, desesperadamente, as promessas de vida eterna das religiões (FERRY, 2017).

Um importante filósofo do século passado, Bertrand Russel, matemático, epistemologista e físico do mais alto nível, nascido nos anos setenta do Século XIX, e altamente produtivo desde o final daquele século até meados da segunda metade do século XX, considera como um dos problemas mais fundamentais da filosofia as dificuldades envolvidas com a demonstração da existência objetiva das coisas, dos fatos, situações ou eventos observados ou percebidos por nossos sentidos (RUSSEL, 1999). Essa controvérsia, como sugerida por Russel, tem raízes profundas no problema do conhecimento humano. O problema da existência objetiva do que é percebido por nossos sentidos ainda não foi resolvido. De fato, estudando as imensas possibilidades de interferências na nossa percepção dos fatos do mundo físico ou virtual, a única certeza que temos, ou podemos ter, sobre a realidade objetiva deles, é

de que algo está estimulando nosso pensamento!¹ Reconhecendo a limitação derivada do não endereçamento deste tópico neste trabalho, trataremos, a seguir, de uma proposta de classificação dos diversos tipos de conhecimento humano, tentando mostrar sua importância e algumas características de cada tipo.

São inúmeras as tentativas anteriores de discutir o conhecimento humano. Russel (1948), em importante livro intitulado *Human Knowledge: its scope and limits* (O Conhecimento Humano: suas possibilidades e limites) discute, profundamente, inúmeros conceitos e exigências de precisão em linguagem no entendimento dos avanços, até aquela data, dos conhecimentos das ciências, especialmente as da natureza, ou do mundo físico. Sir Karl Popper, um dos mais brilhantes analistas da epistemologia e membro destacado da importante corrente de pensamento identificada como a *Escola de Viena*, publicou inúmeros trabalhos, muito rigorosos, sobre o conhecimento humano. Destacamos aqui, a abordagem de Popper (1993). Nossa pretensão é muito menor, porque queremos somente introduzir os leitores não versados em Epistemologia em uma primeira incursão no “vastíssimo mundo” de sua abrangência.

Um brilhante ganhador do Prêmio Nobel, Gunnar Myrdal, sueco e com formação jurídica inicial, mas que se transformou em um “gigante” do pensamento sociológico e científico em geral, ao analisar o problema do negro nos Estados Unidos, diz que o máximo que se consegue atingir em termos de objetividade em ciências sociais está associado à explicitação anterior dos “valores e pressuposições” feitos ou defendidos pelo pesquisador. Concordamos com ele, e, portanto é preciso esclarecer que os autores acreditam na superioridade da visão liberal sobre as organizações político-social e econômica das nações. Fica o aviso para aqueles que querem saber detalhes sobre as coisas que os autores acreditam, e os valores morais/éticos que têm procurado seguir e transmitir a seus familiares e entes queridos e, por consequência, a seus alunos.

2 AS FORMAS OU TIPOS DE CONHECIMENTO HUMANO

2.1 Os Reflexos Condicionados

Existem muitas formas de conhecimento humano, as quais podem ser classificáveis em categorias mais ou menos intuitivas. A mais elementar, nos parece, é o tipo de conhecimento derivado da capacidade humana (comum a muitas outras espécies do reino animal) de **identificar regularidades em**

¹ Os “daltônicos” veem determinadas coisas com uma coloração diferente da que os não daltônicos percebem; pelas leis da Ótica, indivíduos colocados em pontos de observação diferentes veem formas diferentes. Qual a cor verdadeira dos objetos percebidos? É preciso ter em conta que é relativamente recente, na história humana, o reconhecimento dessa “doença”; quantas outras serão descobertas? Qual a forma verdadeira dos objetos que percebemos? Esses são exemplos mencionados por Russel (1948) ao colocar o problema da existência objetiva dos fatos que percebemos!

eventos repetitivos e, conseqüentemente, desenvolver alguma forma de expectativa — medo, euforia, esperança e outros sentimentos — ou reação, resultante de um processo de aprendizagem em geral, que é conhecido como o condicionamento de reflexos. O fenômeno foi muito bem estudado por Ivan Pavlov e é conhecido como **Reflexos Condicionados de Pavlov**. Esta é — ou deve ser — a forma mais primária da construção do conhecimento pelas pessoas. Uma grande quantidade de animais superiores — aqui incluídos quase todos os mamíferos — têm a capacidade de desenvolver esse tipo de conhecimento. Se alguém coloca um veneno, que mata o animal que dele se alimenta, verá morrer um, ou alguns, dos animais visados; no entanto, muitas espécies animais aprendem a associar o consumo do veneno, por mais atraente que ele seja, à morte, como consequência. O que se vê é a perda da eficácia do veneno, porque os animais que se quer extinguir logo aprendem que não devem consumi-lo. Na espécie humana, essa forma de conhecimento deve existir, pelo menos, desde os tempos das aparições dos primeiros hominídeos.

2.2 A Primeira Grande Revolução Humana: a Revolução da Consciência

Uma importante distinção ou característica da espécie humana, no entanto, é sua capacidade de criar mitos ou símbolos e, a partir deles, criar instituições agregadoras, o que lhe permite formar grupos muito maiores do que os pequenos grupos capazes de formar bandos de todas as outras espécies que têm cooperação entre seus membros. O *Homo Sapiens* (a espécie humana cuja descendência predominou, quase exclusivamente, entre os hominídeos, desde algumas poucas dezenas de milhares de anos) eliminou as outras espécies de hominídeos (do gênero *Homo*) muito provavelmente pelo que se chamou a grande “**revolução da consciência**”. Ela está representada pelas nuvens na Figura 2. Essa revolução concedeu ao *Homo Sapiens* uma enorme vantagem competitiva na luta pela sobrevivência das espécies.

Paleontologistas e outros estudiosos da pré-história humana sugerem que os primeiros agrupamentos de humanídeos, que incluíam o *Homo Sapiens*, entre outras espécies, só podiam ter um tamanho muito limitado de indivíduos vivendo em grupos hierarquizados e cooperantes porque eles precisavam se conhecer, mais ou menos intimamente, por suas características específicas de aparência visual, cheiro e idiossincrasias comportamentais que os identificavam como pertencentes ao grupo ou clã. E, como acontece com as inúmeras outras espécies animais, os primatas primitivos, independente da espécie a que pertencessem, eram altamente territorialistas. Mesmo indivíduos da mesma espécie eram (de fato, são, em muitos mamíferos) rechaçados, mortos ou imediatamente expulsos do convívio com o bando quando identificados como não pertencentes a aquele grupo específico. Por exigência desse conhecimento íntimo entre os membros do clã, eles nunca devem ter sido formados por um número muito maior do que uma centena de

indivíduos no mesmo bando (HARARI, 2017). Essa limitação só foi superada quando aconteceu a chamada primeira revolução humana ou a grande revolução da consciência humana. Por algum fenômeno evolutivo ainda não conhecido, a espécie *Homo Sapiens* desenvolveu a capacidade de criar “mitos” ou “símbolos” que incluíam o reconhecimento na natureza de elementos associados a manifestações de seres superiores ou entidades supervisoras que ditavam normas para os membros do bando, especialmente permitindo a criação de instituições cujos objetivos e indicações comportamentais deveriam ser comungados e obedecidos por todos. Por exemplo, muitas tribos que habitavam determinadas regiões ou vales específicos se juntavam, periodicamente, para aumentar sua eficiência, ou eficácia, nas caçadas, porque eram exigidos muitos indivíduos na empreitada.

O compartilhamento de crença em determinados mitos ou símbolos — ligados às diversas religiosidades, instituições de controle social, identidade geográfica e muito do que hoje chamamos ideologias etc. — permitiu aos bandos de *Homo Sapiens* crescerem indefinidamente, com a maioria dos membros do grupo que reconhecia o mito ou símbolo comungando a crença comum que lhes dava a característica de pertinência, ou de pertencer ao grande bando. Assim, ainda a título de exemplo, pertencer às comunidades maçons, muçulmana, judaica, cristã de determinada seita, bem como ser cidadão de determinados países etc, dá a algumas pessoas um sentido de pertinência a grupos muito maiores do que sua convivência íntima poderia permitir. Esses símbolos ou mitos desempenham importantes papéis na resultante coalisão social cooperativa; de fato, a história está cheia de casos em que as pessoas doam a própria vida, ou a de seus filhos ou entes queridos, para ajudar na integridade ameaçada de alguns desses grandes grupos. Os santos da Igreja Católica, as mães nazistas encaminhando seus filhos para a guerra já perdida, pilotos japoneses fazendo ataques suicidas na defesa de seu país e as famílias muçulmanas fundamentalistas que cedem seus filhos para detonar bombas amarradas ao próprio corpo são exemplos, não únicos, da aderência das pessoas àqueles mitos ou símbolos. A cooperação resultante pode ser decisiva na subsistência das respectivas instituições.

2.3 As Verdades Reveladas

Desde cedo, ou pelo menos após a grande revolução da consciência humana no desenvolvimento das sociedades, acredita-se que o conceito de espíritos ou de entidades supervisoras, ou mesmo criadoras, estavam acima dos desígnios humanos e que elas teriam, muitas vezes, ascensão, ou poderes, sobre os agrupamentos ou sobre todos os homens. As evidências antropológicas e os estudos de sociedades primitivas permitem assegurar que, nos mais diversos grupos sociais, sempre havia algum, ou alguns, indivíduo(s) do grupo que detinha(m) privilégios de comunicação com aquelas entidades superiores ou, pelo menos, eram percebidos como

capazes de melhor interpretar os desejos ou ditames das diversas deidades, espíritos diversos, inclusive dos antepassados, que precisavam ser atendidos pelos membros do grupo social. Eles desempenhavam o papel de ligação, ou religação, com aqueles entes; daí o conceito inicial de religião², ou religação, de acordo com Harpur (2004) e Campbel (2014). O conhecimento comunicado pelos indivíduos privilegiados a todos os membros do grupo social é genericamente conhecido como **conhecimento, ou verdade, revelado**. As tábuas dos mandamentos são um exemplo de uma revelação feita pelo Deus dos cristãos a Moisés.

2.4 As Habilidades de Ofícios

Simultaneamente, ou mesmo nos períodos anteriores, ao longo da saga do desenvolvimento da espécie humana, à medida que as duas formas anteriores — (i) condicionamento de reflexos e (ii) verdades reveladas — continuavam seu curso, de forma diferenciada em cada grupo social, os indivíduos aprendiam, também, em ritmos e formas diferentes, a manusear ferramentas e processos que consideravam úteis a seus objetivos de sobrevivência e melhoria das qualidades de suas vidas. Esses conhecimentos úteis evoluíram sistematicamente nos agrupamentos gerando categorias conhecidas como as diversas **"habilidades de ofícios"**, ou profissões. Em períodos mais recentes da história, a proximidade dos indivíduos que se dedicavam a um mesmo ofício levou-os a criar organizações destinadas a garantir a qualidade dos serviços prestados e, às vezes, o monopólio do respectivo mercado. Isso levou, na Europa, ao surgimento de associações gremiais especiais chamadas **guildas**. A transmissão das respectivas habilidades entre indivíduos, em geral dos mais velhos para os mais novos e, geralmente, feito sob a supervisão das **"guildas"**, está na raiz dos processos educacionais do Ocidente, os quais englobaram ou coexistiram com as transmissões sistematizadas dos conhecimentos das verdades reveladas. Elas tiveram importantes papéis políticos e no desenvolvimento do sistema universitário do continente europeu. Por outro lado, elas ajudaram a provocar reações de importantes pensadores que estabeleceram os princípios fundamentais sobre os quais se assenta o ideal chamado de visão liberal, de enorme influência nas sociedades ocidentais. É bastante conhecida a afirmação de Adams Smith de que quando dois ou mais indivíduos de um mesmo ofício se juntam para discutir seu negócio é o público que, em geral, sai perdendo (SMITH, 1996).

2 "Modern scholars such as Tom Harpur and Joseph Campbell favor the derivation from ligare "bind, connect", probably from a prefixed re-ligare, i.e. re (again) + ligare or "to reconnect", St. Augustine, following the interpretation of Lactantius. Disponível em: Wikipedia. Acesso em: 01 out. 2016.

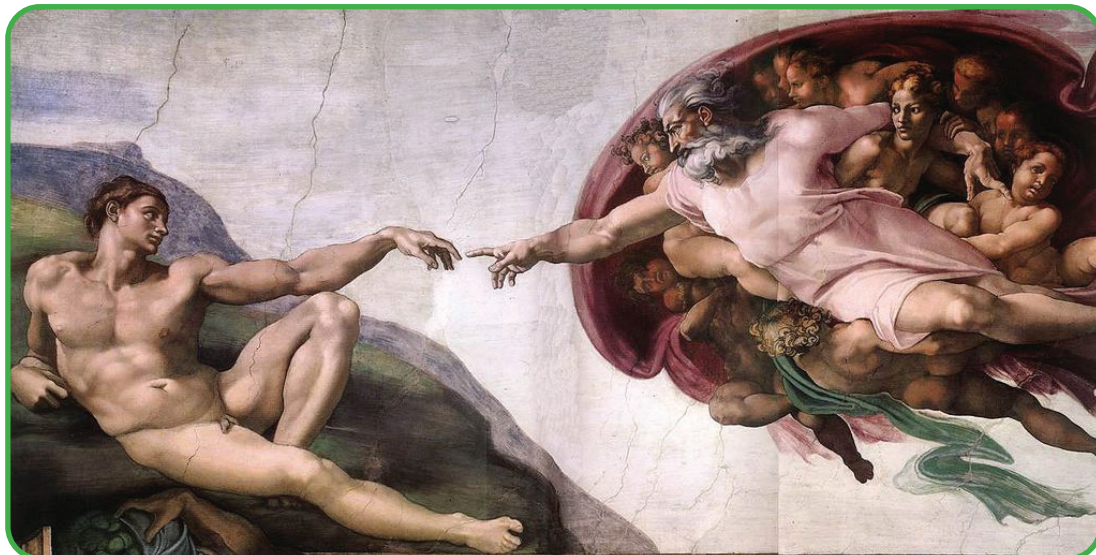
2.5 O Conhecimento Artístico

O **conhecimento artístico** é, também, uma forma extremamente importante de conhecimento existente desde os primórdios da humanidade. Pode-se dizer que o artista é alguém que consegue, de alguma forma — pela palavra (poeta e/ou escritor), pela dança, pela pintura, pela capacidade de representação em geral, pelo cinema, pela música, pela habilidade de pintar, fotografar, esculpir, desenhar, pela apresentação de fatos escolhidos (na parte artística do “marketing”) e muitas outras — sensibilizar o público objeto da sua comunicação. A comunicação artística toca nos nossos sentimentos mais profundos, ou íntimos, fazendo dela um importante elemento de expansão de crenças, mitos ou símbolos. Por nossas respostas às mais diferentes formas de comunicação artística, reagimos aceitando ou rejeitando proposições argumentativas de maneira complementar, ou alternativa, à aceitação de argumentos que consideramos lógicos (ou necessários e, até, suficientes) ou razoáveis. As artes ou expressões artísticas existem desde os mais remotos tempos da humanidade. Estudos paleontológicos mostram que as artes existiram muito antes do surgimento da escrita. Deve-se notar que algumas formas de comunicação artística estão, também, incorporadas às cargas genéticas de outras espécies animais: os cantos dos pássaros, a beleza da plumagem dos machos de algumas espécies animais e os ritos de danças e exibições dos de outras espécies na atração das fêmeas são indicações dessa incorporação genética. Os próprios bebês humanos mostram, muitas vezes, uma impressionante capacidade de acompanhar com seus corpos a cadência de ritmos de diversos tipos de sons. A comunicação artística deve ser vista, assim, como uma forma primária de comunicação que deve ter existido desde antes da revolução da consciência.

“*A Criação de Adão*”, impressionante obra artística da Capela Sistina de Roma, retratada na Figura 1, mostra uma importante característica dos conhecimentos ocidentais durante a Renascença, na Europa. Segundo aquela visão, Deus criou o homem à sua imagem e semelhança; ao mesmo tempo o sentido de religião da religião pode ser visto como fortemente sugerido no quadro de Michelangelo. Pode-se dizer que Deus está criando Adão mas, ao mesmo tempo, o braço estendido de Adão sugere uma forte ligação, ou religião da criatura com o criador. Na época, as verdades reveladas por meio de livros sagrados — a Bíblia para os cristãos; o Corão para os muçulmanos, o Torá para os judeus — eram as principais fontes do conhecimento na Europa. Coincidentemente, com o término daquela época, ou idade, alguns pensadores ocidentais, tais como Machiaveli, Francis Bacon, René Descartes e David Hume, entre outros, mostraram uma então perigosa disposição de utilizar o conceito cristão do livre arbítrio — chamado de razão humana — no entendimento das coisas do mundo, sem partir das, ou fundamentar-se nas, verdades reveladas. Essa liberdade foi, magistralmente, utilizada por dois “gigantes” do pensamento ocidental, Galileu Galilei e Isaac Newton, que ajudaram a assentar as bases para o que, atualmente, conhecemos como o

método das ciências, e contribuíram com o tremendo desenvolvimento do conhecimento humano formulado a partir do chamado Iluminismo.

Figura 1. A Criação de Adão por Michelangelo Buonarroti.



Fonte: Michelangelo, Domínio público, via Wikimedia Commons³

2.6 Algumas formas mais elaboradas de Conhecimento Humano

Além dos quatro tipos mencionados — (i) reflexos condicionados, (ii) habilidades de ofícios, (iii) verdades reveladas e (iv) conhecimentos artísticos — indicados na parte superior da Figura 2 —, existem os conhecimentos considerados mais avançados e desenvolvidos pela criatividade humana, mais ou menos incorporados no comportamento dos indivíduos ou grupos, e que são analisados como princípios diversos de razoabilidades tais como os éticos ou morais, os do Direito, da Psicanálise, da Filosofia, da Política e das Teologias, entre outros, os quais carregam a característica fundamental de explicitar escolhas, ou valores culturais, capazes de orientar a criação ou o reconhecimento das normas comportamentais humanas. São formas de conhecimento que se prestam a indicar **“como o mundo deve ser e/ou como as pessoas devem agir”**. Essa pretensão vai muito além do escopo da ciência a qual só pode pretender **“explicar o mundo como ele é”**. Como se verá a seguir, o método da ciência só se presta ao conhecimento de como são — sua descrição e suas relações causais — os fenômenos, situações ou estados atuais e eventos do mundo; ele, conseqüentemente, não serve, ou não pode pretender ser competente para escolher como os fenômenos devem ser. O conjunto dos conhecimentos, exemplificados na metade superior da Figura 2, como os estudos da Ética e Moral, da Filosofia — especialmente da

³ Disponível em: https://pt.wikipedia.org/wiki/A_Criação_de_Adão#/media/Ficheiro:-God2-Sistine_Chapel.png

Metafísica —, do Direito, da Psicanálise, dos “ismos” da opções políticas — Socialismo, Liberalismo, Anarquismo etc. —, das teologias, dos ocultismos e da Astrologia etc, refletem escolhas culturais mais ou menos influenciadas pelos quatro tipos mais primários de conhecimentos mencionados e elaborados pelo complexo sistema nervo-cerebral analítico dos humanos.

Embora utilizando o nome genérico de “científico”, alguns conhecimentos, mais ou menos sistematizados, que foram sendo desenvolvidos desde o Iluminismo, acabaram por convergir para um conceito hoje universalmente aceito de que a ciência se restringe aos conhecimentos gerados pelo, ou enquadráveis no, método conhecido como o “método das ciências”. É um subconjunto muito restrito do conhecimento humano que tem pretensões de ser objetivo, no sentido da descrição de fatos, estados atuais ou eventos, feitos por observadores não diretamente envolvidos neles. Como sugerido acima e, embora muitas questões filosóficas e lógicas não resolvidas sejam inerentes àquela pretensão — como a existência do fato ou evento de forma independente do observador ou à pressuposição de que é possível sua descrição sem considerar os valores e normas que afetam o observador — ela continua sendo perseguida pelos cientistas de todo o mundo e funciona como um “pano de fundo” para os que pretendem aplicar o “método das ciências”.

Algumas considerações precisam ser feitas quando se intenta classificar as formas de conhecimento utilizadas pelas pessoas. Nossa percepção das coisas ou fenômenos do mundo são, provavelmente, o resultado da interação de — ou das — diferentes formas de conhecimento mencionadas, acrescentadas de elaborações mentais complexas que incorporam elementos não necessariamente ligados à realidade efetivamente percebida. Entre as diferentes formas de comunicação humana, possivelmente o conhecimento artístico é o mais importante no conjunto que forma a experiência, ou acervo do conhecimento experimental, das pessoas. Isso porque, como foi dito, a comunicação artística é a que mais diretamente impressiona nossos sentidos. E, os sentimentos ou percepções íntimas, são os que as pessoas aceitam com mais facilidade, uma vez que não impõem barreiras conscientes, ou filtros, à sua aceitação. Acredita-se que as pessoas são dóceis às percepções — ou sentimentos — a elas comunicadas com o apelo da beleza, da solidariedade, da grandeza de sentimentos e de “toques na alma” expressos de inúmeras maneiras pela comunicação artística. Há quem sugira que o forte uso da comunicação artística nos ensinamentos religiosos estejam, consciente ou inconscientemente, se utilizando dessa propriedade para a disseminação de suas normas e valores.

Nas sociedades mais primitivas, acredita-se que as quatro primeiras formas de conhecimento — (i) reflexos condicionados; (ii) conhecimento artístico; (iii) habilidades de ofício; e (iv) verdades reveladas — desempenham o principal papel na síntese dos valores éticos e morais dos respectivos agrupamentos. Nas mais complexas — nas quais a diferenciação do trabalho

atinge limites alcançados com altas especializações dos seus indivíduos, e que correspondem à existência de níveis elevados dos respectivos estoques de conhecimento e de uma sistematização sofisticada de categorias destes conhecimentos, alguns estão mais desenvolvidos ou elaborados e os indivíduos que os detêm sempre foram reconhecidos como altamente prestigiosos nos seus grupos sociais, tais como os padres, pastores, rabinos, imãs, advogados, médicos, psicanalistas, filósofos e artistas, por exemplo. Tais prestígios derivam de conhecimentos que refletem as normas comportamentais ou utilidades de qualidade de vida — deveres, obrigações, habilidades, sensibilidades e direitos — das pessoas que compõem os grupos sociais. O outro tipo de conhecimento, que também tem associado prestígio àqueles que o detêm, é o chamado “conhecimento científico”. Alguns desses profissionais conseguiram compatibilizar seus conhecimentos do tipo habilidades de ofício com os derivados do método científico, gerando profissões altamente reconhecidas por toda a sociedade. É o caso, por exemplo, dos profissionais da saúde, dos engenheiros e de alguns filósofos que acompanham o desenvolvimento das ciências, como os Epistemologistas.

2.7. O Método da Ciência

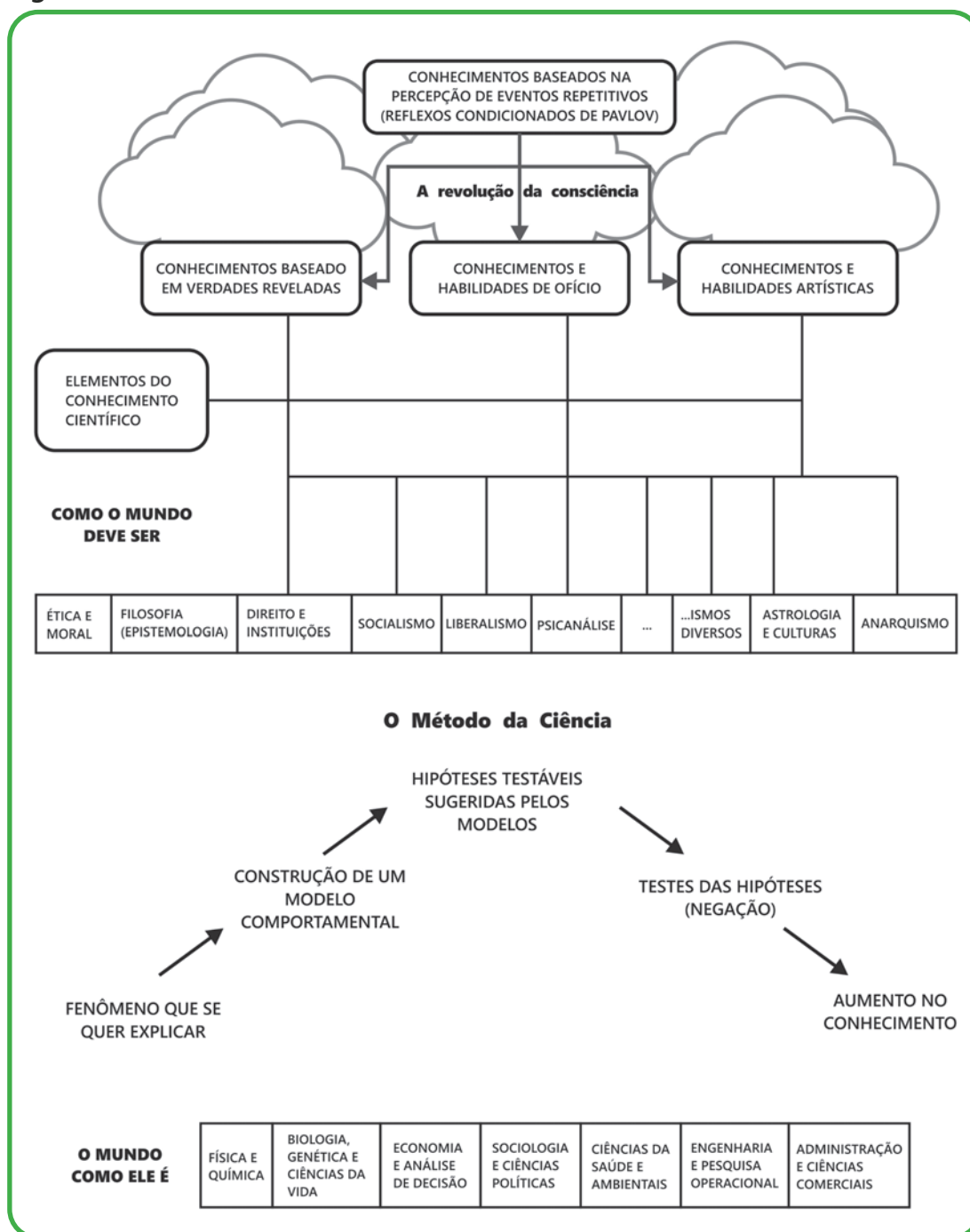
O conhecimento que a literatura vem chamando de “**conhecimento científico**” pode ser precisamente identificado, ou assim classificado, por satisfazer um conjunto de critérios específicos. O subgrupo restrito de conhecimento que pode ser classificado como conhecimento científico — e aqui estamos tratando, fundamentalmente, do enfoque positivista, mais especificamente o positivismo lógico, conforme Popper (1993), que pressupõe a capacidade humana de descrever fenômenos, ou fatos, de maneira objetiva, ou como observadores não envolvidos ou, ainda, conforme Kelsen (2009) “como observadores de fora” — que satisfaz as, ou pode ser apresentado como resultado das, seguintes fases mostradas a partir da metade inferior da Figura 2: (i) uma identificação precisa do fato, situação ou fenômeno, que se explica ou que se quer explicar; (ii) o uso de uma teoria já explicitada, a ampliação, ou mesmo, o desenvolvimento de uma teoria alternativa, de maneira que seja explicado, nas suas relações de causa e efeito, o fato, situação ou fenômeno de forma lógica ou consistente com o comportamento de outros entes, situações ou fenômenos do mundo físico; (iii) a derivação lógica, a partir da teoria, de hipótese(s) que precisa(m) ser observada(s) como critério de possível negação da teoria proposta; (iv) o teste estatístico da hipótese escolhida que resultou da derivação anterior; e (v) o aumento, ou diminuição, da intensidade da crença na teoria que a não negação, ou a negação, da hipótese deve ocasionar.

Uma teoria, para ser considerada científica, precisa permitir a produção de hipóteses testáveis, para que possa ser verificada ou, mais precisamente, não negada, já que a Estatística só pode estimar as probabilidades de um

conjunto de dados ser diferente de outros dados, cujas variações consideramos resultado do acaso, ou puramente aleatórias. Uma outra exigência que ela precisa apresentar é a de completa aderência a encadeamentos lógicos de causas e efeitos. É necessário deixar claro que, embora existam muitos tipos de lógica, a teoria proposta, ou utilizada, precisa seguir, rigorosamente, os requisitos daquela lógica. A lógica aristotélica, derivada do pensamento silogista, inicialmente atribuído à correspondente escola do pensamento grego e consistente com sua formalização a partir da matemática, tem sido o instrumento mais utilizado nas análises da consistência dos correspondentes modelos de representação dos fatos ou fenômenos do mundo físico. Por isso, diz-se que *a matemática é a linguagem da ciência*. Uma enorme contribuição aos diversos ramos da ciência tem sido dada pelos matemáticos que têm, constantemente, aperfeiçoado esse tipo de instrumento do conhecimento, permitindo a melhor compreensão e explicitação de complexos mecanismos da natureza, os quais estão indo muito além do que a intuição humana consegue entender.

Mesmo sem conseguir prever, ou perceber, intuitivamente, certos fenômenos, ou estados da natureza, a matemática permite ao cientista generalizar fenômenos de maneiras que a nossa intuição dificilmente consegue vislumbrar. Dessa forma, faz sentido a afirmação de Bertrand Russel, segundo a qual 'o escopo ou objeto de todos os ramos da ciência é sua transformação na Física'. Quando se observam as mais avançadas publicações das ciências, pode-se evidenciar o acerto da indicação daquele grande pensador, feita nas primeiras décadas do século XX; de fato e por exemplo, um olhar nos periódicos *Managenment Sciense*, no *Journal of Mathematical Psychology* ou na *Econométrica* nos faz pensar, antes de tudo, que estamos diante de publicações da área de Física. Os procedimentos dos respectivos pesquisadores utilizam passos metodológicos muito semelhantes aos utilizados pelos cientistas da área de Física.

Figura 2. Conhecimento humano



Fonte: adaptado de Peres (2013).

A Figura 2 mostra, também, esquematicamente, as cinco fases do método científico. Muita contribuição importante à ciência é dada por pessoas que esclarecem somente parte, ou partes, das mencionadas fases; na Física, por exemplo, existem inúmeros pesquisadores que deram contribuições importantíssimas ao desenvolverem modelos — ou teorias — que só posteriormente foram testadas e que ajudam na montagem do enorme edifício

do conhecimento científico atual. Por outro lado, igualmente importantes foram os trabalhos dos pesquisadores que testaram hipóteses derivadas das teorias propostas e puderam, assim, aumentar ou reduzir a confiança das pessoas naquelas teorias. As teorias são aceitas ou, mais precisamente, são não negadas, até que, ou enquanto, a engenhosidade humana consiga confrontar hipóteses delas logicamente derivadas com dados do mundo físico (e os expressos como reações mentais) e elas continuam passando, ou falhando na sua verificação empírica, nos testes estatísticos. Quando não passam mais nos testes, elas devem ser ampliadas ou substituídas por teorias mais poderosas ou abrangentes e capazes de explicar os novos dados assim coletados.

Um exemplo, amplamente discutido na literatura, ilustra a necessidade de ampliação ou substituição de teorias que, apesar de resistirem por muito tempo aos testes das hipóteses delas derivadas, é dado pelos princípios — teoria — de Isaac Newton que tratam de fenômenos explicados pela chamada força da gravidade. Nos mais de três séculos decorridos desde a publicação do seminal livro daquele autor, praticamente todos os testes estatísticos que utilizavam os princípios Newtonianos aceitavam — ou, mais precisamente, não negavam a sua validade. Somente com a sofisticação mais recente do instrumental físico-químico disponível para pesquisadores, foi possível determinar que, embora as leis de Newton funcionem muito bem quando trabalhamos com fenômenos observáveis com as mensurações de valores típicos das escalas humanas, — do milímetro até os milhões de quilômetros, do miligrama até as milhões de toneladas e de milissegundos até milhares de anos, por exemplo — elas não funcionam quando consideramos as dimensões sub-atômicas ou as estelares. As teorias necessárias para explicar alguns fatos observáveis no mundo físico, especialmente os dos mundos sub-atômico e estelar, tiveram que ser reformuladas como feito por gênios mais modernos do pensamento científico, tais como Albert Einstein, Max Planck, Werner Heisenberg, Stephen Hawking e Ilya Prigogine, entre outros.

A outra forma de negação de uma teoria é conseguida quando é possível mostrar sua inconsistência lógica interna; em outras palavras, o método da ciência não aceita o sofisma! A matemática tem sido um importante instrumento no apontamento desse tipo de inconsistência que, às vezes, o limite de nossa intuição nos impede de perceber. Novamente, as exigências da Física, de equacionamento, ou da expressão lógica-algébrica, das suas teorias, mostra o caminho que os diversos ramos das ciências devem procurar seguir no escopo ou procura por seu aprimoramento. Além da Economia, outros ramos das ciências sociais têm utilizado os encadeamentos lógico-matemáticos que suas teorias sugerem existir, de forma surpreendente para os leitores não avisados. Por outro lado, a importante corrente de pensamento alemã, que é fundada na visão histórica dos agrupamentos humanos — o do historicismo alemão — demonstrou, rigorosamente, por Sir Karl Popper, não satisfazer os encadeamentos lógicos exigidos de teorias científicas (POPPER,

1993). Dessa forma, a unificação metodológica do pensamento científico vai sendo conseguida por meio da incorporação gradativa das diversas áreas das ciências sociais.

3 AVANÇOS DO CONHECIMENTO CIENTÍFICO DESDE O ILUMINISMO

Na visão dos autores, o eixo fundamental do desenvolvimento do conhecimento científico está associado à competitividade — *countervailing power*, ou poder da contraposição — na luta pela prevalência do mais forte. Desde Machiavelli, e claramente explicitado e compreendido por David Hume, Rosseau e Montesquieu, entre outros no Iluminismo, os indivíduos passaram a ser vistos como seres desejantes, ou que procuravam, acima de tudo, satisfazer seus interesses e os de seus entes queridos. Essa visão contrastava com a visão religiosa predominante na idade média, segundo a qual as pessoas existiam para exaltar a Deus, cumprir seus desígnios e aprimorar as virtudes de cavalheirismo e alinhamento aos destinos superiores da Igreja e da aristocracia. A verdade revelada deixou de ser a única fonte do conhecimento humano, cedendo lugar à razão, que conforme em Machiavelli (198?), permitida pelo fato de Deus ter dado ao homem o livre arbítrio.

Como brilhantemente mostrado por Hirschman (2000), a aceitação generalizada de que o interesse individual move as pessoas permitiu o entendimento do papel fundamental que o comércio tinha, ou podia ter, na redução das relações tirânicas entre os povos e no correspondente ganho de bem-estar para as populações. A compreensão do efeito econômico das vantagens comparativas e do comércio permitiram a Adams Smith publicar seu seminal *The Welth of the Nations* (A Riqueza das Nações), marco fundamental da construção de teorias sociais científicas. Um outro gigante do pensamento humano expandiu para todos os seres vivos as características do poder de contraposição. Cerca de meio século após a publicação do trabalho de Adams Smith, Charles Darwin publicou seu “Sobre a Origem das Espécies”, que generalizou para todos os seres vivos o que A. Smith mostrou ser válido para a humanidade. Ao mesmo tempo, a Física continuava a expandir o conhecimento sobre o funcionamento do mundo físico em geral, basicamente assentado nos trabalhos de dois grandes pensadores da área, Galileu Galilei e Isaac Newton. Um outro grande passo no aprimoramento do método da ciência foi dado pelo avanço da Estatística Experimental e da Estatística em geral, que permitiu o teste das hipóteses, tanto nas áreas das ciências físicas quanto nas da ciências sociais. Dessa forma, passando por Pasteur, Mendel, Einstein e outros “gigantes” do pensamento científico, esse tipo de conhecimento foi se aperfeiçoando até atingirmos algumas das fronteiras atuais que vão muito além do que nossa intuição sugere.

A humanidade aprendeu, por processos culturais que, ao longo dos milênios pode, ou não, ter sido incorporados à sua carga genética, que a cooperação pode vantajosamente substituir a competição em inúmeras

relações entre os indivíduos. Na produção científica, em particular, e na produção do conhecimento humano, em geral, a cooperação tem desempenhado papel de destaque. Em inúmeras outras áreas — militares e econômicas, por exemplo — algumas atitudes cooperativas têm, também, substituído os impulsos genéticos de competição que caracterizam a espécie humana.

4 IMPLICAÇÕES

Todos os conhecimentos listados na base da primeira metade da Figura 2 são do tipo prescritivo ou normativo. Todos se destinam a aperfeiçoar prescritivamente a ação humana nas suas relações entre as pessoas, as instituições e as demais coisas do mundo. São, portanto ideológicos! Não são científicos. Como visto, o conhecimento científico não se presta, como corolário do método utilizado na sua obtenção, a indicar formas prescritivas ou normativas de comportamento humano. Como no problema típico de algumas ciências, de achar o máximo de alguma função definida sujeita a restrições claramente explicitadas, o conhecimento científico pode ser utilizado como restrição ao atingimento de determinados pontos extremos — máximo ou mínimo — que podem ser do tipo prescritivo ou normativo. O papel de explicitar as restrições, preferencialmente quantificando-as, é a principal contribuição que a ciência pode dar à humanidade nas escolhas que as pessoas e os grupos sociais precisam fazer.

É devido à limitação intrínseca aos conhecimentos derivados do método científico que Hayek nos ensina que os detentores eleitos de cargos públicos devem fazer as escolhas políticas dos objetivos a serem alcançados, mas devem deixar aos cientistas a forma ou os caminhos a serem seguidos para seu atingimento. De fato, em democracias mais maduras, são corriqueiras as audiências públicas, nos congressos e em áreas dos poderes executivos, para as quais cientistas reconhecidos são convidados para indicar os prós e contras da implementação de caminhos alternativos para que sejam alcançados os objetivos específicos das diferentes políticas propostas.

REFERÊNCIAS

CAMPBELL, J. **O poder do mito**. 30. ed. São Paulo: Palas Athena, 2014. 250 p.

FERRY, L. **Aprender a viver**: filosofia para os novos tempos. Tradução de Vera Lúcia dos Reis. Rio de Janeiro: Objetiva, 2017. 302 p.

HARARI, N. Y. **Sapiens**: uma breve história da humanidade. 25. ed. Tradução de Janaína Marcoantonio. Porto Alegre: L&PM, 2017. 459 p.

HARPUR, T. **The pagan Christ**: recovering the Lost Light. Toronto: Thomas Allen, 2004. 244 p.

HIRSCHMAN, A. O. **As paixões e os interesses**: argumentos políticos para o

capitalismo antes de seu triunfo. Tradução de Lúcia Campelo. São Paulo: Paz e Terra S/A, 2000. 127 p.

KELSEN, K. **A teoria pura do direito**: introdução à problemática científica do direito. 6. ed. rev. Tradução de J. Cretella Jr e Agnes Cretella. São Paulo: Revista dos Tribunais, 2009. 205 p.

MACHIAVELLI, N. **O Príncipe**. São Paulo: Círculo do livro, 198?. 169 p.

PERES, F. C. O estudo do direito e o método das ciências. **Revista da Faculdade de Direito da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 108, p. 399-411, 2013.

POPPER, K. R. **A miséria do historicismo**. 3. ed. Tradução de Octanny S. da Mota e Leonidas Hegenberg. São Paulo: Cultrix, 1993. 125 p.

RUSSEL, B. **Human knowledge**: it's scope and limits. Forge Village: Murray Printing, 1948. 527 p.

RUSSEL, B. **The problems of philosophy**. Mineola: Dover Publications, 1999. 121 p.

SMITH, A. **A riqueza das nações**: uma investigação sobre sua natureza e suas causas. São Paulo: Nova Cultural, 1996. (Coleção Os Economistas, v. 2).



CAPÍTULO 26

CONSUMIDOR AGROALIMENTAR 4.0

Etiénne Groot

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e
Tecnológicas, Dracena, São Paulo, Brasil.

Resumo

O Brasil é um dos principais *players* do sistema agroalimentar mundial. A globalização e a incorporação de tecnologias têm mudado todo o sistema agroalimentar. A produção vem buscando se aperfeiçoar para atender uma exigência cada vez maior quanto aos atributos de qualidade dos alimentos, principalmente no que toca aos atributos de crença. Nesse sentido, o mercado pode estar desenvolvendo uma maior demanda por alimentos certificados, como o de produção orgânicas, comércio justo e bem-estar animal. Além de quererem produtos melhores, os consumidores estão mais informados e empoderados. Em parte, as novas tecnologias tiraram as empresas do pedestal e as colocaram para caminhar no mesmo patamar que os seus clientes. Simultaneamente, a tecnologia vem possibilitando obter, analisar e agir com base em uma infinidade de informações de seus clientes. A integração das informações abre a oportunidade não de segmentar mercados, mas sim de individualizar a demanda. Chegar a esse nível e criar um canal de diálogo com o consumidor agroalimentar 4.0 são ações essenciais para a sobrevivência dos negócios neste novo mundo. O foco do *marketing* das marcas (*branding*) já não se restringe mais a apenas a melhoria da satisfação do consumidor. Hoje, o interesse é na conversão do cliente em um advogado da marca, que a defenderá contra os ataques e/ou críticas nos âmbitos *online* e *offline*.

1 INTRODUÇÃO

A globalização e a incorporação de tecnologia têm alterado profundamente o mercado agroalimentar. O processo de globalização tem integrado os mercados e modificado a oferta de produtos alimentícios. No entanto, a complexidade do consumo agroalimentar não se restringe apenas ao processo de globalização, mas também à popularização de tecnologias. As mudanças tecnológicas, como a popularização dos *smartphones*, banda larga e acesso aos 4G são protagonistas nesse contexto. As mudanças afetam todos os sistemas agroalimentares, desde os produtores de insumos até os consumidores finais.

Nas propriedades rurais, a agricultura 4.0, que se baseia na automação, no uso da conectividade entre dispositivos e no uso de Big Data, vem aumentando a produtividade, a eficiência no uso de insumos, a segurança no trabalho e, essencialmente, melhorando a qualidade dos produtos vegetais e animais (MASSRUHÁ; LEITE, 2017). A qualidade dos alimentos pode se dar pela redução de uso de agrotóxicos, graças ao monitoramento eletrônico das culturas e tecnologia de aplicação; ou ainda, pelo uso racional das técnicas de irrigação, que viabilizam a produção de uvas mais doces e saudáveis. Até hoje, um dos fatores que tem limitado a expansão da agricultura 4.0 é a conectividade. Apesar da expansão, o Censo Agropecuário (INSTITUTO NACIONAL DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2017) aponta que 71,9% das propriedades rurais no Brasil não tem acesso à internet.

Do mesmo modo que na agricultura, a indústria 4.0 vem ganhando relevância no processamento de alimentos e bebidas. Os benefícios da indústria 4.0 são a redução de custos de equipamentos (10 a 40%), de energia (10 a 20%) e o aumento da eficiência do trabalho de 10 a 15%. Nesta nova revolução são incorporados conceitos e movimentos, como a internet das coisas (IoT), inteligência artificial e a personalização de produtos. De acordo com o professor Antônio Cabral, do Instituto Mauá de Tecnologia, para atender as distintas preferências do mercado consumidor (e não se esquecendo que os consumidores da geração Z estão ganhando vulto no mercado alimentar), a indústria 4.0 está se alinhando para “preparar misto quente com o mesmo grau de automação de produtos Big Mac” (PIVARO, 2017, p. 8), ou seja, se prontificando a elaborar produtos personalizados em larga escala.

A distribuição e varejo de alimentos e bebidas é um setor dinâmico e, por isso, não ficou de fora da revolução 4.0. Normalmente, as inovações no varejo são incrementais e, de tempos em tempos, ocorrem as mudanças disruptivas. Em meados da década de 1990 surgiu o varejo 3.0, com o comércio eletrônico. As primeiras tentativas de e-mercearia no setor de alimentos foram frustradas, devido aos altos custos da logística. Foi necessário aproximadamente uma década para surgirem os primeiros casos de e-mercearias sustentáveis do ponto de vista econômico, como: a Tesco, Amazon Fresh, Peapod e Ocado

(SALSBERG; DESAI; POTIA, 2021).

O varejo 4.0 emprega a conectividade para conhecer melhor os seus consumidores para personificar as suas promoções. O Big Data tem sido empregado para melhorar o conhecimento sobre o cliente. A comunicação entre o varejo e o cliente também mudou, por se tornar bidirecional. No Japão, a Seiyu, que é proprietária da Walmart, lançou uma campanha no Twitter na qual os clientes votavam indicando os itens que consideravam que deveria baixar o preço. Como resultado, 100 itens tiveram os seus preços reduzidos por quatro semanas.

Como exposto na introdução, o tema 4.0 é muito abrangente. Dessa forma, o presente capítulo focou em entender o contexto que se apresenta ao consumidor agroalimentar 4.0, especialmente no que tange ao consumo de alimentos. A próxima seção se inicia definindo o que seria esse tipo de consumidor, logo, são apresentadas as dimensões requeridas pelos consumidores de alimentos na atualidade e discute-se as variações nas relações humanas decorrentes às mudanças nas tecnologias de comunicação. A seção finaliza com as considerações finais.

2 O CONSUMIDOR AGROALIMENTAR 4.0

O consumidor agroalimentar são todos aqueles que participam dos sistemas agroalimentares, ou seja, engloba os produtores rurais, indústria de transformação e processamento de alimentos, distribuição (o que inclui o varejo) e consumidores finais.

Para compreender o consumidor 4.0, é preciso retroceder no tempo. O consumidor 1.0 surgiu nas primeiras revoluções industriais, períodos quando o que importava era produzir e oferecer os bens e serviços básicos ou genéricos a um preço acessível para atingir as massas. O propósito das organizações era uniformizar os produtos e aprimorar os seus meios produtivos. Os consumidores eram pouco informados e o estilo de vida era mais simples que o contemporâneo, tal como as suas demandas. A célebre frase de Henry Ford: “qualquer cliente pode ter o carro da cor que quiser, desde que seja preto”, ilustra bem aquela época. Quem se adaptava era o consumidor e não a empresa. Os consumidores pouco entendiam e não se importavam com o valor agregado dos produtos. Os consumidores buscavam especificações técnicas e argumentos racionais que justificassem as suas compras.

Na sequência surge o consumidor 2.0 e a situação se inverte. As empresas começam a dar atenção ao consumidor e deixam o produto em um segundo plano. Cronologicamente, esse período coincide com a abertura comercial devido à globalização, o que acirra a competição entre as empresas e o consumidor passa a ter acesso à informação massificada. O mercado começa a oferecer mais opções de escolhas e os consumidores acabam se tornando mais exigentes. Esclarecidos, os consumidores comparavam as alternativas

semelhantes e escolhiam os produtos que mais lhes proporcionassem utilidade. A elaboração de produtos básicos ou genéricos passa a não ter fundamento. As empresas começam a adotar estratégias de segmentação de mercado para atender melhor às diferentes necessidades e preferências de seus clientes. Os produtos são diferenciados quanto à sua funcionalidade e apelo emocional. O posicionamento das marcas e dos produtos começou a cobrar maior relevância, tornando necessário demonstrar ao consumidor porque um determinado produto é melhor que o produto dos concorrentes. Um efeito dessas mudanças foi uma certa aproximação das companhias aos consumidores.

Com o passar do tempo, surge um novo consumidor, muito mais exigente que o 2.0: o consumidor 3.0. As empresas começam a considerá-lo um humano pleno: em mente, coração e espírito. A segmentação de mercado passa a ser uma estratégia obrigatória para as empresas permanecerem ativas. Surge o sentimento de inclusão ou de pertencimento, tornando as pessoas mais abertas às ações de posicionamento, às quais as marcas acabam assumindo posicionamentos mais fortes, alinhados às opiniões dos consumidores. A relação com a marca é mais íntima, e o consumidor acaba se sentindo mais compreendido com o posicionamento da empresa. Portanto, o consumidor 3.0 busca empatia e compreensão por parte das empresas, almeja a sensação de pertencer a um grupo especial. Não é mais um mero comprador e sim alguém que deseja fazer parte de todo o processo.

A tecnologia é a responsável pela evolução dos consumidores. Aliás, esse é um fator preponderante para o surgimento de um novo consumidor, o consumidor 4.0. Além de exigir personalidade e compatibilidade de valores, o consumidor 4.0 demanda comunicação e relação mais digitalizados (internet), de acordo com os seus hábitos. O acesso irrestrito às informações invoca o sentimento de poder no processo de decisão de compra. Antes de realizar a compra do produto, o consumidor realiza uma ampla pesquisa sobre os produtos (incluindo as marcas) e serviços disponíveis. O retorno é extenso e pode ser proporcionado por outros consumidores, que compartilham as suas experiências. Assim, as marcas devem estar preparadas para lidar com as avaliações dos consumidores. A experiência completa acaba atraindo ou afastando definitivamente o consumidor. O nível de exigência é tal que, o produto ou serviço deixa de ser o foco exclusivo na relação comercial. Existe um envolvimento mais amplo e profundo do consumidor com o processo de elaboração e comercialização do produto.

2.1 Dimensões requeridas pelos consumidores de alimentos 4.0

A primeira condição que o mercado consumidor impõe a qualquer produto alimentício é que tenha qualidade. A percepção de qualidade pelos consumidores é multidimensional. Basicamente, os consumidores criam uma expectativa sobre a qualidade dos alimentos através de seus atributos

intrínsecos (relacionados às características físicas do alimento) e extrínsecos (que são todos os demais atributos). O preço, a marca do produto e processo produtivo adotado são bons exemplos de atributos extrínsecos. A importância dos atributos extrínsecos vem aumentando, especialmente para os consumidores 4.0. Na sequência, são descritas as cinco dimensões da qualidade dos alimentos.

a) Dimensão hedônica

O gosto do alimento é um dos principais - senão o principal - critério para a escolha de alimentos. A filosofia do hedonismo sugere que o comportamento humano se orienta na busca do prazer. A qualidade hedônica do alimento não é determinada apenas pelo seu sabor. Os aspectos hedônicos dos alimentos incluem a aparência, o cheiro e o gosto.

O gosto do alimento é um atributo de experiência, ou seja, não pode ser avaliado até que seja consumido. No local de compra, os consumidores formam as suas expectativas quanto à qualidade organoléptica dos alimentos através de suas experiências prévias e por algumas pistas, como: o aspecto do produto, a embalagem e a marca (BRUNSE; FJORD; GRUNERT, 2002). Os alimentos que visam atender a dimensão hedônica são conhecidos como produtos *gourmet* e *premium*. De acordo com Pimentel *et al.* (2017), nessa categoria de produtos estão incluídos os molhos e sobremesas *gourmet*, chocolate e cafés *premium*, castanhas (*Brazilian nuts*), doces, pães de queijo congelados, licores, queijos típicos brasileiros etc.

b) Saudabilidade e bem-estar

A saúde é um conceito amplo. O consumo de alimento depende da percepção do consumidor a respeito do seu impacto potencial sobre a saúde. A dieta saudável está relacionada aos aspectos nutritivos e funcionais dos alimentos. Os alimentos não saudáveis, os quais as pessoas evitam, são aqueles que proporcionam algum risco alimentar. Há diversos debates públicos sobre os riscos alimentares que envolvem questões sanitárias (encefalopatia espongiforme bovina, tuberculose, brucelose, febre tifoide, salmonela etc.), resíduos de pesticidas e organismos geneticamente modificados.

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) coordena o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). No biênio 2017/2018, os resultados do programa mostraram que 49% das 4.616 amostras obtidas em 77 municípios não tinham resíduos de defensivos; 28% de todas as amostras o nível de resíduos estava no limite; porém 23% das amostras estavam inconformes com a legislação e 0,89% das amostras detectou-se resíduos que representavam risco agudo à saúde. Não se detectou amostra que pudesse representar risco crônico (ANVISA, 2019).

Para evitar o consumo de alimentos com agrotóxicos ou com hormônios, os consumidores vêm demandando produtos orgânicos. No Brasil é possível encontrar diversos produtos orgânicos, entre eles o açúcar, soja, cacau,

gengibre, guaraná, manga, morango, pêssego, tomate, uva, leite e carne bovina. O alimento orgânico é um produto com maior valor agregado em determinados segmentos de mercado. Trevisan e Casemiro (2009) estimaram que 22% dos consumidores de Vitória da Conquista (BA) estão dispostos a pagar um prêmio superior a 20% do preço do produto não orgânico. O preço diferenciado tem estimulado o aumento da oferta de produtos orgânicos. Os dados do Censo Agropecuário de 2017 mostram que existem 68.716 estabelecimentos que exercem a agricultura orgânica no Brasil (IBGE, 2017).

c) Conveniência e praticidade

A urbanização e a saída da mulher ao mercado de trabalho mudaram o ritmo de vida das pessoas. A falta de tempo para preparar e adquirir as refeições gerou demanda por alimentos com maior vida de prateleira, de preparação fácil e rápida, além dos serviços de *delivery* e alimentação fora do lar. Além do tempo, o esforço (físico e mental) dedicado à preparação do alimento acaba influenciando a escolha por alimentos com maior nível de conveniência (BRUNSDØ; FJORD; GRUNERT, 2002).

A partir da Pesquisa de Orçamento Familiar 2008-2009, Bezerra *et al.* (2017) verificaram que 41% da população brasileira adquire alimentos fora do lar, sendo que os homens com 34,7 anos de idade são os que mais se alimentam fora de casa. Os locais que mais frequentam são as lanchonetes e restaurantes. Nas lanchonetes, os salgadinhos, refrigerantes e *fast food* são os tipos de comida mais pedidos, enquanto nos restaurantes há maior consumo de bebidas alcoólicas. Embora populares, esse cardápio está longe de ser o mais saudável.

Para atender a conveniência e praticidade dos alimentos, a indústria agroalimentar tem inovado constantemente. Novas matérias primas e processos de produção geram uma infinidade de novos produtos. No setor de alimentos frescos, as frutas e hortaliças minimamente processadas estão ganhando destaque. Os alimentos minimamente processados mantêm a qualidade dos produtos frescos e garantem a sanidade, pela limpeza envolvida nos processos e pelo uso de embalagens (NASCIMENTO *et al.*, 2014).

d) Confiabilidade e qualidade

A fraude alimentar envolve a produção e venda de produtos desconformes com as normas de qualidade do produto. O objetivo das fraudes é aumentar o ganho econômico. No entanto, pode afetar a saúde pública. Existem muitos casos de fraudes de alimentos. A mais recente e famosa foi batizada de Operação Carne Fraca. A operação foi levada à cabo pela Polícia Federal do Brasil, em 2017, e envolveu as principais empresas do setor cárneo. As acusações eram de comercialização de carne estragada, alterar a data de validade, e maquiagem o aspecto da carne com produtos químicos proibidos. O escândalo envolveu funcionários do Sistema Federal de Inspeção (SIF) e foi um duro golpe ao Ministério da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento (MAPA) e à confiança da população a respeito SIF (CORREIA, 2018).

A procedência de um produto alimentar pode ser comprovada através de sistemas de rastreabilidade. No Brasil, o Sistema Brasileiro de Rastreabilidade da Cadeia Produtiva de Bovinos e Búfalos (SISBOV) vem ganhando mercado. Não obstante, é na Europa onde os sistemas de rastreabilidade estão mais difundidos. Naquele continente, as Denominações de Origem e Indicações Geográficas são sistemas mais tradicionais que envolvem rastreabilidade. Em 2017, os 28 estados membros da União Europeia possuíam 3.207 denominações de produtos protegidos, movimentando 74,76 bilhões de euros. O preço de venda de produtos com denominação de origem é quase o dobro de um sem a distinção (JUNTA DE CASTILLA DE LEÓN, 2020). A vinculação da produção agrícola ao território vem ganhando força em vários países, inclusive o Brasil. Até maio de 2019, o Brasil tinha 62 indicações geográficas e englobava produtos como vinho, água ardente, café, cacau, queijo, entre outros (IBGE, 2019).

e) Sustentabilidade e ética

Historicamente, o homem é um predador natural que usa e destrói o meio ambiente. A justificativa é a melhoria das condições de vida através do desenvolvimento econômico. A atividade agrícola tem sido responsável por diversos tipos de impactos ambientais, como: alterações biológicas (pelo uso de agrotóxicos), perda de solo (erosão) e a degradação dos recursos hídricos (pela erosão, contaminação de lençóis freáticos e demanda excessiva de água); impactos sociais: trabalho infantil, escravidão, exclusão da mulher, má remuneração dos trabalhadores, péssimas condições de trabalho, entre muitos outros; e desvios éticos, como o desrespeito ao bem-estar animal. Na atualidade, o modelo econômico de obtenção de lucro a qualquer custo, seja ele ambiental ou social, está sendo questionado, especialmente, pelo consumidor 4.0.

O processo produtivo que originou o produto alimentício é um atributo de crença, ou seja, não pode ser comprovado antes e nem depois do consumo (BRUNSON; FJORD; GRUNERT, 2002). Os atributos de crença devem ser comunicados aos consumidores através de selos de qualidade. Assim, para transmitir informação aos consumidores que o alimento foi produzido sem agrotóxicos, sem insumos químicos e sem uso de organismos geneticamente modificados, respeitando ainda os aspectos socioeconômicos e culturais da comunidade local, o alimento recebe um selo de qualidade como, por exemplo, "Produto Orgânico do Brasil" (MANUAL..., [2021]). No Brasil, a certificação quanto ao bem-estar de cabras, aves de corte e poedeiras, bem como de bovinos de corte e leiteiro pode ser obtida pelo *Certified Humane Brasil* (CERTIFIED HUMANE BRASIL, 2021).

Os produtores rurais ainda podem certificar os seus produtos quanto ao Comércio Justo, desde que a relação comercial siga alguns princípios, como

a transparência e a corresponsabilidade da gestão da cadeia agroalimentar. Os produtores devem estar democraticamente organizados e a legislação deve ser respeitada. Não pode haver crianças no ambiente de trabalho e os preços das transações devem ser justas tanto para o comprador como para o vendedor (RINCÓN *et al.*, 2005). A exigência da sustentabilidade e da ética na elaboração dos alimentos é o que mais diferencia os consumidores 3.0 e 4.0 dos demais.

2.2 Relação e comunicação digitalizada

As mudanças da personalidade e dos valores dos consumidores precedem as transformações nas relações sociais e a comunicação (digitalizada) entre as pessoas. As novas formas com que as pessoas se relacionam são as principais características que diferenciam o consumidor 3.0 do consumidor 4.0. Esta seção visa expor a evolução das relações sociais dos consumidores e como elas afetam as políticas mercadológicas das empresas. Ao mesmo tempo que os consumidores passam por um processo de empoderamento proporcionados pelas novas mídias, as empresas ganharam ferramentas mais modernas para conhecer as preferências dos consumidores, o que lhes atribui uma vantagem estratégica. Algo nesse sentido será exposto nesta seção.

a) As redes e comunidades de consumidores

Antes da cultura digital, as mídias de massas, representadas pela TV, cinema e jornais impressos, elaboravam conteúdos homogêneos e repetitivos. O público recebia a informação sem oportunidade de responder ao estímulo. O único *feedback* era através da pesquisa de audiência ou de mercado.

Com o surgimento dos computadores, a conectividade revolucionou a comunicação. O processo passou a ser interativo, descentralizado, porém, as informações passaram a ser disponibilizadas de forma caótica e multidirecional. Desde o início, a informalidade e a capacidade autorreguladora da informação prevalecem nas redes virtuais.

Existem diversos tipos de comunidades virtuais. Nelas se incluem grupos de discussão, salas de bate-papo e plataformas digitais. A primeira comunidade virtual foi a WEEL, fundada em 1985. Em 1993, com o surgimento da Web, as empresas começaram a se interessar pela inovação. Os primeiros blogs surgiram ao redor do ano 2000 e, em 2004, houve a consolidação das redes sociais virtuais com a criação do Orkut.

A pesquisa da *Global Digital Overview* (GDO) mostra que existem aproximadamente 4,6 bilhões de internautas (59,5% da população mundial) e 4,2 bilhões de usuários ativos de mídias sociais (KEMP, 2021). O Facebook é a plataforma social mais utilizada no mundo, conta com 2,74 bilhões de usuários. O Youtube ocupa a segunda posição, com 2,291 bilhões de usuários (CENTRO REGIONAL DE ESTUDOS PARA O DESENVOLVIMENTO DA SOCIEDADE DA INFORMAÇÃO - CETIC, 2020). O tempo gasto por todos os

usuários de Internet foi estimado em 1,3 bilhões de anos. Um usuário típico de mídias sociais dedica 2 horas e 25 minutos por dia, o que equivale a 36,7 dias por ano. No Brasil, são 150 milhões de usuários de mídias sociais. O país ocupa a terceira posição no *ranking* do tempo gasto com mídias sociais, ficando atrás apenas das Filipinas e Colômbia. Cada brasileiro gasta em torno de 3 horas e 42 minutos por dia em mídias sociais, o que equivale a 56,3 dias por ano (KEMP, 2021).

Em 2020, as principais razões para o uso da Internet foram: a busca por informações (63% dos usuários), manter contato com amigos e familiares (56,3%) e manter-se atualizado sobre notícias e eventos (55,6%). Por outro lado, os motivos para acessar as redes sociais foram: estar atualizado com notícias e eventos (36,5% dos usuários), pesquisas de produtos para comprar (27,5%) e compartilhar opinião (23,4%) (INTERNATIONAL TELECOMMUNICATION UNION - ITU, 2020). Por volta de 61% dos usuários empregavam a mídia social para pesquisar marcas. Ao redor de $\frac{3}{4}$ dos internautas faziam compras pela Internet (KEMP, 2021). As compras mundiais de alimentos e cuidados pessoais pela Internet somaram US \$413 bilhões em 2020, um aumento de 41% em relação ao ano anterior (CETIC, 2020). O aumento foi decorrente às mudanças de hábitos de compras ocasionadas pela pandemia de Covid-19.

Pelos números expostos, vislumbra-se que as plataformas digitais estão tomando grandes proporções econômicas, pois o número de pessoas que possuem contato com a Internet é grande. Sabe-se que o valor de uma marca é diretamente proporcional à sua popularidade. As redes e as comunidades virtuais tornam as marcas comerciais mais populares e com maior reputação em menos tempo que nas mídias massivas. O efeito contrário ocorre, mas numa velocidade maior.

A existência da *Web* não elimina a influência da comunicação de massa. Entretanto, a Internet está oferecendo a oportunidade para os consumidores se manifestarem mais sobre o uso cotidiano das marcas. As marcas adotam aspectos da personalidade e do estilo de vida das pessoas. Nesse sentido, as marcas acabam suprimindo as necessidades das pessoas em pertencer a algum grupo social. Tal fato explica, em parte, a formação de redes e comunidades em que a marca atua com suporte.

Na sociedade em rede, o mercado consumidor conhece melhor as suas demandas que as empresas. Na sociedade em rede, existe comunicação ativa entre o produtor e o consumidor, gerando ideias e cocriação de valor para a marca. É um modelo de inovação de fora para dentro, ao invés do contrário. Um caso real que ilustra o processo de cocriação de um novo produto é o caso da plataforma de venda de vinhos Bodeboca, descrito por Efeagro (2019). Essa plataforma lançou a primeira marca própria, a Fantaboloso, com a venda de um lote com 10 mil garrafas. Para o desenvolvimento de um produto orientado aos amantes do vinho, a empresa considerou os dados das vendas de dois milhões de garrafas e 200 mil comentários feitos pelos

seus clientes na plataforma. O nome da marca surgiu dos dois adjetivos mais frequentes nos comentários: fantástico e fabuloso.

No período da comunicação massiva, as marcas eram construídas de forma isolada, quase intocáveis. Com Internet, o cordão de isolamento foi rompido, fazendo com que a marca tenha que caminhar entre as pessoas, correndo riscos e oportunidades. Na Internet as informações são mais interativas, envolventes, sendo consideradas ricas por construir experiências (boas e ruins) personalizadas com as marcas. Essa construção é entendida como uma prática de negociação, e não há imposição de significados. Nesse contexto, as empresas perdem o controle da gestão do conteúdo, pois as estruturas das conversas são hiperlinkadas e não mais hierárquicas. As comunidades estão se tornando cada vez mais ruidosas e sem medo das grandes empresas e marcas, empoderando o consumidor e enfraquecendo o poder simbólico das marcas (MELO, 2010). O empoderamento acabou forçando algumas marcas a comercializarem produtos com valor compatível aos das embalagens. Os consumidores passaram a se proteger de supostas mentiras das companhias ao vender o seu produto.

Embora os ambientes virtuais sejam favoráveis para a defesa da marca, existem comunidades contrárias às marcas. Frederick Reichheld propôs uma escala para medir a atitude do mercado consumidor em relação à marca: a *Net Promoter Score* (NPS). A NPS leva em consideração os consumidores que promovem a marca, os passivos e os consumidores detratores, que julgam negativamente a marca.

A defesa da marca pode ocorrer espontaneamente (raramente ocorre) ou estimulada. As defesas estimuladas ocorrem quando há divulgação de resultados de pesquisas ou manifestações negativas. Diante disso, as manifestações negativas não são tão ruins. Kotler *et al.* (2017) expuseram o *Brand Index* (BI) do McDonalds. O BI indicou que a rede de *fast food* possuía 33% de adoradores e 29% de antagonistas. Na mesma linha, a Starbucks tinha 30% de adoradores e 23% de antagonistas. Pelo NPS, as duas marcas tiveram pontuações muito baixas. Não obstante, esses autores apresentaram uma opinião alternativa no que diz respeito aos consumidores antagonistas. Os antagonistas são um mal necessário, pois estimulam os adoradores a defenderem as marcas. Os adoradores se transformam em autênticos advogados das marcas e sem as suas manifestações, as mensagens sobre as marcas seriam maçantes e menos envolventes.

No mundo virtual existem os *Netizens*, pessoas que desejam participar do desenvolvimento da internet. Esses consumidores são hábeis em se conectar com outros *online* e compartilham informações. Mesmo que nem toda informação seja valiosa e nem todas as atividades sejam produtivas, ainda assim, a sua contribuição é relevante. Criam avaliações, postam comentários e até criam conteúdo para expressar as suas opiniões e sentimentos por um produto ou marca. O trabalho dos *netizens* facilita a vida dos outros usuários,

uma vez que eles organizam as informações e as dispõem em plataformas de fácil acesso. Os *netizens* apresentam maior visibilidade que outros usuários e exercem uma grande influência porque possuem muitos seguidores, fãs e amigos. Alguns *netizens* acabam se tornando grandes influenciadores no que diz respeito a alimentos e alimentação.

As mídias sociais criaram um tipo de celebridade, os influenciadores digitais. O conhecimento especializado e uma boa pitada de carisma dos influenciadores têm impactado a opinião, a atitude e a preferência das pessoas, o que acaba refletindo na demanda de determinados alimentos. Os influenciadores acabam inspirando os seus seguidores a elaborar refeições para o seu próprio bem-estar. As postagens são as mais diversas, podendo abordar a comida tradicional, contemporânea, étnica etc. Em seus canais é possível obter informações como o valor nutricional dos alimentos, intolerâncias/alergias a alimentos.

Os maiores influenciadores são aqueles que possuem maior número de seguidores nas plataformas sociais. A agência de *marketing* digital Amra & Elma (A&E) elabora anualmente uma lista com os 100 maiores influenciadores digitais em relação à alimentação. No ano 2020, o chef britânico Gordon Ramsay esteve no topo, com 9,5 milhões de seguidores. O chef britânico Jamie Oliver tinha o segundo maior número de seguidores (8,2 milhões). James Oliver é conhecido pelo seu entusiasmo pela alimentação saudável e nutritiva (AMARA & ELMA, 2021).

Além de acompanhar as dinâmicas das comunidades de consumidores da marca e seus influenciadores, as empresas estão despendendo esforços para compreender melhor o comportamento dos consumidores usando outros recursos tecnológicos, como é o caso do Big Data.

b) O uso de Big Data

O aumento exponencial da produção de dados está vinculado ao desenvolvimento de novas tecnologias, como a Internet e as redes sociais. A expressão "Big Data", como o nome sugere, refere-se à obtenção e o armazenamento de um grande volume de dados digitais de natureza variada. O processamento desses dados é realizado por ferramentas inovadoras, com o intuito de gerar informações úteis na ampliação do conhecimento e para a tomada de decisões. Os métodos de "Big Data" permitem realizar análises dos dados de forma descritiva, diagnóstico, previsões, prescritivas e, dessa forma, descobrir padrões ocultos de comportamento, tendências de mercado e as preferências dos clientes para a personalização dos produtos (RIAHÍ; RIAHÍ, 2018).

A mídia social nos permite ver, concordar ou discordar de opiniões e experiências de pessoas que conhecemos ou não, além de ser um lugar onde as pessoas podem expressar os seus sentimentos em relação a políticas, entretenimento e assuntos sociais. A mídia também permite verificar o que

as pessoas estão fazendo a respeito dessas questões, ou seja, é possível obter informações sobre as ações das pessoas e não apenas as opiniões.

Nesse sentido, os dados das mídias sociais são um novo tesouro para a pesquisa. A *Web* é a maior e mais conhecida fonte de informação, facilmente acessível e pesquisável. São bilhões de documentos de autoria de milhões de pessoas. As redes sociais são valiosas porque permitem a mineração de sentimentos, que podem ser empregados na gestão de relacionamento com o cliente. Essa ferramenta é útil para analisar a opinião do público quanto à compra de produtos, captar o “pulso” dos mercados de ações, bem como eleições. Os dados das mídias sociais diferem dos dados convencionais, portanto, é necessário estudar as suas particularidades.

As pesquisas interessadas em identificar as escolhas de alimentos partem de dados com vários formatos como: textos, imagens ou vídeos. Os dados de textos são ricos em conteúdos semânticos, refletindo o conhecimento, a opinião e as preferências das pessoas. No entanto, são dados desestruturados, altamente complexos e difíceis de analisar. Para isso, foram desenvolvidas novas técnicas chamadas de *text mining*. As plataformas de mídia social geram dados de texto em tempo real para a análise de comportamento, sentimentos e tendências sobre questões de alimentação e saúde. Os analistas focam na identificação de padrões linguísticos relacionados à alimentação e interação humana (TAO; YANG; FENG, 2020).

A mineração de textos surgiu para transformar uma grande quantidade de informação de texto em percepções úteis. O processo envolve três etapas: o processamento do texto, a análise do texto e a análise conjunta. Na primeira etapa é realizada a limpeza e redução de dados. Na seguinte, são feitas associações e agrupações de palavras. É possível, ainda, complementar a análise de texto com a integração de dados não textuais, como: horários, lugares, receitas, compartilhamentos etc.

A análise de texto tem sido empregada em diversos estudos relacionados à alimentação. Por exemplo, a pesquisa de Dondokova *et al.* (2019) partiu de 59.177 *tweets* e após a limpeza, filtragem, transformação de texto e tokenização, restou 30.000 *tweets* para descrever e analisar os padrões de alimentação e escolhas de alimentos pelos indivíduos. Na análise, calcularam as frequências das palavras, avaliaram a frequência do termo - inverso da frequência nos documentos (*term frequency-inverse document frequency measure - TF-IDF*), apresentaram gráfico de frequências de n-gramas. Como resultado, o estudo encontrou diferenças no padrão de alimentação em diferentes contextos de consumo.

As opiniões obtidas na Internet podem passar por análise de polaridade emocional, que envolve o processamento de linguagem para atribuir diferentes pontuações ao sentimento positivo, negativo e neutro do texto. O estudo realizado por Shaw e Karami (2017) propuseram dois métodos de mineração de dados para compreender a opinião e os sentimentos negativos

das pessoas em relação à dieta, diabetes, exercício e obesidade. A pesquisa empregou a Interface de Programação de Aplicativo (API, em inglês) do Twitter e coletou quase 6 milhões de *tweets* (61 milhões de *tokens*) no mês de junho de 2016. As conclusões do trabalho corroboram com trabalhos prévios, porém a amplitude dos dados acabou sendo o diferencial da referida pesquisa.

A limitação da análise de textos, o que representa um desafio aos cientistas, são as perturbações de nível léxico e semântico. Os jargões, as abreviaturas, o uso de emoticons e a criação de novas palavras é a realidade no ambiente virtual.

É importante ressaltar que não são apenas as plataformas sociais que geram grandes bases de dados. A fonte de dados pode ser da própria empresa. Os varejistas de alimentos trabalham há anos os dados *scanner*, ou seja, os dados gerados nos terminais do ponto de venda através da leitura de código de barras do produto vendido. Os dados *scanner* são gerados inconscientemente pelos clientes e representam as suas preferências reveladas, visto que representam o seu comportamento real de compra. Existem diversos estudos que fazem uso desse tipo de dados, entre eles, o de Jones (1997), que analisa o comportamento de compra de alimentos pelos consumidores dos Estados Unidos da América (EUA), com diferentes rendas e localização; Hilger *et al.* (2019), estudaram o comportamento de compras de frutos do mar em uma rede de supermercados costeiros na Califórnia (EUA), dando ênfase à rotulagem de sustentabilidade ambiental. Jones (2014) estimou o impacto de 265 marcas nas decisões de compra de café em quatro supermercados, pertencentes a uma mesma rede varejista, em Columbus/Ohio (EUA).

Existem ainda bases de dados, como a *Kantar Worldpanel*, que está presente em 63 países, especializados em coletar informações de compras de alimentos e bebidas, de forma consciente - inclusive as famílias recebem uma compensação monetária por estarem passando as suas informações de compras. Os consumidores que integram a base de dados são convidados a participar através de uma amostra estratificada. Todas as vezes que realizam compras precisam registrá-las através de leitura de código de barras. Um estudo ilustrativo, que empregou essa base de dados, é o de Laassal e Kallas (2019). Os autores obtiveram informações de compra de "leite vegetal" dos consumidores de Barcelona (Espanha). Eles avaliaram o impacto da produção orgânica, marca, gosto (original ou achocolatado), adição de ingredientes (cálcio e vitaminas), tipo de vegetal (soja, amêndoa e arroz) e preços na decisão de compra.

Na era do Big Data surge o consumidor datafificado. As informações a respeito da sua idade, raça, sexo, peso, altura, estado civil, nível de educação, crenças políticas, hábitos de compra, preocupação quanto à saúde da família, sonhos de férias acabam sendo usadas para prever as suas ações individuais.

A integração dos dados *online* e *offline* e de *mobile* geram *insights* antes inimagináveis ao proporcionar uma compreensão mais profunda, oportuna e imediata do conteúdo necessárias ao desenvolvimento de ações de mercado nível de cada consumidor, assim como o aprimoramento de políticas públicas (ABREU; NICOLAU, 2017).

c) Cultura do cancelamento

Somos seres sociais e, por isso, sentimos uma forte necessidade de pertencer a grupos sociais e ser aceitos pelas pessoas. A rejeição social sempre existiu e é uma ferramenta poderosa para manter a ordem entre os indivíduos e garantir a sobrevivência da humanidade. Como é de conhecimento de todos, com o surgimento da Internet, os indivíduos passaram a interagir de forma *online*. Nas mídias sociais, a rejeição social tem se mostrado um meio energético de demonstração de desaprovação.

A cultura do cancelamento surgiu como forma de chamar a atenção para causas de justiça social e preservação ambiental (quinta dimensão requerida pelos consumidores de alimentos 4.0). É uma forma de dar resposta a comportamentos ou posturas inaceitáveis, ilegais e repulsivas através da vergonha em plataformas de mídias sociais (Facebook, Instagram etc.). Na Internet é possível encontrar relatos de inúmeros casos de cancelamentos, sendo que alguns deram origem a verdadeiros movimentos, como o #MeToo.

A intensidade do cancelamento depende da gravidade do caso e de quem está sendo cancelado. Em casos de pouca gravidade pode haver apenas o constrangimento nas mídias sociais. Por outro lado, quando o caso é considerado grave, a punição pode ser maior e envolver boicote. Os consumidores deixam de comprar os produtos de marcas que discordam e passam a gastar o seu dinheiro com os concorrentes.

A opinião política pode levar ao cancelamento. Em julho de 2020, Robert Unanue, presidente executivo da Goya Foods - a maior marca de alimentos de hispânicos nos EUA, compareceu em um evento na Casa Branca e elogiou o presidente Donald Trump. O ato causou indignação entre os clientes latinos, majoritariamente descontentes com as políticas do governo, e, em poucas horas surgiram fotos de pessoas jogando fora os produtos Goya e comprando outras marcas. Algumas celebridades se apressaram para manifestar o seu apoio ao cancelamento da marca Goya (THOMAS, 2020).

Há situações em que as críticas sofridas pelas marcas são infundadas e, felizmente, o cancelamento não ocorre. Recentemente a Kellogg's foi acusada por uma parlamentar britânica e ativistas do movimento *Black Lives Matter* por comercializar produtos com embalagem racista. O argumento da parlamentar foi que a embalagem do cereal "*Rice Krispies*", da Kellogg's, contém três meninos brancos representando a marca. Por outro lado, o cereal Coco Pops, que apresenta os mesmos cereais do Rice Krispies acrescidos de chocolate marrom, tem um macaco na sua embalagem. A Kellogg's se

manifestou publicamente que não tolera qualquer tipo de discriminação e que a mascote é personagem tanto nas embalagens de cereais com chocolate ao leite (de cor marrom) e cereais com chocolate branco (JUSTICE, 2020). Além da nota à imprensa, a empresa não necessitou realizar outras ações para minimizar o acontecido.

Em outras ocasiões, as empresas se veem obrigadas a desenvolver iniciativas custosas para evitar o cancelamento. Em 2018, dois homens negros foram presos numa cafeteria do Starbucks na Filadélfia, Estado Unidos. Os homens estavam esperando um amigo, sem consumir nada, e um deles pediu para usar o banheiro. O gerente chamou a polícia. O vídeo desses homens sendo algemados viralizou. O ato explícito de racismo resultou em um acordo de US \$200 mil, e a rede foi obrigada a treinar os seus colaboradores para evitar novos episódios de preconceito racial. Para evitar o cancelamento pelos seus clientes, extrajudicialmente, a Starbucks se comprometeu a investir US \$100 milhões em projetos de equidade racial em 12 regiões metropolitanas dos Estados Unidos (RALPH, 2021).

O cancelamento pode ocorrer tanto por fatos ocorridos no presente como no passado. Basta a gravação comprometedora de alguém de anos atrás para gerar o cancelamento, o que se converte em um estigma, uma vez que pode perpetuar. Como destacado por Ross Douthat, do New York Times, "o cancelamento dura enquanto o Google existir".

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os consumidores do século XXI são conhecidos como consumidores 4.0. Além de serem muito exigentes quanto aos atributos de qualidade, estão conectados em redes ou em comunidades. Embora as decisões de compras ainda sejam pessoais, o processo está sofrendo novas influências que até então não eram vistas. O peso da conformidade social está aumentando e se generalizando. Em outras palavras, os consumidores estão se importando cada vez mais com as opiniões dos outros.

A competitividade das empresas na conquista do consumidor não se restringe mais na produção de alimentos de qualidade superior ou mais adequado a um segmento de mercado. A competitividade acaba sendo determinada pela capacidade de se conectar com as comunidades de consumidores. A empresa que não criar um canal de comunicação com o mercado consumidor para promover uma relação horizontal corre o risco de se tornar inviável num futuro próximo, pois os concorrentes o farão.

As empresas *online* não substituirão completamente as empresas *off-line*. Para oferecer a melhor experiência ao consumidor, ambas devem existir e se integrar. Naturalmente, o grau de substituição dependerá do segmento do mercado. Quanto menos perecível for o produto, maior o potencial de sua comercialização *online*. Nesse sentido, o potencial de comercializar *online*:

castanhas, café, arroz, cacau é maior que a venda de alface, tomate etc. Os produtos de *delivery*, mesmo que sejam altamente perecíveis, possuem um amplo mercado *online* pelo seu valor agregado – sem esquecer que a logística é o seu maior desafio para obter a sustentabilidade econômica.

A tecnologia vem avançando a passos largos e permite aprimorar o *merchandising*. A integração de dispositivos eletrônicos de iPhone que lembram os clientes sobre as suas listas de compras quando passam por certos departamentos, ou mesmo enviam notificações de descontos e recomendações de presentes é uma realidade. A empresa que desconsiderar essa ferramenta corre o risco de perder mercado.

REFERÊNCIAS

ABREU, G.; NICOLAU, M. Big data, publicidade e o consumidor datafocado: o caso da série House of Cards. **Cultura Midiática**, João Pessoa, v. 10, n. 18, p. 135-151, 2017.

AMARA & ELMA. **100 top influencers to follow in 2020**. 2020. Disponível em: <https://www.amraandelma.com/top-food-influencers/>. Acesso em: 20 fev. 2021.

ANVISA. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)**: Plano Plurianual 2017-2020: Resultados do 1º Ciclo 2017-2018. Brasília: ANVISA, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/3772json-file-1>. Acesso em: 14 mar. 2021.

BEZERRA, I. N.; MOREIRA, T. M. V.; CAVALCANTE, J. B.; SOUZA, A. M.; SICHIERI, R. Consumo de alimentos fora do lar no Brasil segundo locais de aquisição. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 51, n. 15, p. 1-8, 2017.

BRUNSØ, K.; FJORD, T. A.; GRUNERT, K. G. **Consumers' food choice and quality perception**. Aarhus, Dinamarca: The Aarhus School of Business, 2002. Disponível em: <https://pure.au.dk/portal/files/32302886/wp77.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2021.

CERTIFIED HUMANE BRASIL. Quem são os certificados. **Certified Humane Brasil**, 2021. Disponível em: <https://certifiedhumanebrasil.org/quem-sao-os-certificados/>. Acesso em: 15 mar. 2021.

CETIC. **TIC Domicílios 2019**: principais resultados. [São Paulo]: CETIC, 2020. Disponível em: https://cetic.br/media/analises/tic_domicilios_2019_coletiva_imprensa.pdf. Acesso em: 12 jan. 2021.

CORREIA, S. C. C. A Operação Carne Fraca e as estratégias do governo de Michel Temer para minimizar o escândalo da venda ilegal de carnes. **Revista OKARA: Geografia em Debate**, v. 12, n. 2, p. 577-602, 2018.

DONDOKOVA, A.; AICH, S.; KIM, H. C.; HUH, G. H. A text mining approach to study individuals' food choices and eating behavior using twitter feeds. *In*: HUNG, J.; YEN, N.; HUI, L. (org.) **Frontier Computing: FC 2018**. Singapura: Springer, 2019. . p. 520-527. (Lectures Notes in Electrical Engineering, v. 542)

EFEAGRO. Big data para diseñar el vino que quieren los consumidores. **Efeagro**, 2019. Disponível em: <https://www.efeagro.com/noticia/big-data-disenar-vino->

quieren-los-consumidores/. Acesso em: 07 mar. 2021.

HILGER, J.; HALLSTEIN, E.; STEVES, A. W.; VILAS-BOAS, S. B. Measuring willingness to pay for environmental attributes in seafood. **Environmental Resource Economics**, [s. l.], v. 73, n. 1, p. 307-332, 2019.

IBGE. Censo Agro 2017: resultados preliminares mostram queda de 2,0% no número de estabelecimentos e alta de 5% na área total. **Agência IBGE Notícias**, [Rio de Janeiro], 26 jul. 2018. Estatísticas Econômicas. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/21905-censo-agro-2017-resultados-preliminares-mostram-queda-de-2-0-no-numero-de-estabelecimentos-e-alta-de-5-na-area-total>. Acesso em: 13 mar. 2021.

IBGE. Mapa das Indicações Geográficas 2019 traz quatro novos produtos. **Agência IBGE Notícias**, [Rio de Janeiro], 19 ago. 2019. Geociências. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/25216-mapa-das-indicacoes-geograficas>. Acesso em: 15 março 2021.

ITU. Statistics 2020. **ITU**, [Genebra], 18 jan. 2021. Disponível em: <https://www.itu.int/en/ITU-D/Statistics/Pages/stat/default.aspx>. Acesso em: 12 fev. 2021.

JONES, E. An analysis of consumer food shopping behavior using supermarket scanner data: differences by income and location. **American Journal of Agricultural Economics**, [s. l.], v. 79, n. 5, p. 1437-1443, 1997.

JONES, E. An empirical assessment of consumers' preference for coffee. **Journal of Food Distribution Research**, [s. l.], v. 45, n. 2, p. 135-160, 2014.

JUNTA DE CASTILLA DE LEÓN. Indicaciones Geograficas: un tesoro Europeo por valor de 75.000 millones de euros. **Comisión Europea**, Castilla y León, 20 abr. 2020. Disponível em: <https://eucyl.jcyl.es/web/jcyl/Eucyl/es/Plantilla100Detalle/1277999678552/Noticia/1284947301376/Comunicacion>. Acesso em: 15 mar. 2021.

JUSTICE, T. Black Lives Matter Activist: your Kellogg's box is racist. **The federalist**, [s. l.], 16 jun. 2020. Culture. Disponível em: <https://thefederalist.com/2020/06/16/black-lives-matter-activist-your-kelloggs-box-is-racist/>. Acesso em: 17 fev. 2021.

KEMP, S. **Digital 2021**: global overview report. [GDO], 2021. Disponível em: <https://datareportal.com/reports/digital-2021-global-overview-report>. Acesso em: 18 fev. 2021.

KOTLER, P.; KARTAJAYA, H.; SETIAWAN, I. **Marketing 4.0**. Tradução de Ivo Korytowk. Rio de Janeiro: Sextante, 2017. [recurso eletrônico]. Disponível em: [http://professor.pucgoias.edu.br/SiteDocente/admin/arquivosUpload/17352/material/Marketing-4-0-Do-tradicional-ao-digital%20\(1\).pdf](http://professor.pucgoias.edu.br/SiteDocente/admin/arquivosUpload/17352/material/Marketing-4-0-Do-tradicional-ao-digital%20(1).pdf). Acesso em: 17 fev. 2021.

LAASSAL, M.; KALLAS, Z. Consumers preferences for dairy-alternative Beverage using home-scan data in Catalonia. **Beverages**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 1-18, 2019.

MANUAL de certificação de produtos orgânicos. **Organicsnet**, Rio de Janeiro, [2021]. Disponível em: <https://www.organicsnet.com.br/certificacao/manual-certificacao/>. Acesso em: 15 mar. 2021.

MASSRUHÁ, S. M. F. S.; LEITE, M. A. A. Agro 4.0: rumo à agricultura digital. *In*:

MAGNONI JÚNIOR, L.; STEVENS, D.; SILVA, W. T. L.; VALE, J. M. F.; PURINI, S. R. M.; MAGNONI, M. G. M.; SEBASTIÃO, E.; BRANCO JÚNIOR, G.; ADORNO FILHO, E. F.; FIGUEIREDO, W. S.; SEBASTIÃO, I. (org.). **JC na Escola Ciência, Tecnologia e Sociedade**: mobilizar o conhecimento para alimentar o Brasil. 2. ed. São Paulo: Centro Paula Souza, 2017. Disponível em: <http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/a?b=ad&id=1073150&biblioteca=vazio&busca=1073150&qFacets=1073150&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1>. Acesso em 13 mar. 2021.

MELO, S. M. C. **Consumidores em rede: Comunidades de marcas e culturas do consumo na sociedade contemporânea**. 2010. 91 f. Dissertação (Mestrado em Comunicação e Semiótica, Cultura e Ambientes Midiáticos) - Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo, 2010.

NASCIMENTO, K. O.; AUGUSTA, I. M.; RODRIGUES, N. R.; PIRES, T.; BASTISTA, E.; BARBOSA JR. J. L.; BARBOSA, M. I. M. J. Alimentos minimamente processados: uma tendência de mercado. **Acta Tecnológica**, São Luís, v. 9, n. 1, p. 48-61, 2014.

PIMENTEL, T. C.; OLIVEIRA, M. N.; CRUZ, A. G. Premiumização e sensorialidade. In: ZACARCHENCO, P. B.; VAN DENDER, A. G. F.; REGO, R. A. (org.) **Brasil dairy trends**. 1. ed. Campinas: ITAL, 2017.

PIVARO, J. Tempos mais modernos. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 22, n. 126, p. 8-10, 2017.

RALPH, P. Starbucks to invest \$100 million in racial equity projects in Philly, other cities. **Philly Voice**, [s. l.], 14 jan. 2021. Disponível em: <https://www.phillyvoice.com/starbucks-philadelphia-small-businesses-community-development-racial-equity-projects/>. Acesso em: 17 fev. 2021.

RIAH, Y.; RIAHI, S. Big Data and Big Data analytics: concepts, types and technologies. **International Journal of Research and Engineering**, [s. l.], v. 5, n. 9, p. 524-528, 2018.

RINCÓN, J.; DE PAULA, J.; MACHADO, L. A.; VIEIRA, A. **Termo de referência Sebrae para o Comércio Justo**. Brasília: Sebrae, 2005. 64 p.

SALSBERG, B.; DESAI, P.; POTIA, A. **Retail 4.0: the future of retail grocery in a digital world**. [S. l.]: McKinsey & Company, 2017. Disponível em: [https://www.mckinsey.com/~/media/mckinsey/dotcom/client_service/retail/articles/the_future_of_retail_grocery_in_digital_world%20\(3\).pdf](https://www.mckinsey.com/~/media/mckinsey/dotcom/client_service/retail/articles/the_future_of_retail_grocery_in_digital_world%20(3).pdf). Acesso em: 13 mar. 2021.

SHAW, G.; KARAMI, A. Computational content analysis of negative tweets for obesity, diet, diabetes, and exercise. In: ANNUAL MEETING OF THE ASSOCIATION FOR INFORMATION SCIENCE & TECHNOLOGY, 80., 2017, Washington, DC. **Proceedings** [...]. Washington, DC: Crystal City 2017.

TAO, D.; YANG, P.; FENG, H. Utilization of text mining as a big data analysis tool for food science and nutrition. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s. l.], v. 19, p. 875-894, 2020.

THOMAS, Z. What is the cost of "cancel culture"? **BBC Business**, New York, 8 out. 2020. Disponível em: <https://www.bbc.com/news/business-54374824>. Acesso em: 17 fev. 2021.

TREVISAN, S. D. P.; CASEMIRO, A. D. Consumidores de produtos orgânicos em Vitória da Conquista. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ADVANCES IN CLEANER PRODUCTION, 2., 2009, São Paulo. **Proceedings** [...]. São Paulo: [s. n.], 2009.



Profa. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive

Médica veterinária com Mestrado, Doutorado e Pós-Doutorado na Universidade de São Paulo (USP/FMVZ), na área de Reprodução Animal. Desde 2002, é Professora na Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT), Dracena. Livre-docente pela Unesp/FCAT. As áreas de pesquisa compreendem a "Fisiologia e biotecnologias da Reprodução em fêmeas bovinas". É responsável pelo Laboratório de Fisiologia do Endométrio e Embrião (LIFE), sediado na Unesp/FCAT, Câmpus de Dracena. É docente permanente do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia do Instituto de Biociências (IB) da Unesp de Botucatu e Vice-Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Animal da Unesp de Ilha Solteira e Dracena.



Profa. Dra. Elaine Mendonça Bernardes

Doutora em Economia Aplicada Universidade de São Paulo (USP/ESALQ) (2002), com estágio no Instituto H. H. Humphrey da Universidade de Minnesota (2001/2002), engenheira agrônoma (1986) e mestre (1992) pela USP/ESALQ. É Professora Assistente Doutora da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Dracena. Tem experiência na área de Economia e Administração, com ênfase em Economia Agrária e dos Recursos Naturais, e atua em desenvolvimento rural e regional, capital humano e capital social.



Dr. Fábio Sampaio Rosas

Doutor e mestre em Ciência da Informação pela Universidade Estadual Paulista (Unesp), Supervisor da Seção Técnica de Biblioteca e Documentação da Unesp, Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Dracena, membro dos Grupos de Pesquisa "Estudos métricos da informação" e "Formação e atuação profissional em organização da informação", ambos da Unesp, Faculdade de Filosofia e Ciências, Marília.



Prof. Dr. Ricardo da Fonseca

Doutor em genética e melhoramento pela Universidade Federal de Viçosa (2003). É Professor Assistente Doutor da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Dracena. Atua na área de zootecnia, com ênfase em genética e melhoramento dos animais domésticos.

CATALOGAÇÃO

Fábio Sampaio Rosas
CRB: 8/6665

NORMALIZAÇÃO

Stephanie Cerqueira Silva

REVISÃO GRAMATICAL

Natalia Nakano

CAPA

Profa. Dra. Maria José Vicentini Jorente
Stephanie Cerqueira Silva

DIAGRAMAÇÃO E PRODUÇÃO GRÁFICA

Stephanie Cerqueira Silva

IMAGEM DA CAPA

"Cover Crop" by Nicholas_T is licensed under CC BY 2.0
(<https://www.flickr.com/photos/14922165@N00/7359959102>)

FORMATO

21x29,7 cm (A4)

TIPOLOGIA

Segoe UI

PAPEL

Miolo: Offset 90g/m²
Capa: Cartão 300g/m²

TIRAGEM

67 exemplares

EDITORAÇÃO



Laboratório de
Design e
Recuperação da
Informação

Esse livro tem como objetivo ser um compilado de pesquisas e ações que vêm sendo realizadas por pesquisadores das ciências agrárias nas suas diversas áreas, sejam elas, produção vegetal, produção animal, recursos naturais e florestas, genética e biotecnologia e ciências humanas e sociais. Mas também pode ser utilizado como uma fonte de referências básicas e fundamentais para estudo de pessoas interessadas nos temas abordados.



ISBN 978-658117105-6

