

INSTITUTO FEDERAL
Sul de Minas Gerais

eISSN 2316-1817

Indexada em

AGRIS - Information System for the Agricultural Sciences and Technology
SUMÁRIOS.ORG
LATINDEX
REDIB
DOAJ
GOOGLE ACADÊMICO

Afiliada à Associação Brasileira de Editores Científicos (ABEC)

Revista

AGROGEOAMBIENTAL

Publicação Trimestral Científica e Tecnológica - IFSULDEMINAS

v.13 – n.1 – março / 2021

Pouso Alegre – Minas Gerais – Brasil



Ministério da Educação
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais

Presidente da República
Jair Messias Bolsonaro

Ministro da Educação
Milton Ribeiro

Secretário de Educação Profissional e Tecnológica
Wandemberg Venceslau Rosendo Dos Santos

Reitor do IFSULDEMINAS
Marcelo Bregagnoli

Pró-Reitor de Administração e Planejamento
Honório José de Moraes Neto

Pró-Reitor de Gestão de Pessoas
Thiago de Sousa Santos

Pró-Reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Sindynara Ferreira

Pró-Reitor de Ensino
Giovane José da Silva

Pró-Reitor de Extensão
Cléber Ávila Barbosa

Ficha Catalográfica

R454	Revista Agrogeoambiental / Instituto Federal do Sul de Minas Gerais (IFSULDEMINAS). Vol. 13, n.1 (mar. 2021) - . - Pouso Alegre (MG) : IFSULDEMINAS, 2021 - . Trimestral. Endereço eletrônico < https://agrogeoambiental.ifsuldeminas.edu.br/ > e-ISSN 2316-1817 versão eletrônica. 1. Meio ambiente. 2. Agrárias. 3. Agronomia. 4. Engenharia agrícola. 5. Geomática. 6. Geologia. 7. Silvicultura. 8. Zootecnia. 9. Ecologia. I. Instituto Federal do Sul de Minas.
------	---

Revista

AGROGEOAMBIENTAL

e-ISSN 2316-1817 – Indexação: AGRIS – DOAJ - Sumários.org - REDIB – Latindex – Google Acadêmico

Expediente

Editor-chefe

Sindynara Ferreira

Bibliotecária

Rosimeire Ribeiro

Assistentes editoriais

Kélica Andréa Campos de Souza

Alan Silva Fialho

Revisão

Monalisa Aparecida Pereira

Comissão editorial

Cristiane Fortes Gris

Jane Piton Serra Sanches

Wellington Marota Barbosa

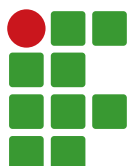
Diagramação

Pamela Silva | Tikinet

Comissão editorial

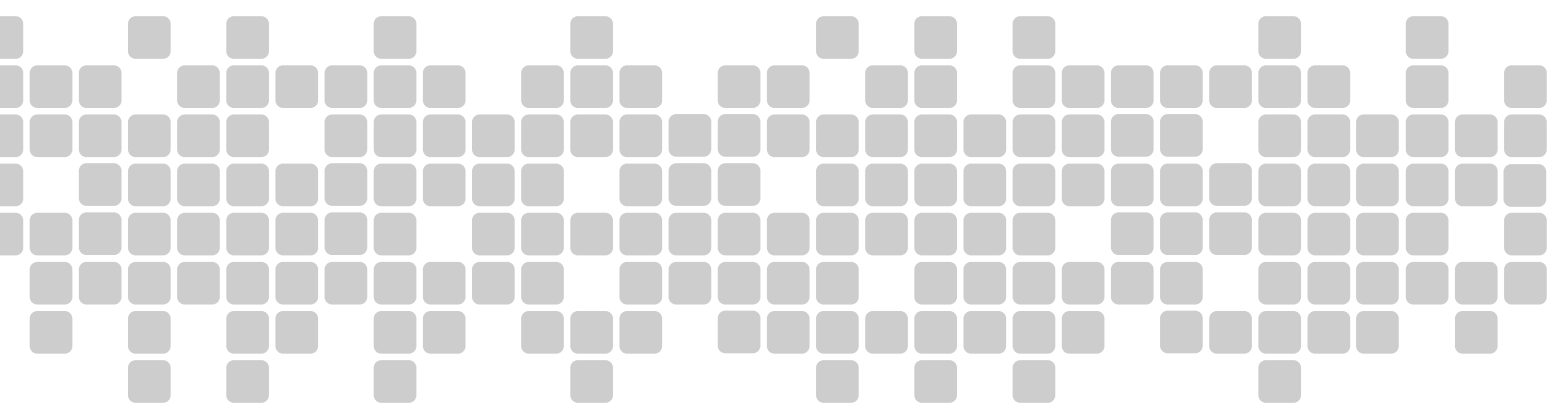
Abdon Santos Nogueira	IFBAIANO	Bruno Corrêa Barbosa	UFJF
Ademir Fontana	EMBRAPA	Caio de Teves Inácio	EMBRAPA
Aderlan Gomes da Silva	IFMG	Carlos Andres Leguizamón Rojas	UNA - Paraguai
Alan Silva Fialho	IFSULDEMINAS	Carlos Cezar da Silva	IFSULDEMINAS
Alessandro Salles Carvalho	UFJF	Carlos Edward de Carvalho Freitas	UFAM
Ana Cristina Ferreira Moreira da Silva	IFSULDEMINAS	Carolina Mariane Moreira	IFSULDEMINAS
Ana Paula Dias Turetta	EMBRAPA	Claudino Ortigara	IFSULDEMINAS
Anderson Ricardo Trevizam	UFLA	Cleber Kouri de Souza	IFSULDEMINAS
André Delly Veiga	IFSULDEMINAS	Cleber Lázaro Rodas	UFLA
André Luis da Silva Castro	IFG	Cleiton Lourenço de Oliveira	IFSULDEMINAS
Anita Cristina Costa da Silva	IFSUDESTE - MG	Cristiane Fortes Gris Baldan	IFSULDEMINAS
Antônio Sérgio da Costa	IFSULDEMINAS	Daniel Fernandes da Silva	UFLA
Arcângelo Loss	UFSC	Danielle Martins Duarte Costa	IFSULDEMINAS / UNIFEI
Ariana Vieira Silva	IFSULDEMINAS	Diego César Terra de Andrade	IFSULDEMINAS
Arionaldo Sá Júnior	IFSULDEMINAS	Diego Maia Zacardi	UFOPA
Aureliano de Albuquerque Ribeiro	UFC	Dulcimara Carvalho Nannetti	IFSULDEMINAS
Aurélio Ferreira Borges	IFRO	Éder Clementino dos Santos	IFSULDEMINAS
Brígida Monteiro Vilas Boas	IFSULDEMINAS	Edu Max da Silva	IFSULDEMINAS

Eduardo Ferreira Molina	UNIFRAN	Lilian Karla de Oliveiera	UNIFRAN
Eliana Fortes Gris	UnB	Lilian Vilela Andrade Pinto	IFSULDEMINAS
Elisa de Souza Junqueira Rezende	UNICAMP	Luciana Faria	IFSULDEMINAS
Eugênio José Gonçalves	IFSULDEMINAS	Luciana Maria Vieira Lopes Mendonça	IFSULDEMINAS
Everton Vinicius Zambiazzi	UFLA	Luiz Eugenio Veneziani Pasin	UNIFEI
Fábio Janoni Carvalho	IFTM	Marcelo Bregagnoli	IFSULDEMINAS
Fabio Luiz Albarici	IFSULDEMINAS	Marcos Caldeira Ribeiro	IFSUDESTE - MG
Fábio Mesquita de Souza	IFMA	Marcos Magalhães de Souza	IFSULDEMINAS
Fábio Oseias dos Reis Silva	UFLA	Marcos Valério Gebrá da Silva	UNIFAJ
Fabricio Gomes Gonçalves	UFES	Mário de Oliveira Rebouças Neto	IFPI
Felipe Santana Machado	UFLA	Mireile Reis Santos	IFSULDEMINAS
Flávia Monteiro Coelho Ferreira	IFSUDESTE - MG	Michael Silveira Thebaldi	UNIFOR
Franciane Diniz Cogo	UFLA	Nara Cristina de Lima Silva	IFTM
Francisco César Gonçalves	IFSUDESTE - MG	Narayana de Deus Nogueira	IFSULDEMINAS
Givago Coutinho	UNICERRADO	Patrícia de Oliveira Alvim Veiga	IFSULDEMINAS
Guilherme Oberlender	IFSULDEMINAS	Paulo Oswaldo Garcia	IFSULDEMINAS
Hugo Renan Bolzani	IFSULDEMINAS	Pedro Luiz Terra Lima	LANCASTER UNIVER- SITY - UK
Igor Souza Pereira	IFTM	Rafael Nogueira Scoriza	UFRRJ
Inêz Pereira da Silva	EPAMIG	Raphael Antônio Prado Dias	IFSULDEMINAS
Iran Dias Borges	UFSJ	Raphael Maia Aveiro Cessa	IFMT
Isabel Ribeiro do Valle Teixeira	IFSULDEMINAS	Raphael Nogueira Rezende	IFSULDEMINAS
Ivelize Cunha Tannure Nascimento	IFSULDEMINAS	Raul Henrique Sartori	IFSULDEMINAS
Jader Ribeiro Pinto	IFSul	Renata Brito	UFRRJ
Jamil de Moraes Pereira	IFSULDEMINAS	Renata Mara de Souza	IFSULDEMINAS
Jane Piton Serra Sanches	IFSULDEMINAS	Roger Nabeyama Michels	UTFPR
João Antônio Granja	UFLA	Rosa Toyoko Shiraishi Frighetto	EMBRAPA
João Batista Tavares Júnior	IFG	Rosângela F. de Paula Vitor Marques	UFLA
João Célio de Araújo	IFC	Rosival Barros de Andrade Lima	UFRPE
João Mateus de Amorim	IFTM	Sanderley Simões da Cruz	IFPA
João Olympio de Araújo Neto	IFSULDEMINAS	Saul Jorge Pinto de Carvalho	IFSULDEMINAS
João Vieira Monteiro	FATEC	Silvio Henrique Delleposte Andolfato	UTFPR
José Alves Junqueira Junior	IFSUDESTE MG	Sindynara Ferreira	IFSULDEMINAS
José Antonio Dias Garcia	IFSULDEMINAS	Tatiana de Oliveira Ramos	UFMG
José Luiz de Andrade Rezende Pereira	IFSULDEMINAS	Vanessa Leite Rezende	UFMG
José Mauro Costa Monteiro	IFSULDEMINAS	Tatiane Tagliatti Maciel	UFJF
Joice Fernanda Lübke Bonow	UFPelotas	Vanessa Martins	UFPI
Juan Jose Bonnin Acosta	UNA - Paraguai	Verônica Soares de Paula Morais	IFSULDEMINAS
Käthery Brennecke	UNICASTELO / USP	Walbert Júnior Reis dos Santos	IFSULDEMINAS
Kátia Regina de Carvalho Balieiro	IFSULDEMINAS	Walnir Gomes Ferreira Júnior	IFSULDEMINAS
Leandro Campos Pinto	UFLA	Wellington Marota Barbosa	IFSULDEMINAS
Leonardo Rubim Reis	IFSULDEMINAS		



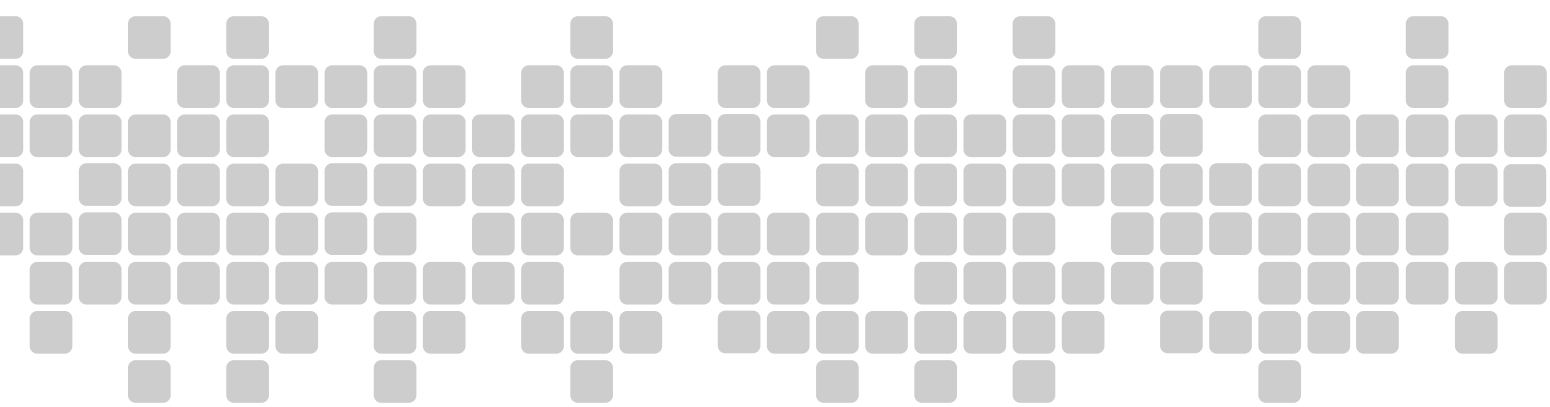
Summary

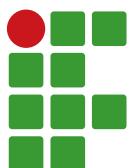
Single-cross performance in off-season in function of urea sources on side-dressing fertilization	9
Gabriel Wiest, Cassiano Spaziani Pereira, Ivan Vilela Andrade Fiorini, Mateus Emanuel Schoffen, Helcio Duarte Pereira, Adriano Alves da Silva	
The spatiality of the soybean crop water deficit in Jales and Andradina microregions, state of São Paulo	21
Kamila Cristina de Credo Assis, Maria Clara Lelles Moreira Begueline, João Victor Costa, Fernando Braz Tangerino Hernandez	
Fungicide management in the Asian soybean rust.....	36
Antonio Luiz Viegas Neto, Cristiano Márcio Alves de Souza, Bruno Fernandes Bertocello, Izidro dos Santos de Lima Junior, Lígia Maria Maraschi da Silva Piletti, Márcio Roberto Rigotte	
Blood meal as nitrogen source and its effect on disease severity on sweet corn	47
Karina de Jesus Egues Martins, Camila Klem Miliati, Antonio Luiz Viegas Neto, Lígia Maria Maraschi da Silva Piletti, Rafael Peloso de Carvalho, Márcio Roberto Rigotte	
Quality control of commercial samples of “arnica” (<i>Arnica montana</i> and <i>Solidago chilensis</i>) from Rio de Janeiro, Brazil	57
Pedro Nogueira Araújo, André Luis Alcantara Guimarães, Mirian Ribeiro Leite Moura, Ana Cláudia de Macêdo Vieira	
Inhibition of the fungus <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> in the presence of different potassium sorbate concentrations	71
Fernanda Engel, Antônio Azeredo Coutinho Neto	
Land use and occupation in the Fundação Stream subbasin, Espírito Santo, Brazil	82
Caio Henrique Ungarato Fiorese	
Investigation of the growth bacteria and Nano iron on the chlorophyll and some nutrients triticales	97
Zohreh Sepehrzadegan, Omid Alizadeh	
Effects of Nanofertilizers (Mg and Fe) and Planting Data on Productivity and Quality of Potato Tubers in Cold Desert Climate	107
Amir Khodadadi Karooki, Mohammadreza Yavarzadeh, Mohammad Mehdi Akbarian, Ali Akbar Askari	
Effect of different doses of acid milk serum on growth in rice culture and on soil chemical attributes	117
Bruno Manoel Rezende de Melo, Douglas Goulart Castro, Tácio Peres da Silva, Antonio Rosário Neto, Marco Renan Félix, Flávia Barbosa Silva Botelho	





Artigos científicos





Single-cross performance in off-season in function of urea sources on side-dressing fertilization

Gabriel Wiest¹

Cassiano Spaziani Pereira²

Ivan Vilela Andrade Fiorini³

Mateus Emanuel Schoffen⁴

Helcio Duarte Pereira⁵

Adriano Alves da Silva⁶

Abstract

Nitrogen is the most required element by the maize crop and suffers the greatest losses due to its inappropriate management, mainly when the urea is used as a source of nitrogen. The objective of this work was to evaluate the efficiency of urea sources, with or without urease inhibitor, in side-dress fertilization of commercial single-cross in off-season in Sinop/MT. The experimental design was completely randomized blocks, in factorial scheme 3 x 5, with 3 replications. The first factor was three side-dress fertilization: witness (without fertilizer); fertilization with 250 kg ha⁻¹ of urea and fertilization with 250 kg ha⁻¹ of urea in the presence of urease inhibitor (UREMAX®) NBPT. The second factor was five single-crosses: 2B433, DKB255, DKB335, NS45, and SYN522. Vegetative development and yield characteristics were evaluated. The Nitrogen sources did not affect the plant height, stem diameter, and foliar area index, only the chlorophyll content in the leaves. For the yield components, there is an effect of fertilization on the number of grain rows and grain yield. The single-crosses differ among them in vegetative development and yield characteristics. The Nitrogen in side-dress, in the conditions of this study, using the urea with urease inhibitor, increased the fertilization efficiency and raised the grain yield. The single-crosses DKB 255, 2B433, and SYN 522, with the treatment based on UREMAX®, reached the highest yield.

Keywords: *Zea mays* L. Chlorophyll. Foliar area. Volatilization. Yield components.

Introduction

The off-season maize in Mato Grosso state is of most importance for the grain production of the country. In the 2018/2019 crop season, the production reached 29,767 thousand tons of maize in

1 Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Campus Sinop, ICAA-Instituto de Ciências Agrárias e Ambiental, Engenheiro Agrônomo. gabrielwiest@yahoo.com.br. Av. Alexandre Ferronato nº 1200, Distrito Industrial. Sinop -MT

2 Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Campus Sinop, ICAA-Instituto de Ciências Agrárias e Ambiental. Professor associado. caspaziani@yahoo.com.br.

3 Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Campus Sinop, ICAA-Instituto de Ciências Agrárias e Ambiental, Pós doutor. ivanvaf@yahoo.com.br

4 Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Campus Sinop, ICAA-Instituto de Ciências Agrárias e Ambiental, Engenheiro Agrônomo. Mateusschoffen2@hotmail.com

5 Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Campus Sinop, ICAA-Instituto de Ciências Agrárias e Ambiental, Doutorado em Genética pela UFV. hhelciopassos@yahoo.com.br.

6 Centro Universitário de Formiga (UNIFOR), Formiga – MG. Professor efetivo. adrianoas@msn.com.

the state, representing around 50 % of the total maize off-season production in the country. In the 2019/2020 crop season, the participation of Mato Grosso state in the total maize production had a big increase, estimated at 31,144.5 thousand tons, an increase of 8 % in the cultivated area and 18.2 % on yield, favored by the regular rainy season, which enabled a larger window at sowing and a full plant development (CONAB, 2019).

The sowing season of the maize in off-season crop occur between January and March, being dependent on the previous crop planning. Because maize is a C4 species, it is more efficient on the carbohydrates production, which will be used in the grain production. However, some factors influence the yield, like the adopted seed, fertilization, soil, climatic factors, pest incidence, and management (BERGAMASCHI; MATZENAUER, 2014).

The soil fertility is a limiting factor for grain yield of maize, and there is a linear relationship between yield and nutrients extraction. The nutrients most required by the maize are Nitrogen (N) and Potassium (K), followed by Calcium (Ca), Magnesium (Mg), and Phosphorus (P) (COELHO; RESENDE, 2008).

The initial phase of development takes place about 20 % to 30 % of the total nutrient extraction, with a gradual evolution until the tasseling stage, which marks the end of absorption for N, P, K, and Mg. To reach a response on yield, it is necessary to fertilize the maize in the first 30 days after germination. Besides being the best time to the plant, at this time, it is easy to operate the machinery between the rows of the crop (RESENDE *et al.*, 2008).

The main nutrient in the maize composition is the N, whose main source is urea. Of all N absorbed by the maize, about 75 % are translocated to the grain, thus close involved with the grain weight. The lack of nutrients affects the grain number and the ear size (IFA, 2016).

The stable forms of N in the soil and absorbed by the plants are ammonium (NH_4^+) and nitrate (NO_3^-). The urea, when in contact with the urease enzyme, suffer the break of molecules, giving rise to ammonia, a volatile compound, enabling the losses by volatilization, which cause losses of up to 22 % of the total N applied in the soil in the rice (SCIVITTARO *et al.*, 2010).

In the no-till system, the losses of urea are higher, because in that system there is more urease and the contact of the fertilizer with the soil is lower, reducing the ammonium absorption. To avoid the losses by volatilization, alternatives have been sought, among them the application of protected urea with polymers, other N sources, as ammonium sulfate, and urea with urease inhibitor (NBPT). These fertilizers can be used in the mixture of formulated, establishing at the end of the process the composition of “urea + ammonium sulfate + protected urea”, originating an adequate amount of N, with different times of release of N, reducing the losses (TASCA *et al.*, 2011).

The objective of this work was to evaluate the efficiency of urea sources, with or without urease inhibitor, in side-dress fertilization of commercial single-cross in off-season in Sinop/MT.

Material and methods

The experiment was carried out from February 2019 to June 2019, in a commercial area with coordinates (11°37'38" S and 55°26'38" W) near the BR-163, in the region known as “Mercedes”, Sinop/MT city. The local altitude is 380 meters and the climate of the region, by Koppen classification, is the type Am, with an average annual rainfall of 2,000 mm and average annual temperature of 25 °C, and two well defined seasons, being the rainy one between October and April and the dry one between May and September (SOUZA *et al.*, 2013).

Before preparing the area and sowing, a soil sampling was performed in the depth of 0-20 cm, collecting five samples, which gave rise to a composite sample. After collecting the samples, they were sent to a lab for chemical and physical analysis and it was obtained the following results: pH (H₂O): 5.8; pH (CaCl₂): 5.1; P: 32.82 mg dm³; K: 68 mg dm³; K: 0.07 cmol dm³; Ca: 4.10 cmol dm³; Mg: 0.6 cmol dm³; Al: 0 cmol dm³; H: 4.13 cmol dm³; H+Al: 4.13 cmol dm³; M.O.: 21.74 g dm³; Sum of Basis: 4.77 cmol dm³; CTC a pH 7.0: 8.9 cmol dm³; V%: 53.63; Ca Mg: 6.87; Ca K: 58.63; Mg K: 8.53; Ca+Mg/K: 67.16; Sand: 729 g dm³; Silt: 32 gm dm³; Clay: 239 gm dm³. Based on those results, the soil presents medium texture, high levels of P, and adequate levels of K, Ca, and Mg (SOUSA; LOBATO, 2004). The soil is classified as dystrophic yellow oxisol (SANTOS *et al.*, 2013).

The experimental design was in completely randomized blocks, in factorial scheme 3 x 5, with 3 replications, totaling 15 treatments and 45 experimental plots. The first factor, with 3 levels of fertilization on side-dress, was: witness (without fertilizers); application of 250 kg ha⁻¹ of the formulated 25-00-18, without the urease inhibitor; application of 250 kg ha⁻¹ of the formulated 25-00-18 with urease inhibitor (NBPT), commercial name of UREMAX[®]. The K fertilization was even in all plots. The second factor was the five maize single-cross, being: 2B433, DKB255, DKB335, NS45, and SYN522.

The plots had five rows five-meter long, totaling 12.5 m². The useful area of the plot was the four central meters, excluding the 0.5 m of the ends of three central rows, since the two lateral rows were considered borders, totaling 8 m² of useful plot.

The experimental area was open for more than ten years and has been going through a succession of soybean/maize since then, in the no-till system, since the farmer does not perform any type of soil movement. The sowing was performed on February 8, 2019, sowing a final plant population to obtain 60,000 plants ha⁻¹ with 0.5 m between rows. In the sowing, 200 kg ha⁻¹ of the formulated 20-00-20 were applied, corresponding to 40 kg of N and 40 kg of K₂O. The side-dress application was conducted using the formulated 25-00-18, composed of 282 kg of ammonium sulfate, 418 kg of urea, and 300 kg of K, totaling 1,000 kg of the formulated, and the formulated 25-00-18 MAIZ[®] composed of 278 kg of ammonium sulfate, 420 kg of urea, 300 kg of K and 2 kg of UREMAX[®]. The fertilization with K was corrected in all treatments with KCl. All side-dress fertilization was applied at the vegetative stage V4 (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003).

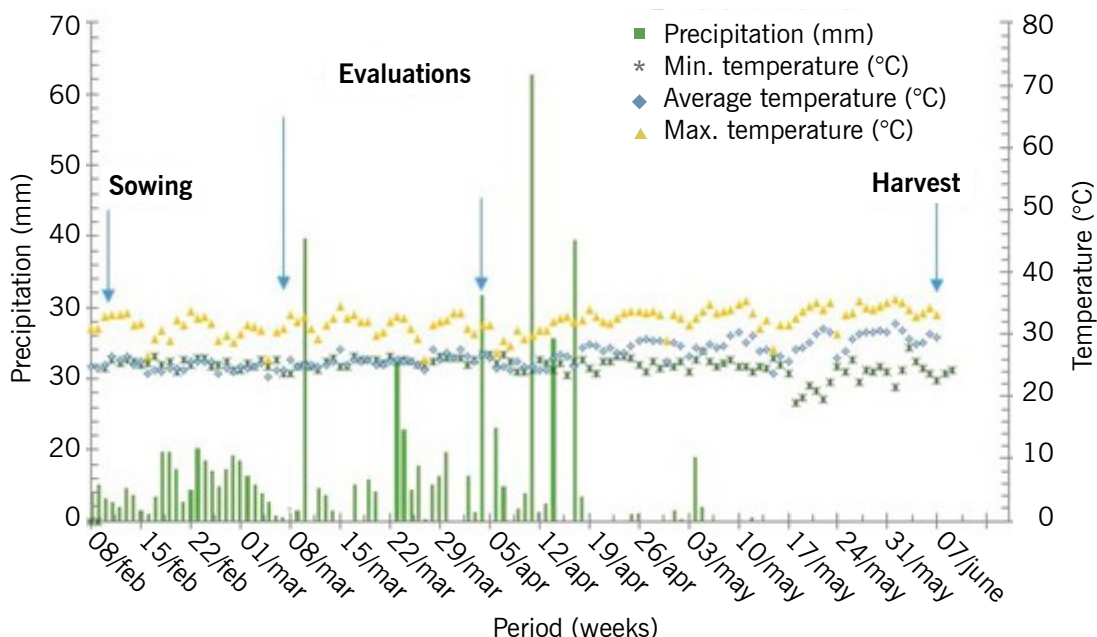
On the sowing day, glyphosate application was carried out, using the commercial product Roundup WG at the dose of 1.5 kg ha⁻¹ and a fungicide application based on epoxiconazole 160 g L⁻¹ and pyraclostrobin 260 g L⁻¹, at the dose of 0.25 L ha⁻¹.

The meteorological data of the rainfall, average temperature, maximum and minimum temperature were obtained through the UFMT station of Sinop, in the period between February 8, 2019 and June 7, 2019, the time which the single-crosses remained in the field (FIGURE 1).

The first evaluations conducted in the experiment took place at the beginning of the reproductive period, at the R2 stage (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003), on April 1st, 2019, in six plants of the useful plot. It was determined the plant height (PH) in meters with the aid of a graduated measuring tape, obtaining the measures from the plant neck, near the soil, until the flag leaf. The stem diameter (SD) was obtained with the aid of a pachymeter measuring the diameter in millimeters at 5 cm above the soil level. For obtaining the foliar area index (FAI) in meter square, four plants per plot were collected, as close to the ground as possible. After the removal, the plants were taken to the UFMT nursery and, with the aid of a foliar area integrator LICOR[®] model LI-3010, it was determined the foliar area index. To evaluate the chlorophyll index on the leaves (CLO), the values were collected

with the aid of a manual chlorophyll meter, ClorofiLOG® (model CFL-1030) by the company Falker. This tool estimates the chlorophyll level by indirect way, by reading the Soil Plant Analysis Development (SPAD) units, taking the data from the below and opposite leaf of the first ear. The SPAD readings obtained by the chlorophyll meter points proportional values of chlorophyll at the leaves are calculated based on the quantity of light transmitted and absorbed through the leaf in two wave lengths with different chlorophyll absorbances (ARGENTA *et al.*, 2001).

Figure 1 – Data of temperature and rainfall during the period of February 8, 2019 until June 7, 2019. Data obtained from the UFMT meteorological station of Sinop/MT.



Source: Elaborated by authors (2019).

The harvest was carried out by hand, on June 7, 2019, when the grains had approximately 160 g kg^{-1} of moisture and the ears were at the R6 reproductive stage (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003). As morphological character for harvesting, we observed the dark layer at the base of the grains. The grains threshing took place on a manual corn thresher Bottini® brand. After threshing, to standardize the yield determination, the grains had the moisture corrected to 130 g kg^{-1} of water and the initial grain moisture was determined by a direct method, in an air-forced greenhouse, at $105 \text{ }^\circ\text{C}$, for 24 hours. Next, with all the ears grains, the grain yield was determined in kg plot^{-1} in Filizolla® scale brand, and then converted to kg ha^{-1} . For the yield components evaluated in this work, it was used 6 ears from each plot, before the threshing, from which we evaluated the number of grain rows (NR) and the number of grain per row (NG), by counting. After the plots were threshed with the aid of a manual corn thresher with subsequent counting and determination of thousand-grain weight (M1000).

The data obtained were submitted to variance analysis at the level of 5 % probability by the F test, with the aid of SISVAR software (FERREIRA, 2011). After the F test ($p > 0.05$) from variance analysis, the means were compared by the Scott Knott test (SCOTT; KNOTT, 1974).

Results and discussion

The rainfall occurred in 120 days in which the crop remained on the field was 495.8 mm, divided in the months: February: 112.2 mm; March: 170.8 mm; April: 199.6 mm; and May: 13.2 mm, without any rain at the end of May and beginning of June (FIGURE 1). The rainfall and temperatures that occurred during the maize crop cycle favored high yields, without water stress and it was not a limiting factor for yield. According to Ritchie, Hanway, and Benson (2003), at the egg number definition and ear size (V12), the water and nutrient deficiency can seriously decrease the potential number of seeds and ear size, hence the grain yield. To Albuquerque and Resende (2010), medium cycle single-cross, with the objective of grain production, requires from 380 mm to 550 mm of water.

The maize growth and development characteristics, as plant height, foliar area, stem diameter, and chlorophyll, differed among the single-crosses (TABLE 1).

Table 1 – Means of the variables plant height (PH) in meters, total Falker chlorophyll index (CLO), stem diameter (SD) in millimeters, and foliar area index (FAI) in meter square from the single-crosses.

Single-cross	Variables analyzed			
	PH (m)	CLO (Falker®)	SD (mm)	FAI (m ²)
Syn 522	1.76 b	55.52 a	21.26 a	0.9610 a
NS45	1.97 a	54.64 a	22.08 a	1.1200 a
2B433	1.90 a	53.76 a	21.53 a	0.9981 a
DKB 255	1.99 a	52.58 a	20.81 a	1.0026 a
DKB 335	1.83 b	47.35 b	19.44 b	0.8395 b
C.V.(%)	5.35	4.07	5.35	10.36

* The means followed by the same letter in the columns do not differ among them at the level of 5 % probability by the Scott-Knott test (1974).

Source: Elaborated by authors (2019).

For plant height, the single-cross NS 45, 2B433, and DKB 255 reached the highest values, regardless of the fertilization used. According to Lucas (2016), the plant height is closely linked to grain yield, pointing out that the taller the plant the higher the yield, corroborating the results of NS 45 and DKB 255, which presented the highest plant height and great grain yield.

The chlorophyll level at the tasseling stage obtained in this work varied from 47.35 to 55.22 among the single-crosses, from which the single-cross DKB 335 presented the lower value. The average value of the total chlorophyll index was 53 units SPAD, similar to what was obtained by other authors at the maize R2 stage (Argenta *et al.*, 2001; Amaral Filho *et al.*, 2005; Fiorini *et al.*, 2017). The chlorophyll meter provides a fast and practical measure to check efficiently the N level on the leaves, being an efficient parameter for inferring about the nutritional status of the crops (ARGENTA *et al.*, 2001).

The stem diameter varied from 19.84 mm to 22.08 mm, in which the single-cross DKB 335 presented the lowest value. The stem diameter is of most importance for maize because it is where the sugars are stored, and in the reproductive period, they are moved to the reproductive parts of the

plant, and so to grain filling (Magalhães *et al.*, 2002). The foliar area index varied from 0.8395 m² to 1.1200 m², from which the single-cross DKB 335 presented the lowest value.

The characteristics of plant height, stem diameter, and foliar area did not differ when analyzed the sources of fertilizers on side-dress, only the chlorophyll index showed significant differences (TABLE 2). Those results corroborate Civardi *et al.* (2011) who verified that those factors did not have any effect on the urea application. The provision of N on side-dress with urea or UREMAX increased the levels of chlorophyll. Rodrigues *et al.* (2018) also verified differences in treatments with or without urea, confirming the precept that N application on side-dress is essential, regardless of the source. Still, according to the authors, despite the higher values with urease inhibitor application, there were no significant differences, a result that is different of what was found in this study, in which the chlorophyll levels showed a higher value with UREMAX application.

Table 2 – Means of the variables plant height (PH) in meters, chlorophyll index (CLO), stem diameter (SD) in millimeters, and foliar area index (FAI) in meter square as a function of N sources on side-dress fertilization.

Sources of N:	Variables analyzed			
	PH (m)	CLO (Falker [®])	SD (mm)	FAI (m ²)
Without N	1.84 a	49.54 c	20.64 a	0.9319 a
Urea	1.91 a	53.46 b	20.97 a	10043 a
Uremax [®]	1.92 a	55.30 a	21.45 a	1.0165 a
C.V.(%)	5.35	4.07	7.36	10.36

* The means followed by the same letter in the columns do not differ among them at the level of 5 % probability by the Scott-Knott test (1974).

Source: Elaborated by authors (2019).

The mean yield components, like the number of grains per row, number of grain rows, thousand-grain weight, and grain yield differed among the single-crosses (TABLE 3).

Table 3 – Means of the variables number of grains per row (NG), number of grain row (NR), thousand-grain weight (M1000), and grain yield (GY) in the maize single-crosses.

Single-cross	Variables analyzed			
	NG	NR	M1000 (g)	GY (kg ha ⁻¹)
2B433	32.83 c	16.24 a	334.65 b	7,211.35 b
DKB255	29.58 d	16.20 a	363.55 a	8,583.61 a
DKB335	32.10 c	15.44 b	325.53 b	7,881.79 a
NS45	36.51 a	15.24 b	332.90 b	8,011.31 a
SYN522	34.28 b	15.11 b	322.45 b	6,843.55 b

* The means followed by the same letter in the columns do not differ among them at the level of 5 % probability by the Scott-Knott test (1974).

Source: Elaborated by authors (2019).

The number of grains per row varied from 32.83 to 36.51 and the single-cross NS 45 presented the highest value, being that result close related to the greater amount of grains on the ear. The single-crosses DKB 255 and 2B433 reached the highest values of the number of grain rows, leading to understanding that the use of N in these single-crosses was more efficient. When the N supply is not enough during the stage of tassel differentiation, it may cause a lower number of eggs at the ear beginnings and reduced number of grains, besides that, a Boron and Calcium deficiency can lead to losses in pollination, because those nutrients are essential in the stigma composition (ERNANI *et al.*, 2005).

For thousand-grain weight, the single-cross DKB 255 was superior with 363.55 g, as well as high grain yield means with 8,583.61 kg ha⁻¹ (139.99 bags ha⁻¹). Because of that, it is probably that DKB 255 has a larger N extraction and usage of it. Thousand-grain weight is important because it is a direct factor to explain the yield, demonstrating which treatment had the most relevance to fill the grain. After all, around 75 % of the absorbed N is translocated to the grain (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003), but this factor is dependent on extraction and exportation to the grain. The grain yields were superior for the single-crosses DKB 255, NS 45, and DKB 335, with means of 8,583.61, 8,011.31, and 7,881.79, respectively.

Concerning N sources on side-dress, there were differences for the number of grain row and grain yield, in which the source UREMAX was superior to conventional urea and witness with 338 g and 8,424.35 kg ha⁻¹, respectively. For the number of grains per row and thousand-grain weight, there were no differences among the N sources on side-dress (TABLE 4).

Table 4 – Means of the variables number of grains per row (NG), number of grain row (NR), thousand-grains weight (M1000), and maize grain yield (GY).

Sources of N:	Variables analyzed			
	NG	NR	M1000 (g)	GY (kg ha ⁻¹)
Uremax®	32.68 a	16.05 a	338.82 a	8,424.35 a
Urea	33.58 a	15.58 b	337.59 a	7,703.55 b
Without N	32.92 a	15.30 b	331.05 a	6,991.07 c
C.V.(%)	5.60	4.42	4.62	11.68

* The means followed by the same letter in the columns do not differ among them at the level of 5 % probability by the Scott-Knott test (1974).

Source: Elaborated by authors (2019).

According to Sousa *et al.* (2017), the application of coated urea provides an increase in the number of grain rows of about 1.9 % regarding conventional urea, data that corroborate the results presented here. This character is defined on the V8 stage, evidencing a possible decrease in N loss and making available this element, resulting in a larger number of rows (CARMO *et al.*, 2012). The number of rows is defined on the V8 stage (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003), therefore, it needs a proper N supply like the one in this experiment, since side-dress fertilization was carried out in that time. Some single-crosses needs larger N levels to respond, justifying the difference between them (FORNASIERE FILHO, 2007).

Kappes and Silva (2016) obtained average increases of 7.6 % on grain yield with the N application, compared to the witness without N on side-dress, regardless the urea source used.

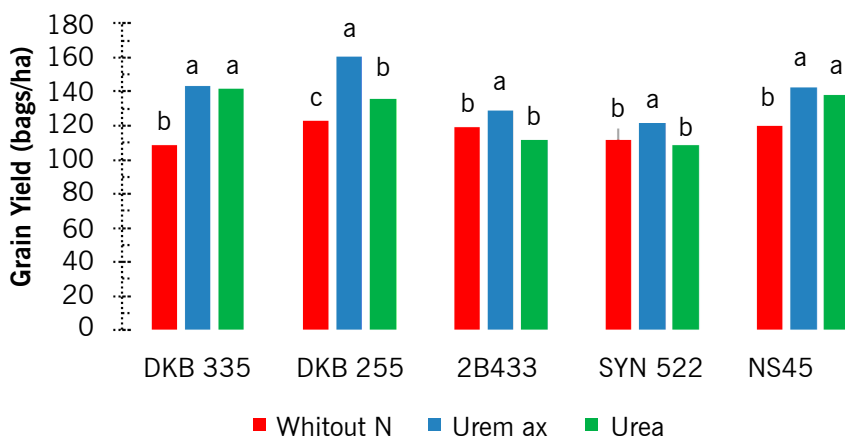
Kappes *et al.* (2009) observed significant increases in grain yield with the application of 70 kg ha⁻¹ of N, regardless of the source used.

Rodrigues *et al.* (2018) verified that urea supply is beneficial to the maize even in years of favorable climatic conditions, obtaining gains of 31 % on the yield on the treatment with urea and urease inhibitor, Super N®. As well as the climatic conditions mentioned before favored the maize development in this study, it is also clear the high yield of the witness treatment, for which it should be noted that 40 kg ha⁻¹ of N was applied at sowing, but no side-dress fertilization was carried out, still its yield is in the same average values of the ones with N application on side-dress (RESENDE *et al.*, 2018).

Analyzing the unfolding interaction, we verify that the single-crosses responded differently to the urease inhibitor usage, but they all presented gains on yield in comparison to the witness treatment. The urea provided similar values to the urea with inhibitor at the single-crosses NS 45 and DKB 335. Mota *et al.* (2015) stated that different urea sources did not have any effect on yield, but the two single-crosses cited had a great final yield, demonstrating highly responsive to side-dress fertilization, independently of the source.

Fração *et al.* (2014) found that usage of urea treated with the addition of NBPT reached an increase of 13 bags ha⁻¹ when compared to common urea and an increase of 23 bags ha⁻¹ regarding the witness, demonstrating a possible decrease in N loss by volatilization, hence, higher levels of N available to the plants. In the present work, the single-cross DKB 255 reached the highest values of yield with urea treated with NBPT. The gain compared to common urea was of 24 bags ha⁻¹ and 37 bags ha⁻¹ regarding the witness (FIGURE 2).

Figure 2 – Means of single-crosses for the variable grain yield in bags ha⁻¹ as a function of sources of N. Inside every single-cross, the sources followed by the same letter do not differ among them at 5 % probability by the Scott-Knott test (1974).



Source: Elaborated by authors (2019).

The most outstanding single-cross was the DKB 255 which reached 160 bags ha⁻¹ (9,600 kg ha⁻¹) with the usage of urea and UREMAX on side-dress, about 31 % higher than the witness and with gains of 18 % compared to common urea (FIGURE 2). That difference in yield can be explained by the probable decrease on urea volatilization rates, according to Guelfi (2017), who verified a reduction of 79 % in urea volatilization when treated with a urease inhibitor. It should be noted that

two days after the side-dress fertilization, which happened on March 8, 2019, there was a rainfall of 40 mm, facilitating the fertilizers incorporation into the soil and reducing their losses.

Conclusions

The N supply on side-dress fertilization in the conditions of this work, using as source urea with urease inhibitor, increased the fertilization efficiency and raised the grain yield in 2019.

The single-crosses DKB 255, 2B433, and SYN 522, with the UREMAX treatment, reached the best results when compared to only urea usage. The single-cross DKB 255 stood out, reaching the highest average grain yield.

Desempenho de híbridos de milho safrinha em função de fontes de ureia na adubação de cobertura

Resumo

O nitrogênio é o elemento mais demandado pela cultura do milho e também o que sofre as maiores perdas devido a seu manejo inadequado, principalmente quando se utiliza a ureia como fonte do elemento. Objetivou-se com este trabalho avaliar a eficiência de fontes de ureia, com ou sem inibidor de urease, na adubação de cobertura de híbridos comerciais em milho safrinha em Sinop/MT. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial 3 x 5, com três repetições. O primeiro fator consistiu em três adubações de cobertura: testemunha (sem aplicação de adubo); adubação com 250 kg ha⁻¹ de ureia e adubação com 250 kg ha⁻¹ de ureia com a presença do inibidor de urease (UREMAX[®]) NBPT. O segundo fator foram cinco híbridos de milho: 2B433, DKB255, DKB335, NS45 e o SYN522. Avaliaram-se características de desenvolvimento vegetativo e de produtividade. As fontes de nitrogênio não afetam a altura de plantas, diâmetro de colmo e índice de área foliar, apenas o teor de clorofila nas folhas. Para os componentes de produtividade, há efeitos das adubações no número de fileiras de grãos e na produtividade. Os híbridos diferem entre si nas características de desenvolvimento vegetativo e de produtividade. A aplicação em cobertura de nitrogênio, nas condições do estudo e utilizando como fonte ureia com inibidor de urease, aumentou a eficiência da adubação e elevou a produtividade nos híbridos de milho. Os híbridos DKB 255, 2B433 e SYN 522, com o tratamento com UREMAX[®], atingiram as maiores produtividades.

Palavras-chave: *Zea mays* L. Clorofila. Área foliar. Volatilização. Componentes de produtividade

References

ALBUQUERQUE, P. E. P.; RESENDE, M. **Cultivo do milho: manejo de irrigação**. 2010. Disponível em: <https://goo.gl/tn2uNQ>. Acesso em: 15 jun. 2019.

AMARAL FILHO, J. P. R.; FORNASIERI FILHO, D.; FARINELLI, R.; BARBOSA, J. C. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 29, n. 1, p. 467-473, 2005.

ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F.; BORTOLINI, C. G.; FORSTHOFER, E. L.; STRIEDER, M. L. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 2, p. 158-167, 2001.

BERGAMASCHI, H.; MATZENAUER, R. **O milho e o clima**. Porto Alegre: Emater/RS-Ascar, p. 11, 2014.

CARMO, M. S.; CRUZ, S. C. S.; SOUZA, E. J. de; CAMPOS, L. F. C.; MACHADO, C. G. Doses e fontes de nitrogênio no desenvolvimento e produtividade da cultura de milho doce. **Bioscience Journal**, v. 28, p. 223-231, 2012.

CIVARDI, E. A.; SILVEIRA NETO, A. N. D.; RAGAGNIN, V. A.; GODOY, E. R.; BROD, E. Uréia de liberação lenta aplicada superficialmente e ureia comum incorporada ao solo no rendimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 1, p. 52-59, 2011.

COELHO, A. M.; RESENDE, Á. V. **Exigências nutricionais e adubação do milho safrinha**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira de grãos: Oitavo levantamento**. 8 ed. Brasília, 2019.

ERNANI, P. R.; SANGOI, L.; LECH, V. A.; RAMPAZZO, C. A forma de aplicação da uréia e dos resíduos vegetais afeta a disponibilidade de nitrogênio. **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 360-365, 2005.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cagro/v35n6/a01v35n6.pdf>. Acesso em: 18 jul. 2019.

FIORINI, I. V. A.; VON PINHO, R. G.; PEREIRA, H. D.; PIRES, L. P. M.; FIORINI, F. V. A. E RESENDE, E. L. Dry matter accumulation, chlorophyll and sulfur leaf in corn fertilized with different sulfur sources. **Journal Bioenergy and Food Science**, v. 4, n. 1, p. 1-11, 2017.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. Jaboticabal: Funep, 2007. 576 p.

FRAZÃO, J. J.; SILVA, Á. R. D.; SILVA, V. L. D.; OLIVEIRA, V. A.; CORRÊA, R. S. Fertilizantes nitrogenados de eficiência aumentada e ureia na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 12, p. 1262-1267, 2014.

GUELFY, D. Fertilizantes nitrogenados estabilizados, de liberação lenta ou controlada. **Informações agrônomicas IPNI**, v. 157, n. 19, p. 1-32, 2017.

IFA - International Fertilizer Industry Association. **Nutrient Management Handbook**, 2016. Disponível em: <http://www.fertilizer.org/>. Acesso em: 20 maio 2019.

KAPPES, C.; CARVALHO, M. A. C. de; YAMASHITA, O. M.; SILVA, J. A. N. da. Influência do nitrogênio no desempenho produtivo do milho cultivado na segunda safra em sucessão à soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, n. 3, p. 251-259, 2009.

KAPPES, C.; SILVA, R. G. Fontes e doses de nitrogênio no cultivo do milho safrinha em sucessão à soja. **Enciclopédia Biosfera**, v. 13, n. 23, p. 646–659, 2016.

LUCAS, F. T. **Efeitos da ureia com inibidores de nitrificação e urease na cultura do milho**. 2016. 60 f. Tese (Doutor em Agronomia – Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista – UNESP *Campus* de Jaboticabal, 2016.

MAGALHAES, P. C.; DURAES, F. O.; CARNEIRO, N. P.; PAIVA, E. **Fisiologia do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, Circular Técnica, 22. 23 p. 2002.

MOTA, M. R.; SANGOI, L.; SCHENATTO, D. E.; GIORDANI, W.; BONIATTI, C. M.; DALL'IGNA, L. Fontes estabilizadas de nitrogênio como alternativa para aumentar o rendimento de grãos e a eficiência de uso do nitrogênio pelo milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 2, p. 512–522, 2015.

RESENDE, A. V.; BORGHI, E.; GONTIJO NETO, M. M.; ABREU, S. C.; SANTOS, F. C. dos; COELHO, A. M. Manejo de nutrientes no cultivo de milho segunda safra na região do cerrado. **Revista Plantio Direto**, v. 166, 2018.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Como a planta de milho se desenvolve. **Informações agrônomicas**, v. 103, p. 1-19, 2003.

RODRIGUES, F. J.; BARCAROL, M. A.; ADAMS, C. R.; KLEIN, C.; BERWANGER, A. L. Eficiência agrônômica da cultura do milho sob diferentes fontes de nitrogênio em cobertura. **Uniciências**, v. 22, n. 2, p. 66, 2018.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA V. A. de; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A. de; CUNHA, T. J. F.; OLIVEIRA, J. B. de. **Sistema brasileiro de classificação dos solos**. 3 ed. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 353 p.

SCIVITTARO, B. W.; GONÇALVES, D. R. N.; VALE, M. L. C do; RICORDI, V. G. Perdas de nitrogênio por volatilização de amônia e resposta do arroz irrigado à aplicação de ureia tratada com o inibidor de urease NBPT. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 6, p. 1283-1289, jun., 2010.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, p. 507-512, 1974.

SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E., eds. **Cerrado: Correção do solo e adubação**. Planaltina, Embrapa Cerrados, 2004.

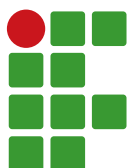
SOUZA, A. P.; MOTA, L. L.; ZAMADEI, T.; MARTIN, C. C.; ALMEIDA, F. T., PAULINO, J. Classificação climática e balanço hídrico climatológico no estado de Mato Grosso. **Nativa**, v. 1, p. 34-43, 2013.

SOUZA, D. S.; LIMA, S. F.; CADORE, E.; DAVID, C. H. O.; SANTOS, O. F. Aplicação de ureia revestida e produtos foliares no milho safrinha. **Nucleus**, v. 14, n. 1, 2017.

TASCA, F. A.; ERNANI, P. R.; ROGERI, D. A.; GATIBONI, L. C.; CASSOL, P. C. Volatilização de amônia do solo após a aplicação de ureia convencional ou com inibidor de urease. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 2, 2011.

Received: March 16, 2020

Accepted: July 9, 2020



The spatiality of the soybean crop water deficit in Jales and Andradina microregions, state of São Paulo

Kamila Cristina de Credo Assis¹

Maria Clara Lelles Moreira Begueline²

João Victor Costa³

Fernando Braz Tangerino Hernandez⁴

Abstract

Knowledge about soil water availability for future planning is the basis for carrying out its rational use. This work aimed to study the spatiality of water precipitation, crop evapotranspiration, and the need for water supplementation in soybean cultivation in the microregions of Jales-SP and Andradina-SP for the summer harvest. The water balance was determined by the Thornthwaite and Mather (1955) method, with data made available by the Agrometeorological Stations Network operated by the Hydraulics and Irrigation area of UNESP Ilha Solteira. We considered an available water capacity (AWC) of 40 mm. The study took place from the simulation of the water condition of a soybean crop sown on November 4, 2020. In the water deficit condition, the actual evapotranspiration (ET_a) was considered null at a 20 % deficit, and the other values followed the same mathematical proportion. The mean rainfall of the period, crop evapotranspiration, and water deficit of each weather station were interpolated through ordinary circular kriging in ArcGIS 10.7 software. The water deficit in the soybean crop in the northwest region of São Paulo is related to the poor distribution of precipitation during the cycle and the significant recurrence of Indian summers all through the area. For the producers' safety, investment in irrigation systems anticipating this poor distribution is justified. The water deficit in the region is variable. In years with good rainfall distribution, it can reach zero values, and in years with poor distribution, it can reach values greater than 180 mm.

Keywords: Water Balance. Irrigation. Kriging. Northwest of the state of São Paulo.

Introduction

Soybean (*Glycine max* L.) is the main crop of Brazilian agribusiness, with a cultivated area of approximately 35.8 million hectares producing 115 million tons per harvest. In the state of São Paulo, grain production reaches 10 million tons (CONAB, 2020).

Water availability is the main challenging factor for soybean yield. However, most soybean crops in the world are carried out under the rainfed system. Due to the expansion of the Brazilian agricultural frontier in recent years, oilseeds are already being cultivated in regions with rainfall limitations through water supplementation carried out via irrigation system (MONTROYA; PINTOS; OTERO, 2017).

1 Universidade de São Paulo (USP). Doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Sistemas Agrícolas. kamila.assis@usp.br

2 Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP). Doutorando no Programa de Pós-Graduação em Irrigação e Drenagem. mariaclara_begueline@hotmail.com

3 UNESP. Doutorando no Programa de Pós-Graduação em Irrigação e Drenagem. jv.costa@unesp.br

4 UNESP – Campus Ilha Solteira. Professor Titular da Área de Hidráulica e Irrigação. fernando.braz@unesp.br

All water that is infiltrated by vegetated soil is subjected to evapotranspiration, which is the sum of the water lost by evaporation and plant transpiration. Water loss to the atmosphere by transpiration seems to be an inevitable consequence of photosynthesis in the terrestrial environment. Carbon gas (CO₂) absorption is coupled to water loss via a common diffusion route: as CO₂ diffuses into the leaves, water vapor diffuses outward (TAIZ *et al.*, 2017).

Accurate crop evapotranspiration (ET_c) estimates, which quantify the total water used by a crop, are necessary to optimize irrigation scheduling for vegetable crops and minimize water degradation (VENTURA *et al.*, 2000). Deficient or excessive irrigation can undermine production and interfere negatively with the use of the agricultural technique of supplying water to crops when it is unable to extract the resource of actual available water from the soil (ADR) (SANTOS, HERNANDEZ; ROSSETTI, 2010; CARVALHO *et al.*, 2015).

Reference evapotranspiration (ET_o) is known as the rate at which water would be removed from the soil surface and a specific, well-nourished, healthy, and moist plant (JENSEN; BURMAN; ALLEN, 1990). The ET_o concept was developed to study the evaporative power of the atmosphere regardless of culture and management. Penman-Monteith FAO is the most accepted and recommended model in the literature (ALLEN *et al.*, 1998; BARROS *et al.*, 2009).

From ET_o it is possible to calculate crops water demand by multiplying their values by the cultivation coefficient (K_c) of the crop in question. K_c is the ratio between the potential crop evapotranspiration and the reference evapotranspiration (ET_c/ET_o) and varies according to the plants' climatic and physiological conditions, thus, varying in time and space (ALLEN; PEREIRA, 2009).

Northwest São Paulo is the region with the highest reference evapotranspiration in the state of São Paulo. The rainfall season there is between November and March, with a water deficit during the remaining seven months (HERNANDEZ *et al.*, 2003; SANTOS, HERNANDEZ; ROSSETTI, 2010). According to Avilez *et al.* (2018), the irregular sequential distribution of rainfall - due to the Indian summers - has been one of the limiting factors to the more significant development and stabilization of the agricultural production in the region.

With the advancement of information technology and the advent of geotechnologies, the more global, regional, and local meteorological information there is, the higher the possibility of agricultural planning success. Geotechnologies made it possible to associate any kind of information, but especially agrometeorological information, with geographic space through satellite images and aerial photographs, the Global Positioning System (GPS) and Geographic Information Systems (GIS) (VOLPATO; ALVES; VIEIRA, 2008).

In this sense, this study aimed to perform the spatiality of precipitation, crop evapotranspiration, and the need for water supplementation in soybean cultivation in the microregions of Jales-SP and Andradina-SP for the summer harvest.

Materials and methods

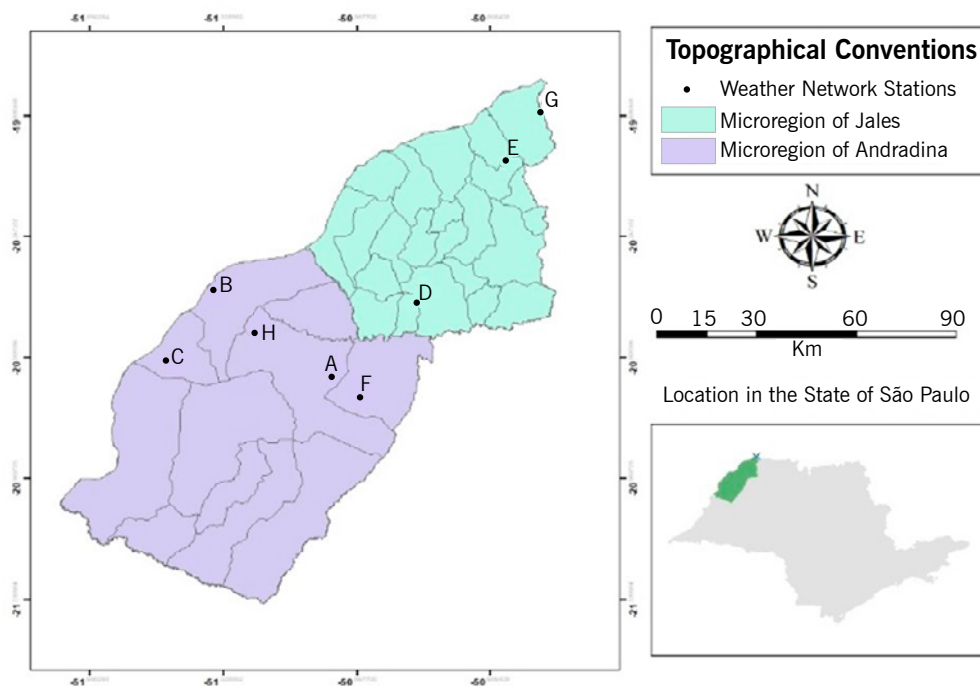
To obtain information about precipitation, water demand, and need for supplementary irrigation for the crops, we used data from eight climatological stations belonging to the Agrometeorological Network of Northwest São Paulo monitored by the Hydraulics and Irrigation area of the São Paulo State University "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) Ilha Solteira Campus. We selected the stations based on the availability of daily climate data and their spatial distribution, and adopted historical series with daily data, with a base period ranging from 2012 to 2019. Table 1 presents the stations used and Figure 1 shows their spatial distribution.

Table 1 – Agrometeorological Network of Northwest São Paulo monitored by the Hydraulics and Irrigation area of UNESP Ilha Solteira Campus. Ilha Solteira, 2019.

Stations	Municipality	Latitude°	Longitude°	Altitude (m)
A. Bonança	Pereira Barreto	-20.6731	-51.0339	357
B. Ilha Solteira	Ilha Solteira	-20.4234	-51.3536	337
C. Itapura	Itapura	-20.6411	-51.4750	335
D. Marinópolis	Marinópolis	-20.4465	-50.8073	370
E. Paranapuã	Paranapuã	-20.0246	-50.5659	436
F. Santa Adélia Pioneiros	Sud Mennucci	-20.7283	-50.9597	350
G. Populina	Populina	-19.8796	-50.4704	394
H. Santa Adélia	Pereira Barreto	-20.5283	-51.2494	426

Source: UNESP (2019).

Figure 1 – Spatial distribution of meteorological stations of Agrometeorological Network of Northwest São Paulo monitored by the Hydraulics and Irrigation area of UNESP Ilha Solteira Campus - Andradina-SP and Jales-SP microregions. Ilha Solteira, 2019.



Source: Elaborated by the authors (2020).

The climate of the region used in the study was classified as Aw type, according to Köppen, with an annual average temperature of 24.5 °C, average annual precipitation of 1,232 mm, and average relative humidity of 64.8 % (HERNANDEZ *et al.*, 1995).

The study started with the simulation of the hydric condition of a soybean crop sown on November 4, 2020, at the coordinates highlighted in Table 1. The choice of planting date took into account the historical average precipitation, since the soil during the previous months presents a higher water deficit making it impossible to establish the crop in dryland. The cultivar used was AS 3610, which has a cycle of 121 days in the region, according to the manufacturer Agroeste® (2017).

ET_o was obtained using the Penman-Monteith equation (Eq. 1) parameterized by FAO (ALLEN *et al.*, 1998), whose input data came from the weather stations described above.

$$ET_o = \frac{0,408\Delta(Rn - G) + \gamma \frac{900}{T + 273} U_2 (e_s - e_a)}{\Delta + \gamma (1 + 0,34U_2)} \quad (1)$$

In which:

- ET_o - Reference evapotranspiration (mm day⁻¹);
- Rn - Net radiation on the crop surface (MJ m⁻² day⁻¹);
- G - Soil heat flux (MJ m⁻² day⁻¹);
- T - Average air temperature at 2 m height (°C);
- U₂ - Wind speed at 2 m height (m s⁻¹);
- e_s - Saturation vapor pressure (kPa);
- e_a - Actual vapor pressure (kPa);
- e_s - e_a - Vapor pressure deficit (kPa);
- Δ - Pending vapor pressure curve (kPa °C⁻¹);
- γ - Psychrometric constant (kPa °C⁻¹).

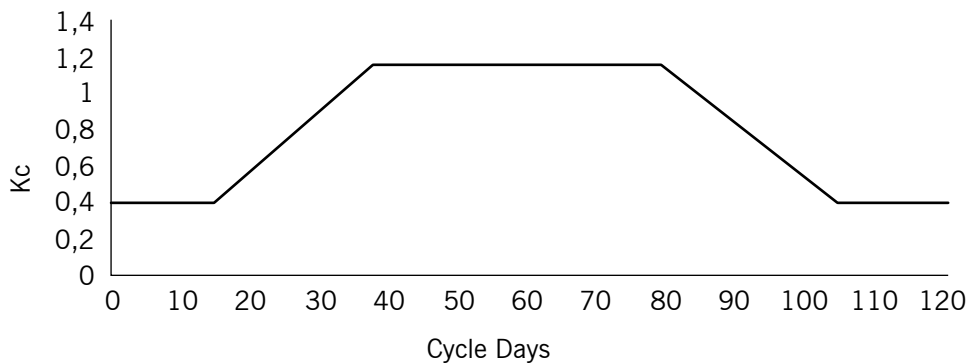
The daily water balance was performed according to a methodology adapted from Thornthwaite and Mather (1955) considering the total crop cycle, available water capacity (AWC) of 40 mm (1.0 mm cm⁻¹ and 0.4 m of effective depth of the root system) - predominant in Argisols in the region, the historical average rain for each day and crop evapotranspiration (ET_c) estimated by the product between ET_o and K_c, according to Eq 2. The crop coefficients (K_c) of soybean used in the calculation of crop evapotranspiration (ET_c) were those indicated by FAO Bulletin 56 for the tropics (FIGURE 2) (ALLEN *et al.*, 1998).

$$ET_c = ET_o * K_c \quad (2)$$

In which:

- ET_c = Crop evapotranspiration;
- ET_o = Reference evapotranspiration;
- K_c = Culture coefficient.

Figure 2 – Crop coefficient (K_c) indicated for the calculation of evapotranspiration of soybean crop in the tropics.



Source: Adapted from Allen *et al.* (1998).

In the AWC, we also considered a 20 % increment coefficient resulting from gravitational water that can be infiltrated and suffer evapotranspiration when precipitation was higher than the soil retention capacity. The actual available water (AAW) adopted was the interval between the field capacity and 50 % of the AWC, i.e. 20 mm.

The actual evapotranspiration (ETa) was considered null at a 20 % water deficit, and when the deficit was less than 20 %, the ETa was calculated through mathematical proportionality. The need for water supplementation was determined as the difference between the actual total evapotranspiration of the potential crop evapotranspiration (Eq. 3).

$$DEF = ETC - ETR \quad (3)$$

In which:

DEF = Water Deficit;

ETc = Crop evapotranspiration;

ETa = Actual crop evapotranspiration.

The mean precipitation rate, crop evapotranspiration, and need for water supplementation of the period obtained through the daily water balance of each weather station were interpolated through ordinary circular kriging in ArcGIS 10.7 software (ESRI, 2019).

Results and discussion

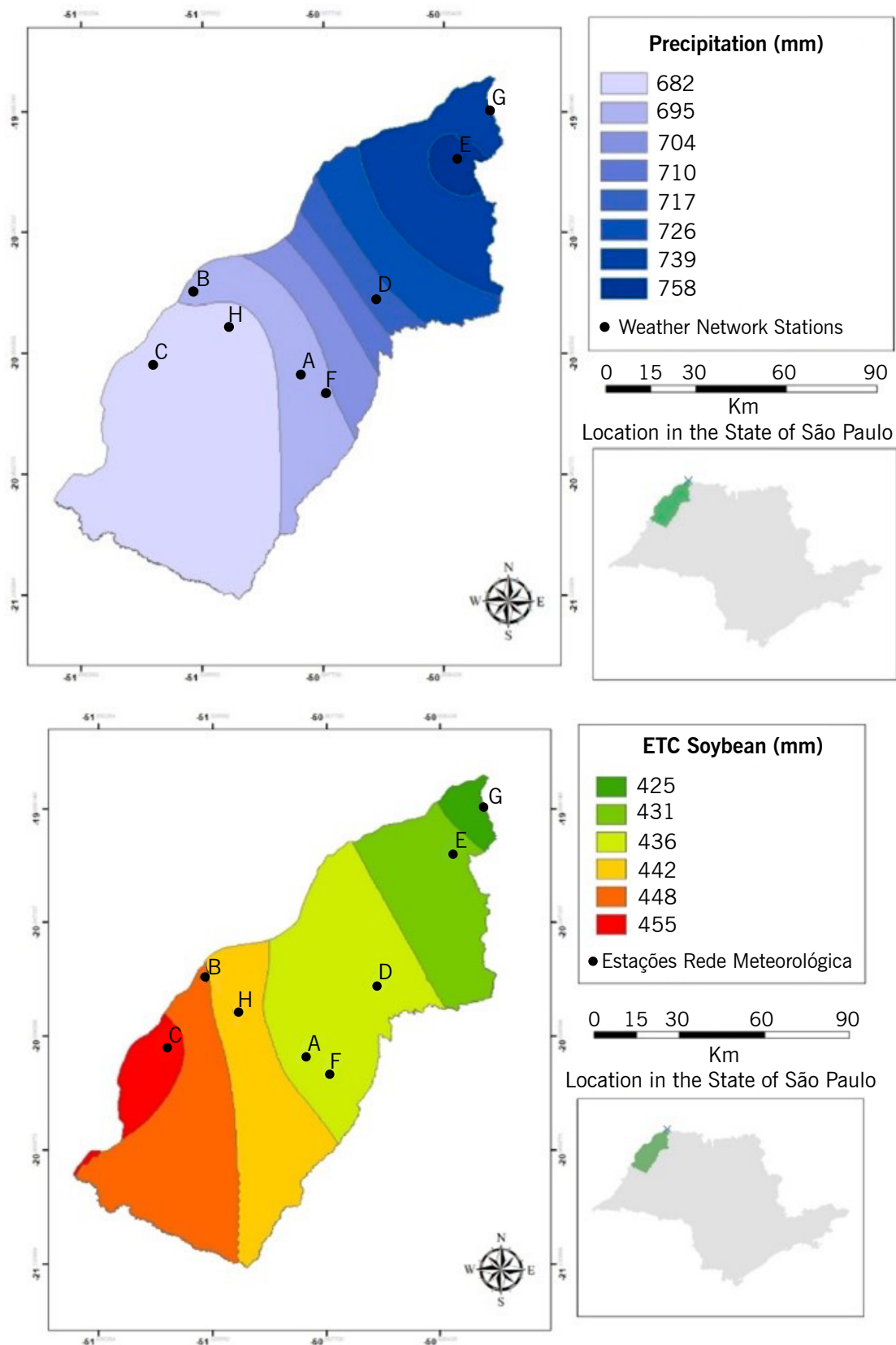
Figure 3 shows the interpolation of average rainfall and crop evapotranspiration throughout the soybean cycle according to all weather stations with average data (2012-2019).

The difference between the rainfall rate of the portion with the highest range and the lowest range of rainfall rate was 76.2 mm. The region comprised of Populina-SP and Paranapuã-SP stations, north of the Jales-SP microregion, presented the highest averages. In contrast, the Itapura-SP region, located in the central portion of the Andradina-SP microregion, presented the lowest averages. A similar result was obtained by Silva *et al.* (2012), who evaluated the precipitation during 2011 in the northwest of São Paulo and found the highest averages in Populina-SP and Paranapuã-SP regions, and the lowest averages in Pereira Barreto-SP and Itapura-SP regions.

The difference between the rainfall rate of the portion with the highest range and the lowest range of rainfall rate was 29.3 mm. The region with the highest crop evapotranspiration comprised the Itapura-SP region. The region with the lowest value was to the north, in the Jales-SP microregion, close to the municipality of Populina-SP. Similar results were found by Americo *et al.* (2014), who evaluated the mean Eto of the microregions during 2012 and 2013, finding the highest values in Itapura-SP and the lowest in the Populina-SP region.

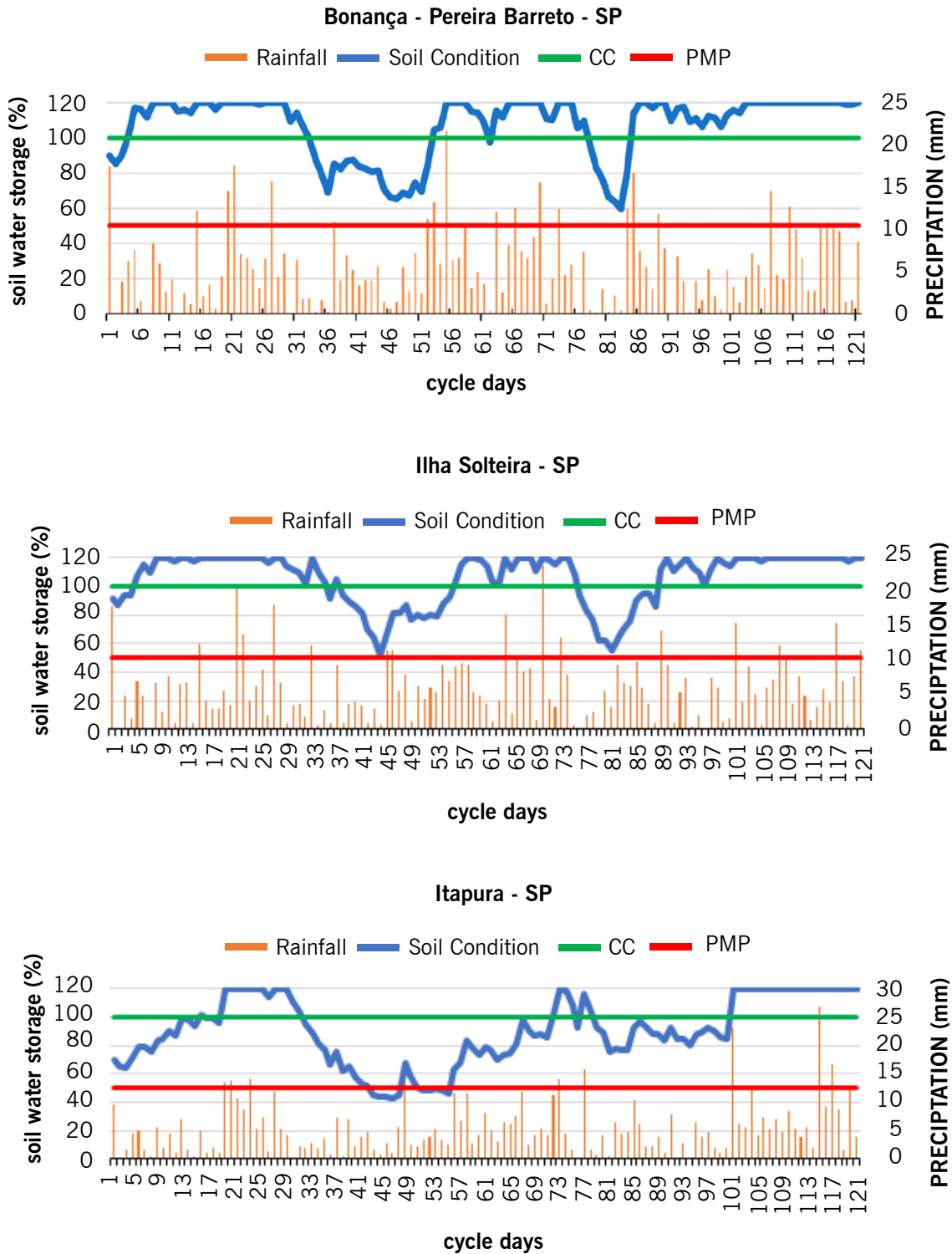
The precipitation all through the region analyzed was higher than the demand for evapotranspiration. In this case, we could routinely infer that there is no water deficit. However, although the total amount of water is higher than the demand, precipitation may not occur at the appropriate time when the crop needs it. As we carry out the daily water balance, we can observe that deficits occur even when precipitation exceeds crop evapotranspiration. Figure 4 shows the prediction of water stored in the soil during soybean cultivation obtained through water balance.

Figure 3 – Precipitation and crop evapotranspiration during soybean cultivation (04-11 to 03-03) for Jales-SP and Andradina-SP microregions (2012-2019).



Source: Elaborated by the authors (2020).

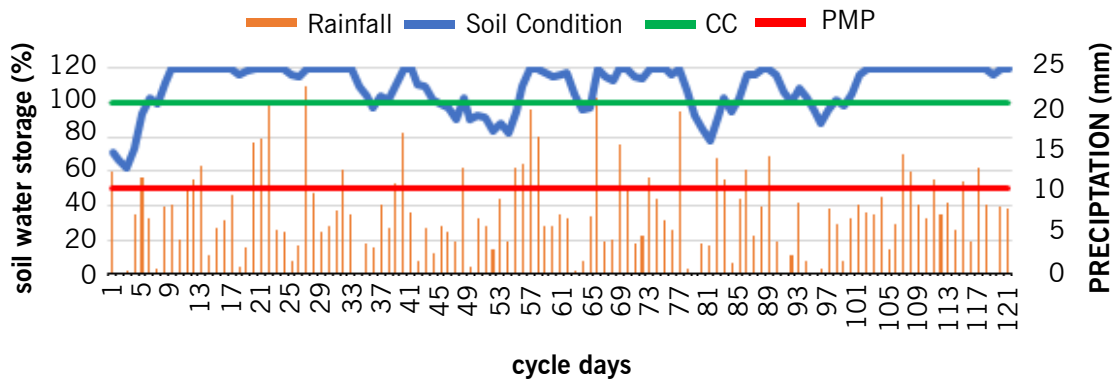
Figure 4 – Daily water balance (2012-2019) during soybean cultivation according to meteorological stations of Agrometeorological Network of Northwest São Paulo.



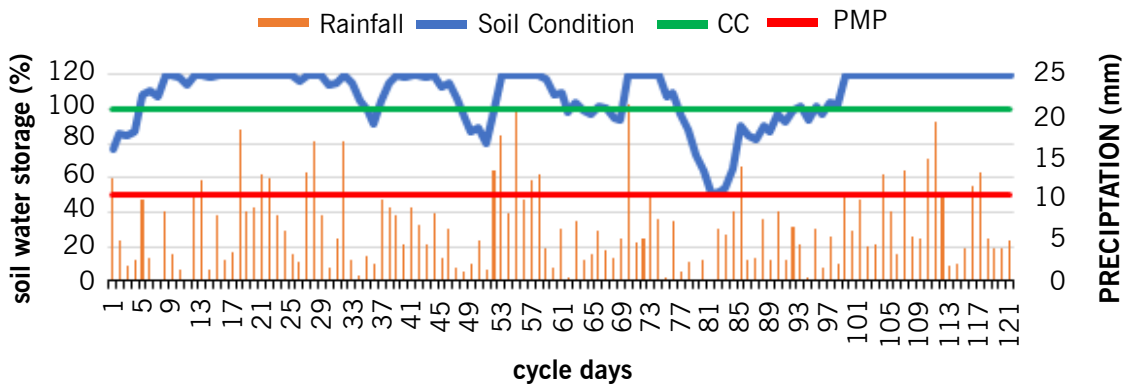
(continue...)

(Continuation)

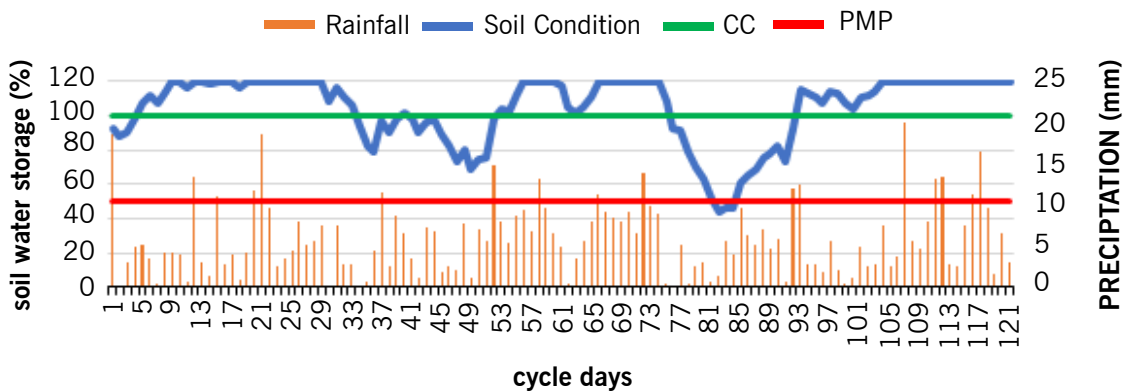
Marinópolis - SP



Paranapuã - SP

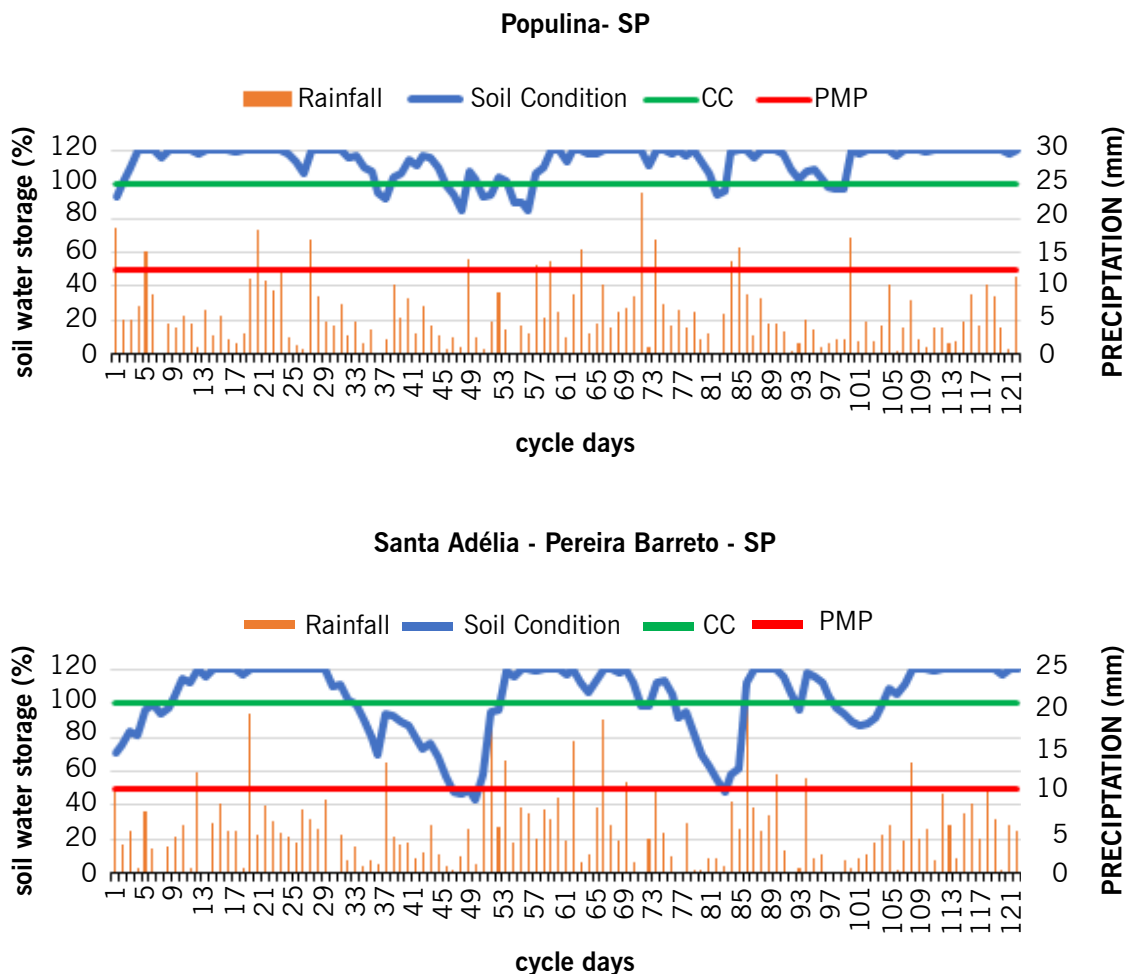


Sud Mennucci - SP



(continue...)

(Continuation)



Source: Elaborated by the authors (2020).

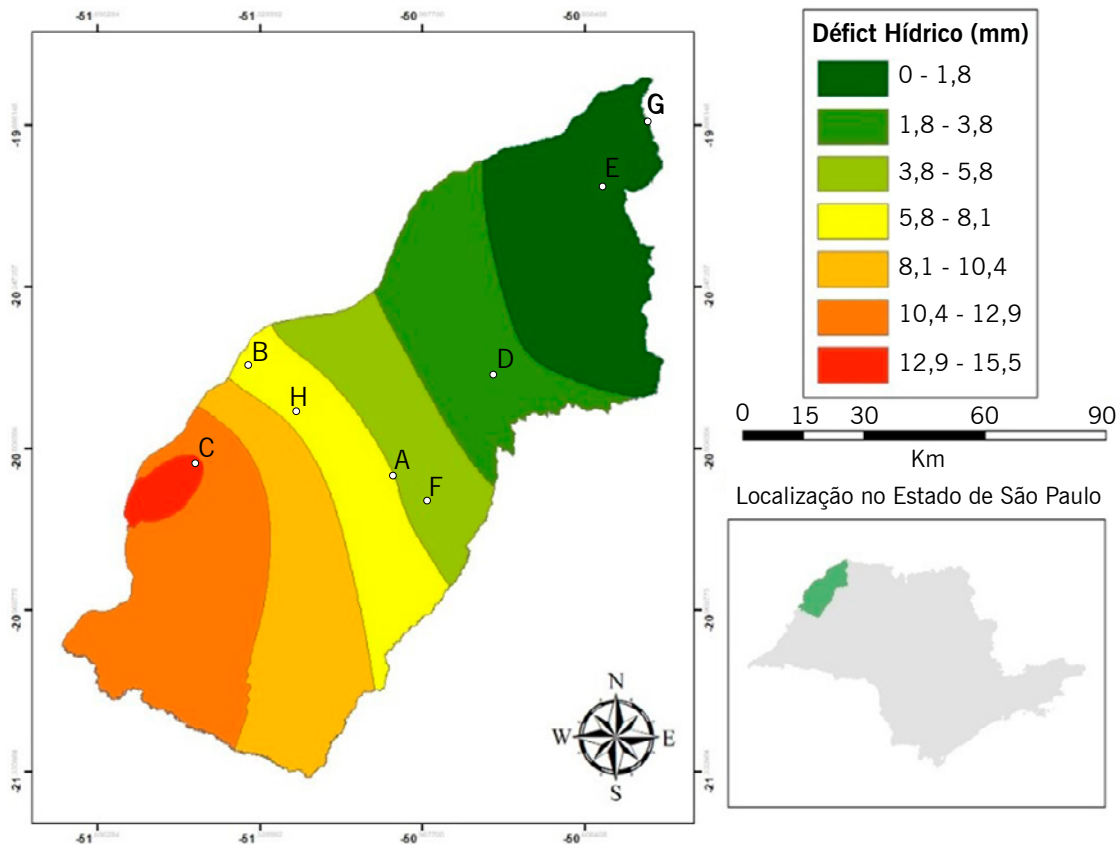
In Ilha Solteira-SP and Marinópolis-SP, there is not even a day of water deficit for the soybean crop. This result agrees with Damião *et al.*'s (2010) findings. Performing the water balance between 2000-2010 for Ilha Solteira-SP with AWC of 40 mm, they did not find a water deficit in the region between November and March. However, we noticed that the large decrease in actual available water during the month of January for these municipalities might be due to frequent Indian summers in the region. According to Silva *et al.* (2012), the irregular precipitation sequential distribution - due to the Indian summers - has been a challenging factor for more significant development and stabilization of the agricultural production in the region.

In Paranapuã-SP and Populina-SP, the weather stations, the crop did not suffer any water stress, and the actual available water was close to the field capacity. Considering that the region had the highest rainfall index and the lowest evapotranspiration index, we believe it may not suffer water stress during the summer harvest.

For Itapura-SP, there was a water deficit in two periods. In Santa Adélia-SP (H) and Pereira Barreto-SP and Sud Mennucci, the deficit was isolated in a period ranging from December to January. According to Pereira (2017), water is the most challenging climate element for soybean cultivation today. Variability in water availability during the crop development period is the primary constraint to

the expression of soybean yield potential, regardless of the crop cycle, sowing season, and location. The water deficit during the end of December and the beginning of January can generate large losses in soybean productivity because it is usually then that the most critical phenological stages of summer crops occur, technically justifying irrigation in the region in a complementary manner. Figure 5 shows the spatialization of the water deficit.

Figure 5 – Need for water supplementation (2012-2019) during soybean cultivation for Jales-SP and Andradina-SP microregions.

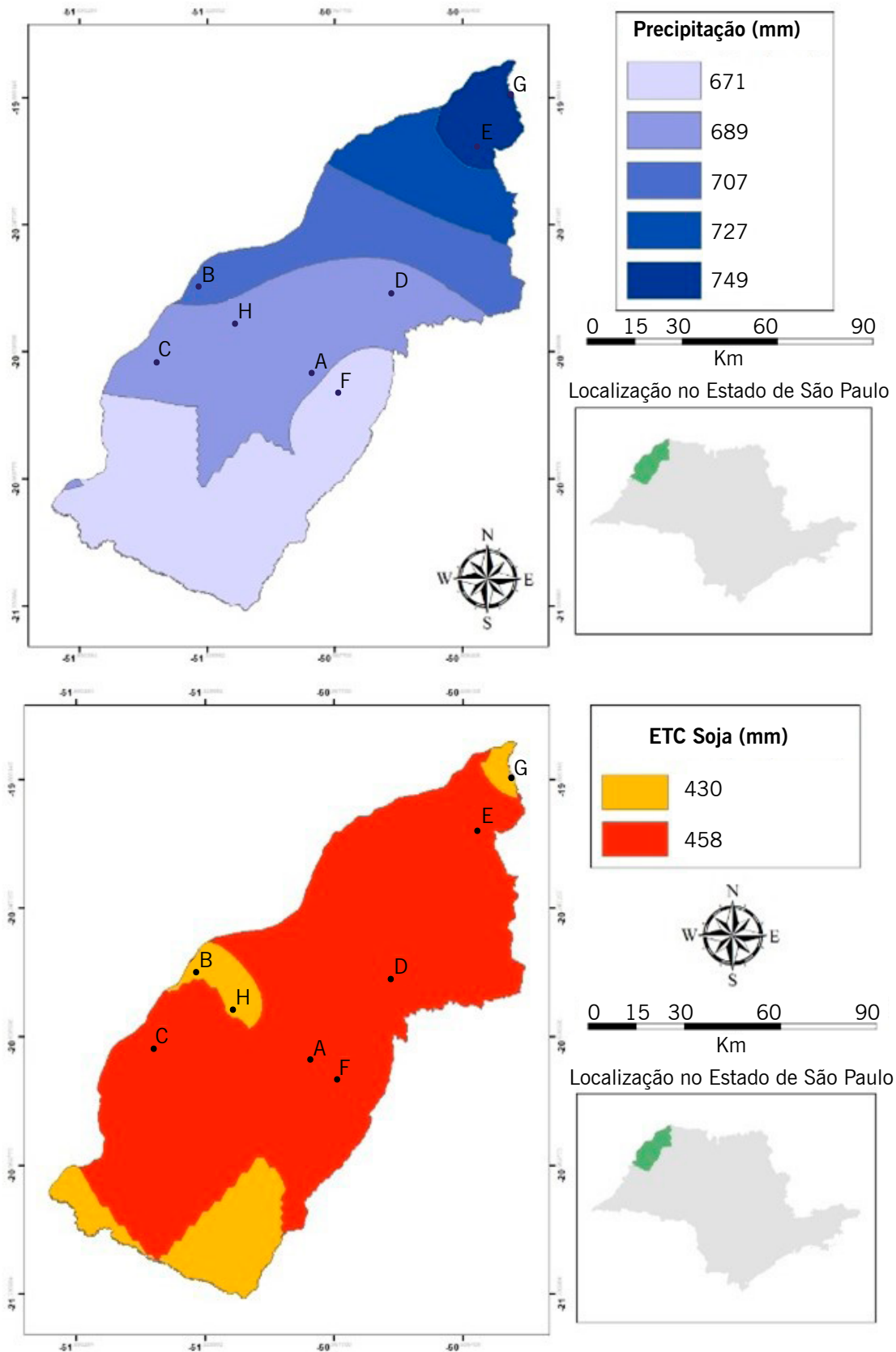


Source: Elaborated by the authors (2020).

Itapura-SP region has the highest water deficit. Jales-SP microregion presented the smallest. This deficit is mainly associated with short Indian summers during summer that can limit the productivity of many rainfed farmers. As we go southeast, there is a significant increase in the water deficit. This water deficit found by the average of the last seven years is insufficient to justify investment in an irrigation system.

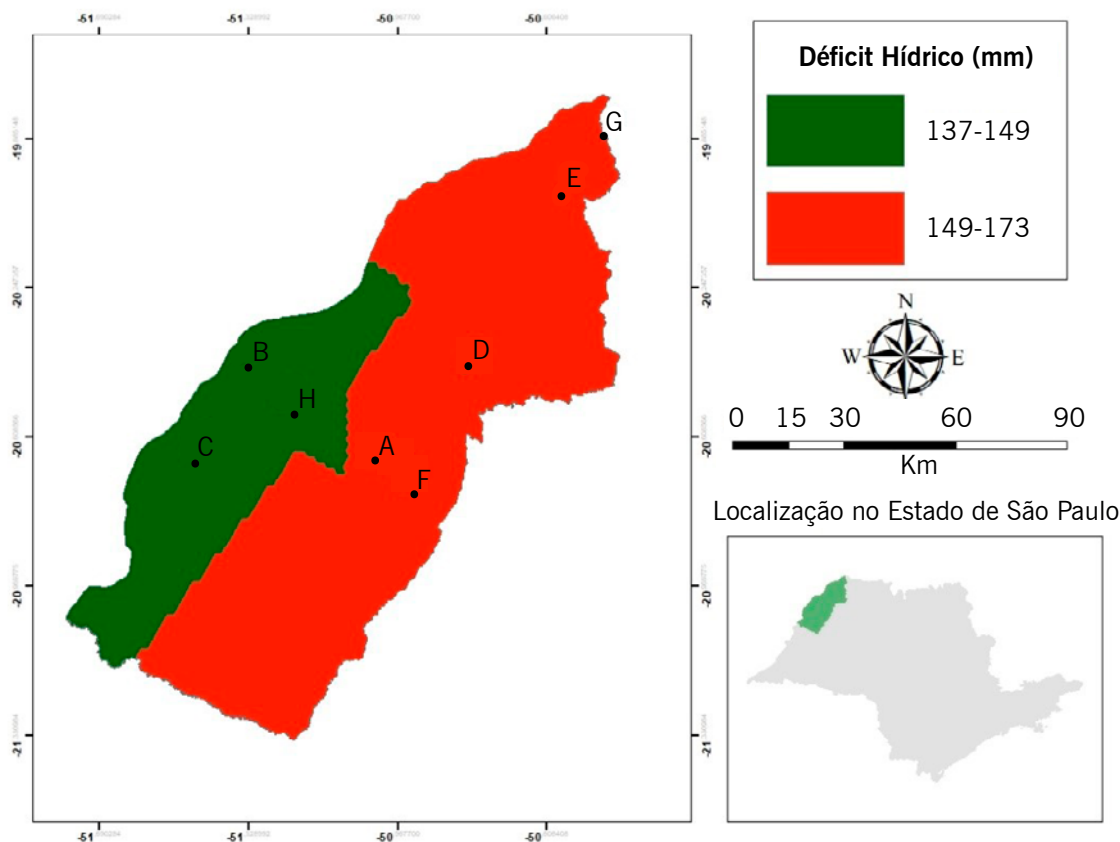
However, when we evaluated the agricultural year alone (2018-2019) (FIGURE 6), we found a much more critical condition than that evidenced with the series (2012-2019).

Figure 6 – Rainfall, crop evapotranspiration, and water deficit during soybean cultivation for Jales-SP and Andradina-SP (2018-2019) microregions.



(continue...)

(Continuation)



Source: Elaborated by the authors (2020).

There was no significant difference for evapotranspiration and total precipitation during the cycle between the last harvest and the average data of the previous seven years. Again, the deficits occurring in the region occur over the days, and it is necessary to carry out the daily water balance to find the deficit that the crop presents during the cycle. We interpolated the daily deficit data for the 2018-2019 crop water deficit map.

We observed the appearance of very high values in the last harvest when compared to the averages of the last years. The water deficit was so high during the previous harvest that it would be impossible not to have productivity losses all over the region. Ilha Solteira-SP, Itapura-SP, and Santa Adélia-SP showed the lowest deficits (137 to 149), and the rest of the region behaved uniformly within the range between 149 mm and 173 mm. According to Schutze *et al.* (2012), water deficit can be observed in the northwest of São Paulo both in the rainy season and in the dry season due to the high rate of evapotranspiration in the region and very irregular rainfall regime. This irregularity is related to distribution and not the amount of rain. Those irregularities result in increased risk for cultivation, due to the distribution of rainfall during the crop cycle being limiting production, when in unsatisfactory values for them (MARINI *et al.*, 2012).

Due to this yearly variation in precipitation distribution and consequently increased climatic risk for the agricultural activity, the practice of irrigation as water supplementation becomes quite necessary, since one can no longer depend on a very variable rainfall regime to obtain a productive crop. Implementing irrigation reduces risks in the summer harvest and enables the adoption of 2.5 harvests per year, increases productivity per cycle, and increases the quality of the grain produced.

The microregions of Jales and Andradina behave in different ways. However, the results are homogeneous. The use of meteorological data and the Geographic Information System (GIS) enable the producer to decide considering the true climatic conditions that the soybean crop will present during the cycle.

Conclusions

The water deficit in the soybean crop in the northwest region of São Paulo is related to the poor distribution of precipitation during the cycle and the significant recurrence of Indian summers all through the area. For the producers' safety, investment in irrigation systems anticipating this poor distribution is justified.

The water deficit in the region is variable. In years with good rainfall distribution, it can reach zero values, and in years with poor distribution, it can reach values greater than 180 mm.

Acknowledgments

The authors thank CNPq for the master's scholarship granted to the first author and to the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) for the financial support in the implementation of the Rede Agrometeorológica do Noroeste Paulista (Process 2009/52467-4).

Espacialidade do déficit hídrico na cultura da soja nas microrregiões de Jales e Andradina, estado de São Paulo

Resumo

O conhecimento da disponibilidade da água no solo é a base para executar e planejar o uso racional. Assim, objetivou-se com o presente estudo a realização da espacialidade da precipitação, evapotranspiração da cultura e da necessidade de suplementação hídrica no cultivo da soja nas microrregiões de Jales/SP e Andradina/SP para a safra de verão. O balanço hídrico foi determinado a partir do método de Thornthwaite e Mather (1955) com dados disponibilizados pela Rede de Estações Agrometeorológicas operada pela Área de Hidráulica e Irrigação da UNESP Ilha Solteira. Foi considerada uma Capacidade de Água Disponível (CAD) de 40 mm. O estudo deu-se a partir da simulação da condição hídrica de uma lavoura de soja semeada no dia 4 de novembro de 2020. Na condição de déficit hídrico a Evapotranspiração Real (ETR) foi considerada nula na condição de 20 % de déficit e os demais valores seguiram a mesma proporção matemática. A precipitação média do período, a evapotranspiração da cultura e o déficit hídrico de cada estação meteorológica foi interpolado utilizando o software ArcGIS 10.7 por meio de krigagem ordinária de modelo circular. O déficit hídrico na cultura da soja na região Noroeste Paulista está relacionado à má distribuição da precipitação ao longo do ciclo e à grande recorrência de veranicos por toda a região. Para seguridade do produtor, o investimento em sistemas de irrigação prevendo essa má distribuição é justificado. O déficit hídrico na região é variável podendo chegar a valores nulos em anos com boa distribuição da precipitação e a valores superiores a 180 mm em anos com má distribuição.

Palavras-chave: Balanço Hídrico. Irrigação. Krigagem. Noroeste Paulista.

References

- AGROESTE. **Variedade de soja AS 3610 IPRO**. 2017. Página Inicial. Disponível em: <http://www.agroeste.com.br/variedades-de-soja/4/variedades-de-soja/51/as-3610-ipro>. Acesso em: 20 out. 2019.
- ALLEN, R. G.; PEREIRA, L. S.; RAES, D., SMITH, M. **Crop evapotranspiration: guidelines for computing crop water requirements**. Rome: FAO, 1998. 300p. Irrigation and Drainage Paper, 56
- ALLEN, R. G. PEREIRA, L. S. Estimating crop coefficients from fraction of ground cover and height. **Irrigation Science**, v. 28, n. 1, p. 17-34. 2009.
- AMERICO, I. B.; HERNANDEZ, F. B. T.; SILVA, Y. F.; TEIXEIRA, A. H. C. Precipitação e evapotranspiração de referência no noroeste paulista. IN: XXIV CONIRD - Congresso Nacional de Irrigação e Drenagem. 2014, **Anais...** Brasília, CONIRD, 2014. 6p.
- AVILEZ, A. M. A.; HERNANDEZ, F. B. T.; BISPO, R. C.; GIOVANELLI, L. B. Necessidade hídrica da cana-de-açúcar no Noroeste Paulista. **Irriga**, Botucatu, v. 1, n. 1, p. 171-188, 2018.
- BARROS, V. R.; SOUZA, A. P.; FONSECA, D. C.; SILVA, L. B. D. Avaliação da evapotranspiração de referência na Região de Seropédica, Rio de Janeiro, utilizando lisímetro de pesagem e modelos matemáticos **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 4, n. 2, p.198-203, 2009.
- CARVALHO, D. F.; ROCHA, H. S.; BONOMO, R.; SOUZA, A. P. Estimativa da evapotranspiração de referência a partir de dados meteorológicos limitados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, n. 1, p. 1-11, 2015.
- CONAB- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acomp. safra bras. grãos, v. 7 - Safra 2019/20 - n. 6 - Sexto levantamento, Brasília, p. 1-31 março, 2020.
- DAMIÃO, J. O.; HERNANDEZ, F. B. T.; SANTOS, G. O.; ZOCOLER, J. L. Balanço hídrico na região de Ilha Solteira, noroeste paulista. In: XX Congresso Nacional de Irrigação e Drenagem. 2010. **Anais ...** Uberaba - MG, CONIRD, 2010.
- ESRI. Environmental Systems Research Institute. **Interpolate shape**. Software 10.7. 2019. Disponível em: <http://desktop.arcgis.com/en/arcmap/latest/get-started/setup/arcgis-desktop-quick-startguide.html>. Acesso: 28 out. 2019.
- HERNANDEZ, F. B. T.; LEMOS FILHO, M. A. F.; BUZETTI, S. **Software HIDRISA e o balanço hídrico de Ilha Solteira**. Ilha Solteira: Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP - Área de Hidráulica e Irrigação, 1995. 45p.
- HERNANDEZ, F. B. T.; SOUZA, S. A. V.; ZOCOLER, J. L.; FRIZZONE, J.A. Simulação e efeito de veranicos em culturas desenvolvidas na região de Palmeira d'oeste, estado de São Paulo. **Engenharia Agrícola**, v. 23, n. 1, p. 21-30, 2003.
- JENSEN, M. E.; BURMAN, R. D.; ALLEN, R. G. **Evapotranspiration and irrigation water requirements**. New York: ASCE, 1990, 332p

MARINI, P.; MORAES, C. L.; MARINI, N.; MUNT DE MORAES, D.; AMARANTE, L. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de arroz submetidas ao estresse térmico. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 4, p. 722-730, 2012.

MONTOYA, F. C.; PINTOS, F.; OTERO, A. Effects of irrigation regime on the growth and yield of irrigated soybean in temperate humid climatic conditions. **Agricultural Water Management**, v. 193, p. 30-45, 2017.

PEREIRA, L. C. **O uso da água em Goiás, potencialidade, demanda para irrigação por pivôs centrais e perspectivas**. 2017. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.

SANTOS, G. O.; HERNANDEZ, F. B. T.; ROSSETTI, J. C. Balanço hídrico como ferramenta ao planejamento agropecuário para a região de Marinópolis, noroeste do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 4, n. 3, p. 142-149, 2010.

SILVA, Y. F.; HERNANDEZ, F. B. T.; FEITOSA, D. G.; TEIXEIRA, A. H. C.; BRUNINI, O. Análise das chuvas no noroeste paulista. IN: XXII CONIRD - Congresso Nacional de Irrigação e Drenagem. 2012, **Anais...** Cascavel, CONIRD, 2012. 6p.

SCHUTZE, I.; HERNANDEZ, F. B. T.; TEIXEIRA, A. H. C.; FEITOSA, D. G. CHUVA E EVAPOTRANSPIRAÇÃO NO NOROESTE PAULISTA EM 2012. IN: XXII CONIRD - Congresso Nacional de Irrigação e Drenagem. 2012, **Anais...** Cascavel, CONIRD, 2012. 6p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, M. I.; MURPHY, A. **Fisiologia Vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858p.

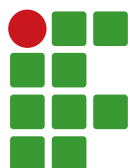
THORNTHWAITE, C. W.; MATHER, J. R. **The water balance**. Centerton, NJ: Drexel Institute of Technology - Laboratory of Climatology, 1955. 104p. (Publications in Climatology, vol. VIII, n.1).

VENTURA, F.; FABER, B. A.; BALI, M. K.; SNYDER, R.; SPANO, D.; DUCE, P.; SCHULBACK, K. F. Model for Estimating Evaporation and Transpiration from Row Crops. **Journal of Irrigation and Drainage Engineering**, v. 127, n. 6, 2001.

VOLPATO, M. M. L.; ALVES, H. M. R.; VIERIA, T. G. C. Geotecnologias aplicadas a meteorologia. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 29, n. 249, p. 1-10, 2008.

Received: April 18, 2020.

Accepted: August 4, 2020.



Fungicide management in the Asian soybean rust

Antonio Luiz Viegas Neto¹

Cristiano Márcio Alves de Souza²

Bruno Fernandes Bertoncetto³

Izidro dos Santos de Lima Junior⁴

Lígia Maria Maraschi da Silva Piletti⁵

Márcio Roberto Rigotte⁶

Abstract

Asian soybean rust is the major crop disease and the management of the use of the fungicide is important for effective control. The objective of this work was to evaluate the management of fungicides with sequential applications to control Asian soybean rust. The experimental design used was a randomized block with four replications and eight treatments with different combinations of fungicides from the following chemical groups: triazole, strobilurin, carboxamide, and dithiocarbamate. The applications were carried out with backpack spray equipment at constant pressure (CO₂) and a spray rate of 200 L ha⁻¹. The severity of rust, the area under the disease progress curve, control efficiency, mass of 1,000 grains, and productivity were evaluated. The protective fungicide mancozeb, in mixtures with systemic fungicides, were more effective for the control of Asian soybean rust than the systemic fungicides applied without the protective fungicide.

Keywords: Application technology. *Phakopsora pachyrhizi*. Mancozeb.

Introduction

The major disease of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] is the Asian rust caused by the fungus *Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow & Sydow, in which the first symptoms of the disease are small brown to dark brown lesions in the abaxial part of the leaves (GODOY *et al.*, 2018). In the field, the fungus infects the leaf tissue of a wide range of hosts, its uredospores are released by an ostiole in the uredia (GOELLNER *et al.*, 2010).

In favorable climatic conditions, Asian rust can cause damages that can vary from 10 % to 90 % of production (HARTMAN *et al.*, 2015). The favorable climatic conditions for *P. pachyrhizi* are temperatures of 15 °C to 25 °C and a minimum of six hours of leaf wetness (NASCIMENTO *et al.*, 2018; EMBRAPA, 2011).

1 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul (IFMS). Professor EBTT. antonio.viegas@ifms.edu.br.

2 Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Professor associado. csouza@ufgd.edu.br.

3 IFMS. Engenheiro Agrônomo. brunobertoncello@gmail.com.

4 IFMS. Professor EBTT. izidro.lima@ifms.edu.br.

5 IFMS. Professor EBTT. ligia.piletti@ifms.edu.br.

6 IFMS. Professor EBTT. marcio.rigotte@ifms.edu.br.

According to Weirich *et al.* (2013), genetic resistance is the most effective and economical way to prevent damage caused by diseases in cropped plants. As there are no soybean cultivars resistant to Asian rust due to the great variability of the pathogen, disease control is difficult (NEVES; BLUM, 2013).

The use of fungicide becomes an efficient alternative for the control of the disease (GODOY *et al.*, 2018). The application of more than one group of fungicides, with different modes of action, improves the control of the disease and prolongs the useful life of the fungicides (NASCIMENTO *et al.*, 2018). The use of fungicides with the same mode of action creates a great risk of selecting resistant populations of the pathogen (FRAC, 2010).

The difficulty in controlling soybean rust with fungicides is becoming increasingly evident since the high adaptability and variability of the fungus has been evidenced (SCHMITZ *et al.*, 2014). The resistance, less sensitivity of the *P. pachyrhizi* fungus to fungicides in the group of demethylation inhibitors (DMI), quinone outside inhibitors (QoI), and succinate dehydrogenase inhibitors (SDHI) has already been confirmed in Brazil (SCHMITZ *et al.*, 2014; KLOSOWSKI *et al.*, 2016; SIMÕES *et al.*, 2018).

The adaptation of *P. pachyrhizi* to fungicides and its ability to overcome resistance genes show that no single solution will be able to maintain the sustainability of the crop (GODOY *et al.*, 2016). It is necessary to develop strategies to ensure economic control of the disease, to achieve maximum yield and profitability.

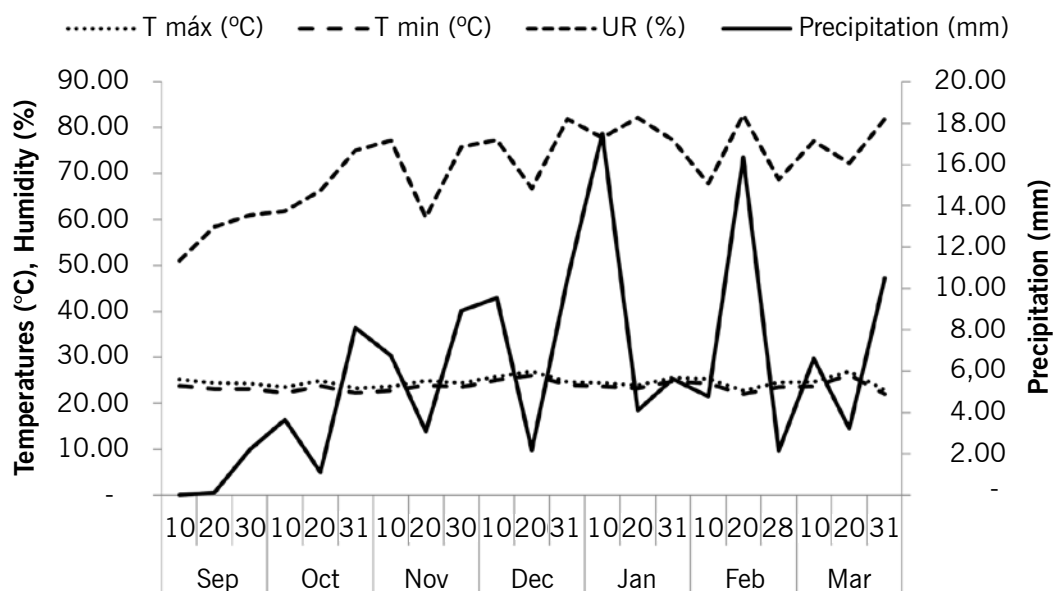
The use of fungicides with multi-site action is an important strategy that can contribute to reverse the decrease in sensitivity to systemic fungicides. Fungicides with a greater spectrum of action, such as mancozeb, can be allies in controlling soybean rust (GULLINO *et al.*, 2010). There are reports of the use of this activity to increase the action spectrum of control programs containing site-specific fungicides (GODOY *et al.*, 2018).

In this context, the objective of this work was to evaluate the management of fungicides with sequential applications for the control of Asian soybean rust.

Material and methods

The experiment was developed in the 2018/2019 harvest at the Federal Institute of Education, Science and Technology of Mato Grosso do Sul, Ponta Porã/MS campus, located on BR 463 highway, km 14, at 755 m of altitude. The climatic conditions of the period are shown in Figure 1. The experimental area was prepared to adapt to the physical, chemical, and biological conditions of the soil to the soybean crop, and the basic fertilizations were made according to the soil analysis and the recommendations for the crop in the region. It was used spacing between lines of 0.45 m, soybean cultivar M6410, a stand of 13 plants per meter, and a final population of 290,000 plants per hectare.

The experimental design was a randomized block with 4 replications, 7 treatments with fungicide applications + 1 control without application (TABLE 1). The plots had 8 sowing lines of 5 meters length and a useful area of 5.4 m². The applications were carried out a backpack spraying equipment at constant pressure (CO₂) equipped with a 3-meter nozzle bar, with AIXR 110015 spray tips, the pressure at the bar set at 350 kPa, and spray volume of 200 L ha⁻¹.

Figure 1 – Rainfall, maximum and minimum temperatures, and relative humidity during the soybean crop cycle, in the 2018/2019 harvest in Ponta Porã/MS.

Source: INMET (2019).

Table 1 – Application periods by Fehr and Caviness's (1977) scale and the treatments used in the experiment. Ponta Porã/MS, 2021.

Treatments	Application period		
	V8	R1	R4
T1	Control	-	-
T2	trifloxystrobin + prothioconazole ²	azoxystrobin + benzovindiflupir ¹	azoxystrobin + cyproconazole ¹
T3	-	azoxystrobin + benzovindiflupir ¹	azoxystrobin + cyproconazole ¹
T4	-	picoxystrobin + cyproconazole ¹	picoxystrobin + cyproconazole ¹
T5	azoxystrobin + ciproconazol ¹ + mancozeb	azoxystrobin + benzovindiflupir ¹	picoxystrobin + cyproconazole ¹
T6	trifloxystrobin + prothioconazole ²	azoxystrobin + benzovindiflupir ¹ + mancozeb	picoxystrobin + cyproconazole ¹ + mancozeb
T7	trifloxystrobin + prothioconazole ² + mancozeb	azoxystrobin + benzovindiflupir ¹ + mancozeb	picoxystrobin + cyproconazole ¹ + mancozeb
T8	-	azoxystrobin + benzovindiflupir ¹ + mancozeb	azoxystrobin + ciproconazol ¹ + mancozeb

¹Addition of Nimbus 0.5 L ha⁻¹; ²adition of Aureo 0.5 L ha⁻¹.

Source: Elaborated by the authors (2021)

Weekly monitoring was carried out to detect Asian soybean rust through collections of 30 trifoliums from the lower and middle third of the crop. The first application was performed on December 20, 2017, phenological stage V8, in a preventive manner, without detecting the disease. The second application was carried out on January 04, 2018, phenological stage R1, in which the first signs of the disease appeared, and the third application was carried out on January 20, 2018, phenological stage R4. From the first application of the fungicide, weekly collections of 10 trefoils were removed from the lower and middle thirds of the plants in each plot. The severity of the disease, the area under the disease progress curve (AUDPC), the mass of 1,000 grains, and the yield (kg ha^{-1}) were evaluated.

The severity of Asian rust was assessed by determining the percentage of leaf area with symptoms of the disease, using the scale proposed by Godoy *et al.* (2006). The evaluations were performed at 0, 7, 14, 21, 28, and 35 days after the first application of the fungicide. Using the severity data from the last evaluation, the control efficiency (%) of the fungicides was determined, according to Godoy *et al.* (2018).

Based on the data on the severity of the disease, the progress curve and the determination of the area under the disease progress curve (AUDPC) were constructed, calculated from the methodology proposed by Campbell and Madden (1990):

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) \cdot (t_{i+1} - t_i) \quad (1)$$

In which,

AUDPC – area below the disease progress curve;

y_i – disease proportion in the i^{th} observation;

t_i – time in days in the i^{th} observation;

n – total number of observations.

The harvesting of soybeans was performed by manual removal of all plants present in an area of 5.4 m^2 , and then the threshing was carried out. After threshing, the grains were packed in paper bags, and properly identified and stored for later manual cleaning and moisture determination. The samples were weighed and the value converted to 13 % humidity, the results expressed in kg ha^{-1} . The 1,000-grain mass was obtained from three random samples of grains from each experimental plot.

The data were submitted to the normality test, using the Ryan-Joiner test, at 1 % probability. Analysis of variance was performed compared by the F test at 5 % probability. The comparisons between means were performed using the test of Tukey, at 5 % probability. Cluster analysis was applied using the Ward method with the similarity measure given by the Euclidean distance, to group the treatments with fungicide applications, defining the cut distance equal to 50 % of the maximum Euclidean distance.

Results and discussion

Soybean rust was first detected in the experimental area on January 04, 2018, phenological stage R1. The climatic condition is a determining factor for the appearance of soybean rust, the survival of uredospores is greatly affected by temperature and relative humidity, uredospores exposed to temperatures above $40 \text{ }^\circ\text{C}$ and relative humidity between 12 % to 20 %, proved to be unfeasible

after 4 to 6 hours (NASCIMENTO *et al.*, 2018). In the work carried out by Twizeyimana and Hartman (2010), spores on leaves maintained at 25 °C, with 34 % relative humidity, survived for only 15 h. Table 2 shows the summary of the analysis of variance. A significant effect of treatments was observed for AUDPC, the mass of 1,000 grains, and productivity.

Table 3 shows the results of severity, percentage of control, and AUDPC.

Table 2 – Summary of analysis of variances for the percentage of severity (SEV), the area under the disease progress curve (AUDPC), the mass of 1,000 grains g (M1000), and the grain yield kg ha⁻¹ (YIELD) in the crop soybean, 2018/2019 harvest. Ponta Porã/MS, 2021.

FV	Sev	AUDPC	M1000	YIELD (kg ha ⁻¹)
Block	0.92	21.0	45.2	649,782.9*
Tret	0.99	46.7**	216.4*	750,720.2**
Residue	0.72	11.4	63.3	163,914.3

^{ns} non-significant, **, * Significant at 1 % and 5 % probability by the F test, respectively.

Source: Elaborated by the authors (2021)

Table 3 – Disease severity, efficiency in control (%), and area under the disease progress curve (AUDPC) for each fungicide treatment in soybean crop, 2018/2019 harvest. Ponta Porã/MS, 2021.

Treatments	Severity	Control	AUDPC
T1	1.8 A	-	14.5 A
T2	0.7 A	63.9	5.2 B
T3	0.9 A	49.9	8.9 AB
T4	1.3 A	29.7	7.9 AB
T5	0.5 A	70.6	5.2 B
T6	0.4 A	79.6	4.6 B
T7	0.5 A	75.6	3.8 B
T8	0.9 A	49.6	7.5 AB
CV (%)	76.1	-	36.5

* Means followed by the same letter in the columns are not statistically different by the test of Tukey at 5 % probability.

T1 - Control without fungicide;

T2 - trifloxystrobin + prothioconazole at V8, azoxystrobin + benzovindiflupir at R1, azoxystrobin + cyproconazole at R4;

T3 - azoxystrobin + benzovindiflupir at R1, azoxystrobin + cyproconazole at R4;

T4 - picoxystrobin + cyproconazole at R1, picoxystrobin + cyproconazole at R4;

T5 - azoxystrobin + cyproconazole + mancozeb at V8, azoxystrobin + benzovindiflupir at R1, azoxystrobin + cyproconazole at R4;

T6 - trifloxystrobin + prothioconazole at V8, azoxystrobin + benzovindiflupir + mancozeb at R1, picoxystrobin + cyproconazole + mancozeb at R4;

T7 - trifloxystrobin + prothioconazole + mancozeb at V8, azoxystrobin + benzovindiflupir + mancozeb at R1, picoxystrobin + cyproconazole + mancozeb at R4;

T8 - azoxystrobin + benzovindiflupir + mancozeb at R1, azoxystrobin + cyproconazole + mancozeb at R4.

Source: Elaborated by the authors (2021)

The AUDPC in treatments T2, T5, T6, and T7 were significantly lower than the control. In these treatments the application of fungicide started preventively in the V8 stage and in the T3, T4, and T8 treatments, the applications started with the appearance of the first symptoms of the disease, stage

R1. Fungicides applied preventively are recommended as the most effective strategy for controlling this disease (NAVARINI *et al.*, 2007). Reis (2013) emphasized recommendations to soybean farmers to apply at the end of the vegetative stage, at the line-closing, which improves the deposition of the fungicide in the lower layer of the crop canopy. The treatments T5, T6, and T7 were those that showed control efficiency greater than 70 %.

Preventive applications of fungicides or closer to rust detection in soybean provide greater disease control than those carried out later (NASCIMENTO *et al.*, 2018). Rios *et al.* (2010), when artificially inoculating soybean plants with *P. pachyrhizi* uredospore, observed reductions in the protective and healing effects of fungicides as the applications were performed farther from inoculation.

Alves and Juliatti (2018) in a work with the application of mancozeb and systemic fungicides concluded that the effect of adding protective fungicides with systemic fungicides varied according to the interaction between these molecules. However, the applications made by Alves and Juliatti (2018) started when the plants were in the R1 stage, and, in general, the preventive applications of fungicides are more efficient in controlling rust compared to eradicating applications (AUGUSTI *et al.*, 2014), and the protective fungicides, when applied under ideal conditions, remain on the leaves and inhibit the germination of spores in a range of hosts and in a non-specific way, acting in several fungal cell sites (REIS, 2014; ZAMBOLIM *et al.*, 2008), therefore, being more efficient when applied preventively.

Table 4 shows the 1,000-grain weight and yield.

Table 4 – One-thousand-grain mass (g) and yield (kg ha⁻¹) of soybean for each treatment with fungicide, 2018/2019 harvest. Ponta Porã/MS, 2021.

Treatments	1000-grain mass	Yield (kg ha ⁻¹)
Control	121.7 B	2,130.2 B
T2	136.0 AB	2,722.9 AB
T3	127.1 AB	3,047.7 AB
T4	134.8 AB	2,966.7 AB
T5	136.5 AB	3,307.7 A
T6	143.6 A	3,393.6 A
T7	142.8 A	3,265.3 A
T8	135.7 AB	3,405.3 A
CV (%)	5.9	5.9

* Means followed by the same letter in the columns are not statistically different by the test of Tukey at 5 % probability.

T1 - Control without fungicide;

T2 - trifloxystrobin + prothioconazole at V8, azoxystrobin + benzovindiflupir at R1, azoxystrobin + cyproconazole at R4;

T3 - azoxystrobin + benzovindiflupir at R1, azoxystrobin + cyproconazole at R4;

T4 - picoxystrobin + cyproconazole at R1, picoxystrobin + cyproconazole at R4;

T5 - azoxystrobin + cyproconazole + mancozeb at V8, azoxystrobin + benzovindiflupir at R1, azoxystrobin + cyproconazole at R4;

T6 - trifloxystrobin + prothioconazole at V8, azoxystrobin + benzovindiflupir + mancozeb at R1, picoxystrobin + cyproconazole + mancozeb at R4;

T7 - trifloxystrobin + prothioconazole + mancozeb at V8; azoxystrobin + benzovindiflupir + mancozeb at R1; picoxystrobin + cyproconazole + mancozeb at R4;

T8 - azoxystrobin + benzovindiflupir + mancozeb at R1, azoxystrobin + cyproconazole + mancozeb at R4.

Source: Elaborated by the authors (2021)

The treatments T6 and T7 were statistically superior for the control for 1,000-grain mass and treatments T5, T6, T7, and T8 were superior to the control for yield. Protective fungicide mancozeb was added to these treatments.

Mancozeb is one of the most extensively used non-systemic fungicides in the world, with a multi-site mechanism of action (GULLINO *et al.*, 2010). Protective fungicides, such as mancozeb, have been used in the anti-resistance management of Asian soybean rust (GODOY *et al.*, 2018). In the experiment, the application of mancozeb in a preventive manner or in the detection of the disease, in mixtures with systemic fungicides, showed less reduction in yield.

Table 5 shows the Euclidean distances among the seven treatments that received fungicide applications to control soybean rust.

Table 5 – Euclidian distance among the seven treatments with fungicide applications for the control of soybean rust. Ponta Porã/MS, 2021.

	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
T2	0	325	244	585	671	542	682
T3		0	81	260	346	218	358
T4			0	341	427	299	439
T5				0	86	43	98
T6					0	128	14
T7						0	140
T8							0

T1 - Control without fungicide;

T2 - trifloxystrobin + prothioconazole at V8, azoxystrobin + benzovindiflupir at R1, azoxystrobin + cyproconazole at R4;

T3 - azoxystrobin + benzovindiflupir at R1, azoxystrobin + cyproconazole at R4;

T4 - picoxystrobin + cyproconazole at R1, picoxystrobin + cyproconazole at R4;

T5 - azoxystrobin + cyproconazole + mancozeb at V8, azoxystrobin + benzovindiflupir at R1, azoxystrobin + cyproconazole at R4;

T6 - trifloxystrobin + prothioconazole at V8, azoxystrobin + benzovindiflupir + mancozeb at R1, picoxystrobin + cyproconazole + mancozeb at R4;

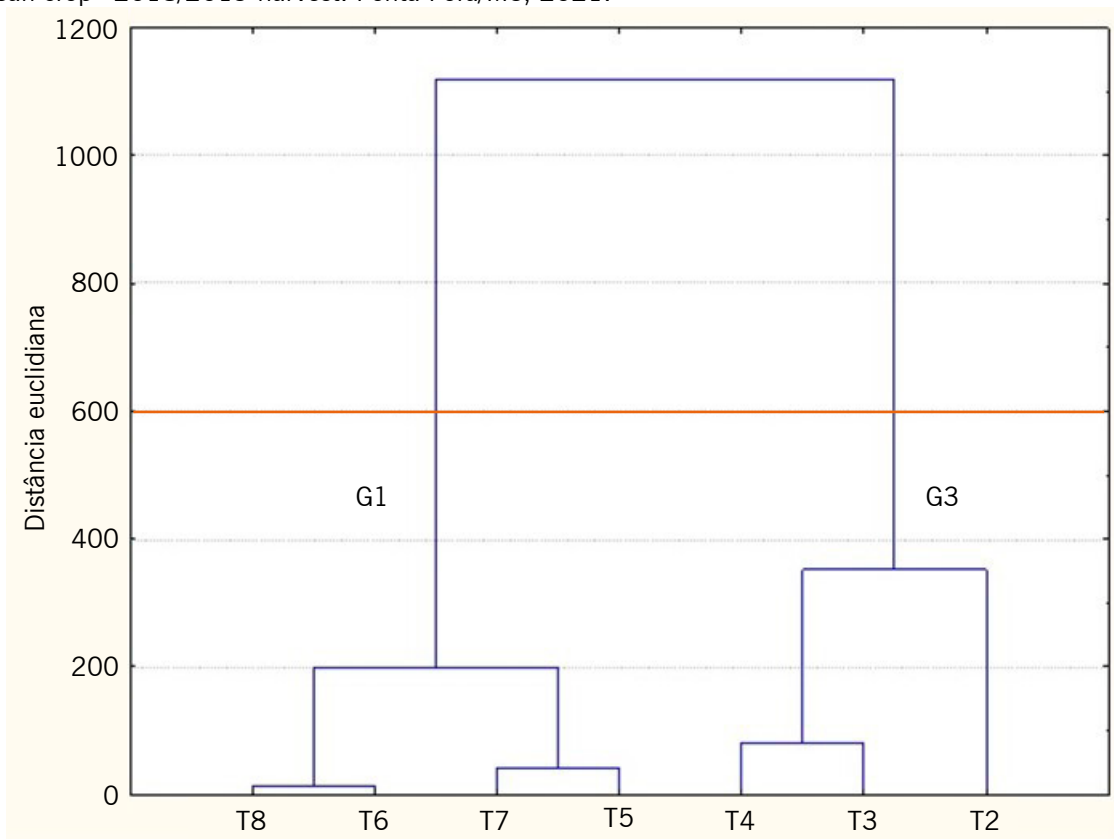
T7 - trifloxystrobin + prothioconazole + mancozeb at V8; azoxystrobin + benzovindiflupir + mancozeb at R1; picoxystrobin + cyproconazole + mancozeb at R4;

T8 - azoxystrobin + benzovindiflupir + mancozeb at R1, azoxystrobin + cyproconazole + mancozeb at R4.

Source: Elaborated by the authors (2021)

It can be seen in Figure 2 the cluster analysis using the Ward method with the similarity measure given by the Euclidean distance. Treatments T5, T6, T7, and T8 formed group 1 (G1), while treatments T2, T3, and T4 formed group 2 (G2).

Figure 2 – Dendrogram showing the hierarchy of seven-treatment groups with fungicide application in the soybean crop –2018/2019 harvest. Ponta Porã/MS, 2021.



Source: Elaborated by the authors (2021)

The treatments in group 1 achieved the best results. Also, they were the treatments that had the addition of protective fungicide mancozeb, even the T8 treatment, in which the application started in R1, after the identification of the disease (FIGURE 2). The association of mancozeb with triazole and strobilurin fungicides has a synergistic or additive action (MARQUES, 2017).

Conclusions

Mancozeb protective fungicide in mixtures with systemic fungicides was more effective for the control of Asian soybean rust than applications of only systemic fungicides.

Manejo de fungicidas no controle da ferrugem asiática da soja

Resumo

A ferrugem asiática da soja é a principal doença da cultura, e o manejo no uso de fungicidas é importante para se ter um controle eficiente. O objetivo do trabalho foi avaliar o manejo de fungicidas com aplicações sequenciais para o controle da ferrugem asiática da soja. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso com quatro repetições e oito tratamentos com diferentes combinações de fungicidas dos grupos químicos: triazol, estrobilurina, carboxamida e ditiocarbamato. As aplicações

foram realizadas com um equipamento de pulverização costal à pressão constante (CO₂) e volume de calda de 200 L ha⁻¹. Foram avaliadas a severidade da ferrugem, área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), eficiência do controle, massa de 1.000 grãos e produtividade. O fungicida protetor mancozebe em misturas com fungicidas sistêmicos foram mais eficazes para o controle da ferrugem asiática da soja do que fungicidas sistêmicos aplicados sem o fungicida protetor.

Palavras-chave: Tecnologia de aplicação. *Phakopsora pachyrhizi*. Mancozebe.

References

ALVES, V. M.; JULIATTI, F. C. Fungicidas no manejo da ferrugem da soja, processos fisiológicos e produtividade da cultura. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 44, n. 3, p. 245-251, 2018.

AUGUSTI, G. R.; SARI, B. G.; COSTA, I. F. D.; RODRIGUES, J. S.; GUERRA, R. C. Aplicações preventivas e erradicantes de fungicidas no controle da ferrugem asiática da soja. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 40, n. 3, p. 288-289, 2014.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley & Sons, 1990. 655 p.

EMBRAPA, Tecnologias de produção de soja - Região central do Brasil 2012 e 2013. **Londrina: Embrapa Soja** (Sistema de produção 15), 261 p., 2011.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stage of soybeans development**. Ames: Iowa State University, 1977. 12p. (Special Report, 80.)

FRAC. **FRAC recommendations for fungicide mixtures designed to delay resistance evolution**. Jan. 2010. 7p. Disponível em: <https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-recommendations-for-fungicide-mixtures/frac-recommendations-for-fungicide-mixtures---january-2010.pdf>. Acesso em: 13 jan. 2021.

GODOY, C. V.; KOGA, L. J.; CANTERI, M. G. Diagrammatic Scale for Assessment of Soybean Rust Severity. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1, 2006.

GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; SOARES, R. M.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; MEYER, M. C.; COSTAMILAN, L. M. Asian soybean rust in Brazil: past, present, and future. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 51, n. 5, p. 407-421, 2016.

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; LOPES, I. O. N.; DIAS, A. R.; DEUNER, C. C.; PIMENTA, C. B.; JACCOUD FILHO, D. S.; MOREIRA, E. N.; BORGES, E. P.; ANDRADE JUNIOR, E. R.; SIQUERI, F. V.; JULIATTI, F. C.; JULIATTI, F. C.; FAVERO, F.; FEKSA, H. R.; ARAÚJO JÚNIOR, I. P.; GRIGOLLI, J. F. J.; NUNES JUNIOR, J.; BELUFI, L. M. R.; CARNEIRO, L. C.; CARREGAL, L. H.; SATO, L. N.; CANTERI, M. G.; VOLF, M. R.; GOUSSAIN, M.; DIAS, M. D.; DEBORTOLI, M. P.; MARTINS, M. C.; BALARDIN, R. S.; FURLAN, S. H.; MADALOSSO, T.; CARLIN, V. J.; VENANCIO, W. S. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2017/2018: Resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: Embrapa Soja. 2018. 8p (Circular Técnica, 138).

GOELLNER, K.; LOEHRER, M.; LANGENBACH, C.; CONRATH, E.K.; SCAFFRATH, U. *Phakopsora pachyrhizi*, the causal agent of Asian soybean rust. **Molecular Plant Pathology**, Malden, v. 11, n. 2, p. 169-177. 2010.

GULLINO, M. L.; TINIVELLA, F.; GARIBALDI, A.; KEMMITT, G. M.; BACCI, L.; SHEPPARD, B. Mancozeb, past, present and future. **Plant Disease**, v. 94, n. 9, p. 1076-1087, 2010.

HARTMAN, G. L.; SIKORA, E. J.; RUPE, J. C. Rust. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E. J.; DOMIER, L. L.; DAVIS, J. A.; STEFFEY, K. L. (Ed.). **Compendium of soybean diseases and pests**. 5. ed. Saint Paul: APS Press, 2015. p. 56-59.

KLOSOWSKI, A. C.; MAY DE MIO, L. L.; MIESSNER, S.; RODRIGUES, R.; STAMMLER, G. Detection of the F129L mutation in the cytochrome b gene in *Phakopsora pachyrhizi*. **Pest Management Science**, Durham, North Carolina, EUA, v. 72, p. 1211-1215, 2016.

MARQUES, L. N. **Mancozebe associado ao patossistema *Phakopsora pachyrhizi* × *Glycine max***: respostas fisiológicas das plantas. 2017. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de Santa Maria, Santa Maria, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/11631/Marques%2c%20Leandro%20Nascimento.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 04 ago. 2020.

NASCIMENTO, J. M.; GAVASSONI, W. L.; BACCHI, L. M. A.; OLIVEIRA, J. L.; LABORDE, M. C.; PONTIM, B. C. A.; MENDES, M. P. Manejo da ferrugem asiática da soja com aplicações de fungicidas iniciadas na detecção do patógeno ou posteriores. **Agrarian**, Dourados, v. 11, n. 39, p. 42-49, 2018.

NAVARINI, L. DALLAGNOL, L. J.; BALARDIN, R. S.; MOREIRA, M. T.; MENEGHETTI, R. C.; MADALOSSO, M. G. Controle Químico da Ferrugem Asiática (*Phakopsora pachyrhizi* Sidow) na cultura da soja. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 2, p. 182-186, 2007.

NEVES, J. S.; BLUM, L. E. B. Influência de fungicidas e fosfito de potássio no controle da ferrugem asiática e na produtividade da soja. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 2, n. 1, p. 75-82, 2013.

REIS, E. M. Redução da sensibilidade de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas e estratégia para retomar eficiência de controle. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, v. 21, n. 141, p. 21-27, 2014.

REIS, E. M. Critério preventivo. In: REIS, E. M. **Indicadores do momento para a aplicação de fungicidas visando ao controle de doenças nas culturas da soja e do trigo**. Berthier: Passo Fundo, p. 67-76, 2013.

RIOS, J. A.; ZAMBORLIM, L.; DUARTE, H. S. S.; LOPES, J. P.; NOGUEIRA JUNIOR, A. F. Efeito protetor e curativo do epoxiconazole mais piraclostrobina no controle da ferrugem asiática da soja. **Revista Tropica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 2, p. 3-7, 2010.

SCHMITZ, H. K.; MEDEIROS, A. C.; CRAIG, I. R.; STAMMLER, G. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone-outsideinhibitors and demethylation-inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. **Pest Management Science**, v. 7, p. 378-88, 2014.

SIMÕES, K.; HAWLIK, A.; REHFUS, A.; GAVA, F.; STAMMLER, G. First detection of a SDH variant with reduced SDHI sensitivity in *Phakopsora pachyrhizi*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Berlin, v. 125, p. 21-26, 2018.

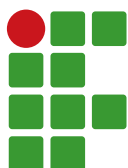
TWIZEYIMANA, M.; HARTMAN, G.L. Culturing *Phakopsora pachyrhizi* on detached leaves and urediniospore survival at different temperatures and relative humidities. **Plant Disease**, St Paul, v. 94, n. 12, p. 1453-1460, 2010.

ZAMBOLIM, L.; PICANÇO, M. C.; SILVA, A. A.; FERREIRA, L. R.; FERREIRA, F. A.; JESUS, J. W. C. **Produtos fitossanitários** (fungicidas, inseticidas, acaricidas e herbicidas). Viçosa: UFV, 2008. 652p.

WEIRICH, P. H. W.; FORNARI, A. J.; BAUER, F. C.; JUSTINO, A.; GARCIA, L. C. Aplicação de fungicidas em soja com barra de arrasto. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 33, n. 4, p. 876-882, 2013.

Received: April 7, 2020

Accepted: August 5, 2020



Blood meal as nitrogen source and its effect on disease severity on sweet corn

Karina de Jesus Egues Martins¹

Camila Klem Miliati²

Antonio Luiz Viegas Neto³

Lígia Maria Maraschi da Silva Piletti⁴

Rafael Pelloso de Carvalho⁵

Márcio Roberto Rigotte⁶

Abstract

A blood meal is a by-product of the meat processing industry and can be used as nitrogen fertilizer due to its minimum content of 10 % Nitrogen. The objective of this work was to evaluate the effect of doses of blood meal, such as nitrogen fertilizer in topdressing, on the production components and the severity of diseases in sweet corn. The experiment was developed at the Federal Institute of Education, Science and Technology of Mato Grosso do Sul (IFMS), Ponta Porã campus, in a Quartzarenic Neosol. The experimental design used was randomized blocks with five treatments of blood meal doses of (0 kg ha⁻¹; 48 kg ha⁻¹; 96 kg ha⁻¹; 120 kg ha⁻¹ and 144 kg ha⁻¹) and one treatment using urea for topdressing fertilization with 120 kg ha⁻¹ of N. The experiment analyzed the severity of white spot on the tasseling and milk grain stages and also the production components: plant height, insertion height of the first ear, stalk diameter, length of the unhusked commercial ears, diameter of unhusked commercial ears, number of grain row, weight of husked commercial ears, weight of unhusked commercial ears and productivity in kg ha⁻¹. The use of blood meal was as efficient as the use of urea as a nitrogen fertilizer for doses starting from 48 kg ha⁻¹, the maximum productivity was obtained when the dose of 112 kg ha⁻¹ of N blood meal was used. The severity of the white spot did not progress in treatments containing nitrogen fertilization in topdressing.

Keywords: Nitrogen fertilizer. Production components. White spot. *Zea mays*.

Introduction

In Brazil, approximately 36,000 hectares are cropped with sweet corn (*Zea mays* L.). Most of the production is destined for human consumption. This production is more adopted by small and medium farms, therefore it contributes in generating regional employment, improving logistics and food distribution (SANTOS *et al.*, 2011).

To obtain high productivity in the corn crop, the adequate management of fertilization is necessary, especially the supply of nitrogen, which is the most absorbed and exported nutrient by the

1 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul (IFMS). Engenheira Agrônoma. karina_jem@hotmail.com.

2 IFMS. Engenheira Agrônoma. camila.miliati@hotmail.com.

3 IFMS. Professor EBTT. antonio.viegas@ifms.edu.br.

4 IFMS. Professor EBTT. ligia.piletti@ifms.edu.br.

5 IFMS. Professor EBTT. rafael.carvalho@ifms.edu.br.

6 IFMS. Professor EBTT. marcio.rigotte@ifms.edu.br.

crop (SORATO *et al.*, 2010). Nitrogen contributes to the production of corn since this element takes part in the structural function and activator of several enzymes. These contributions provide green and abundant vegetation, high foliage, and protein levels (MALAVOLTA, 2006).

A blood meal is a source of nitrogen fertilizer, which is a by-product generated in meat processing plants. It has a high nitrogen content (N) when compared to other organic fertilizers, with a minimum content of 10 % N (RIBEIRO; GUIMARÃES; ALVAREZ, 1999). Information on the use of this product as nitrogen fertilizer is scarce, despite the blood meal great importance in the production of animal diets, mainly for fish farming, due to its high added value residue, especially the number of proteins, with essential amino acids, vitamins, and minerals, and its high digestibility coefficient (RENUNCIO, 1997).

How the cultural management of a crop is conducted can influence its productivity, especially the nitrogen fertilization, which can also determine a greater or lesser predisposition to diseases (CARVALHO *et al.*, 2013). Balanced fertilization, in addition to favoring production, can make the plant less susceptible to diseases and may even reduce its severity (HUBER; THOMPSON, 2007). According to Miguel *et al.* (2015), besides providing an increase in productivity, nitrogen fertilization is one of the cultural treatments that can minimize the effects of the main leaf diseases on plants. The white spot, caused by the fungus *Phaeosphaeria maydis* is one of the most important pathogens in the country due to the great geographic range in which it is found (MANFROI *et al.*, 2016). In favorable conditions, the disease can cause a reduction in the photosynthetic rate of the plant causing its early dryness, and also a decrease in the period of grain filling, in the ear size, grain weight, and consequently corn productivity (MENDES; TEBALDI, 2011).

Lastly, the objective of this work was to evaluate the effect of doses of blood meal, as nitrogen fertilizer, on the production components and the severity of the white spot in sweet corn.

Material and methods

The experiment was carried out at the Federal Institute of Education, Science and Technology of Mato Grosso do Sul (IFMS), Ponta Porã, Mato Grosso do Sul campus, located on the BR 463 highway, km 14, 755m above sea level. The soil in the area was classified as Quartzarenic Neosol (EMBRAPA, 2006) with a loam-sand texture containing 11.7 % clay, 3.7 % silt, and 84.6 % sand. The climate is Aw-type, according to the Köppen-Geiger classification, with a rainy season in summer and a dry one in winter (PEEL; FINLAYSON; MCMAHON, 2007). The monthly average rainfall during the sweet corn cycle was 187.03 mm.

The fertilization was carried out following the interpretation of the soil analysis (TABLE 1) according to Ribeiro, Guimarães, and Alvarez (1999), using 555 kg ha⁻¹ of Super Simple Phosphate, 100 kg ha⁻¹ potassium chloride, and 66 kg ha⁻¹ urea. The planting system used was the conventional one, with a heavy harrowing followed by a leveling. The corn cultivar used was the double hybrid AG 1051 from Agrocere, developed for the production of sweet corn and silage, which is recommended for the planting season and the producing regions of Mato Grosso do Sul.

The experimental design used in this work was the randomized block with four replicates. The treatments were set after the chemical analysis of the blood meal (TABLE 2).

Table 1 – Chemical analysis of the soil in the experimental area in the 0-20 cm layer before treatment setting up and corn planting, Ponta Porã, MS, 2021.

pH	O.M.	P	K	Al ³⁺	Ca	Mg	H+Al	CTC _{pH7}	V
CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³		cmolc dm ⁻³					%
5.6	13.5	3.2	44	0.0	2.2	0.8	1.2	4.2	73
Texture g dm ⁻³									
Sand			Silt			Clay			
847			37			117			

Source: Elaborated by the authors (2021).

Table 2 – Characterization of macronutrient, carbon/nitrogen rate, pH, and micronutrients of blood meal, Ponta Porã, MS, 2021.

Macronutrients						O.C. /N	pH
N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Ca	Mg	S		
%							
12.57	0.14	0.78	0.07	0.01	0.5	3.12	6.7
Micronutrients							
B	Cu	Fe	Mn	Mo	Na	Ni	Zn
mg/dm ³							
N.D	273.4	2346	4.59	N.D	8146	15.6	286.5

Source: Elaborated by the authors (2021).

This experiment used five different doses of blood meal which corresponded to 0 %, 40 %, 80 %, 100 %, and 120 % referring to the total N amount required for the topdressing fertilization equivalent to 120 kg ha⁻¹ N. Quantitatively, these doses were equivalent to 0 kg ha⁻¹, 381.90 kg ha⁻¹; 763.72 kg ha⁻¹; 954.66 kg ha⁻¹ and 1145.58 kg ha⁻¹ of blood meal, which contained 0 kg ha⁻¹, 48 kg ha⁻¹, 96 kg ha⁻¹, 120 kg ha⁻¹ and 144 kg ha⁻¹ N respectively and treatment using urea as a standard topdressing nitrogen fertilizer, in which 100 % of the required amount of nitrogen was used, totaling 6 treatments. The experimental plots consisted of four rows of 6 meters, with a spacing of 0.9 m between rows, considering as a useful area only the two central lines for data collection. The plant population used in the experiment was 55,000 ha⁻¹.

To analyze the production components of sweet corn, ten plants from the useful area were measured, from the milky grain (R3) to the dough (R4) stage (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 1993). Also, the plant height (PH), the height of the plant stalk to the flag leaf, the height of the insertion of the first ear (IH) were measured using a ruler, and the stalk diameter (SD) measured in the middle of the second stem internode using a digital caliper. To check the characteristics of the ears, 10 ears were manually harvested from the useful area of the plot. Afterward, the length of the unhusked commercial ears (UCE) was determined with the aid of a measuring tape from the base of the ear to its end; the diameter of husked commercial ears (HCED) was measured from the middle of the ear using a digital caliper; the number of rows of grains (GR) was set based on the visual count and the weight of commercial husked ears (CHEW) and weight of unhusked commercial ears (UCEW) was determined using a scale, considering the commercial ears those that had a length greater than 15 cm and 3 cm in diameter and from these, the productivity (PROD) was obtained in kg ha⁻¹ of unhusked ears.

Assessments on the leaf disease severity were carried out in the VT stages, which consist of the tasseling and R3 at the milky grain stage. For these evaluations, the leaves were randomly selected within the useful portion, observing a leaf at the ear insertion height for visual analysis from the diagrammatic scale to assess the severity of the white spot in the percentage of the injured leaf area, shown by Sachs *et al.* (2011) and later, evaluations of the area under the disease progress curve (AUDPC) were carried out.

Data on production components, severity, and AUDPC were subjected to analysis of variance and when significant, regression analysis and Dunnett test at 5 % probability were performed for comparisons with the urea standard dose.

Results and discussion

The analysis on the data on plant height, ear insertion height, stalk diameter, and diameter of the commercial ear showed that there was no significant difference by the test of Dunnett at 5 % probability (TABLE 3) in comparison to the control treatment with the use of urea as topdressing nitrogen fertilization, that is, regardless the nitrogen dose used as blood meal, the treatment did not affect these production components.

Table 3 – Means of Sweet corn production component according to blood meal (BM) doses for plant height (PH), insertion height of the first ear (EH), and stalk diameter (DC). Ponta Porã, MS, 2021.

BM doses (kg ha ⁻¹ N)	PH (m)	EH (m)	SD (mm)
0	1.49 ^{ns}	0.78 ^{ns}	20.42 ^{ns}
48	1.66 ^{ns}	0.92 ^{ns}	23.73 ^{ns}
96	1.65 ^{ns}	0.93 ^{ns}	24.21 ^{ns}
120	1.67 ^{ns}	0.96 ^{ns}	24.40 ^{ns}
144	1.61 ^{ns}	0.94 ^{ns}	23.66 ^{ns}
Urea 120	1.66	0.94	24.94

^{ns} not different from the control by the test of Dunnett at 5 % probability.

Source: Elaborated by the authors (2021).

For the length of the commercial ear, the weight of husked and unhusked ear, and the number of grain rows (TABLE 4), it was found that all doses of blood meal had no difference concerning fertilization with urea, indicating that it does not depend on the use of the other doses of blood meal, therefore showing that these results are as efficient as the use of urea, thus demonstrating the efficiency of this fertilization.

The comparison between N doses and blood meal revealed a significant effect for commercial ear length, husked and unhusked ear weight, and the number of grain rows. No significant effect was found for the other production components (FIGURE 1).

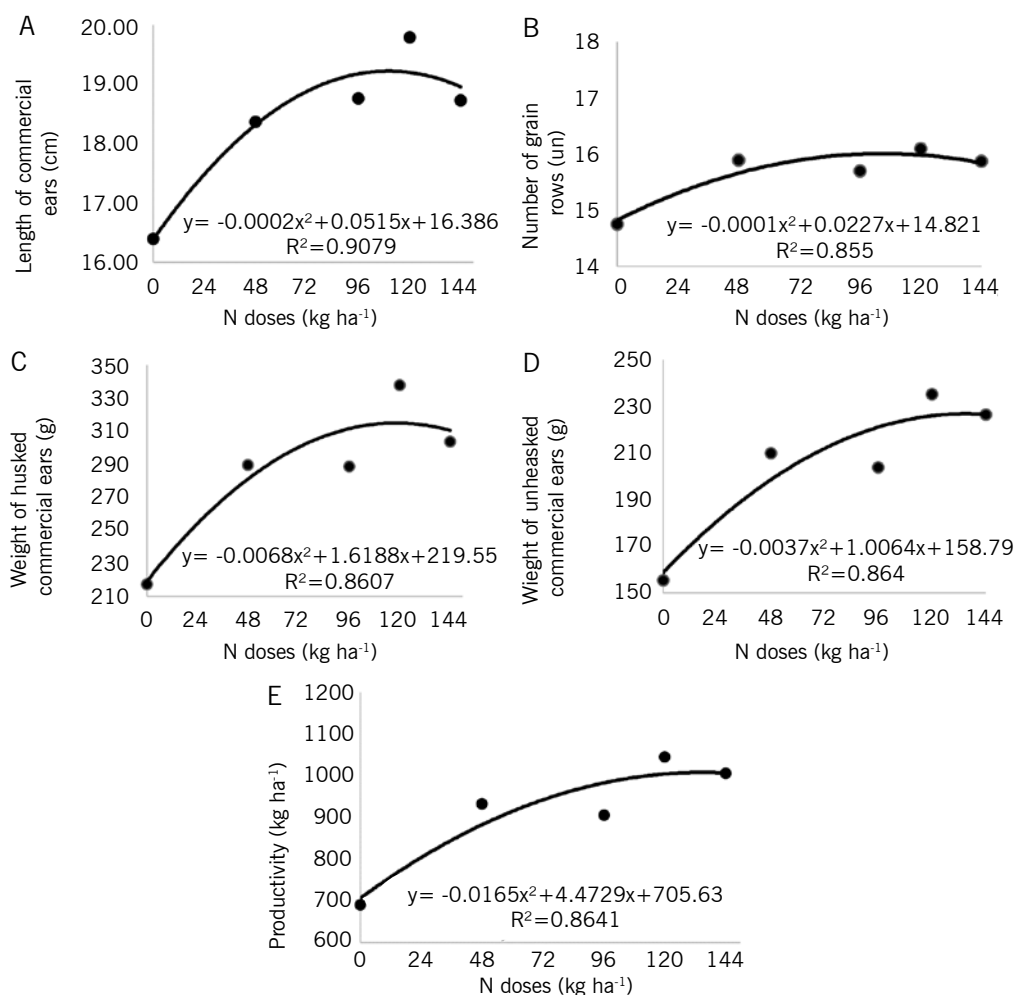
Table 4 – Means of the sweet corn production components according to the doses of blood meal (BM) for the characteristics of productivity (PROD), length of the commercial ear (CEL), ear diameter (CED), the weight of the husked commercial ear (CHEW), the weight of the unhusked commercial ear (UCEW), and the number of grain rows (ROW). Ponta Porã, MS, 2021

BM Doses (kg ha ⁻¹ de N)	PROD (kg ha ⁻¹)	CEL (cm)	CED (mm)	CHEW (g)	UCEW (g)	ROW (un)
0	690.5*	16.40*	42.63 ^{ns}	217.4*	155.4*	14.75*
48	932.8 ^{ns}	18.36 ^{ns}	45.76 ^{ns}	289.6 ^{ns}	209.9 ^{ns}	15.89 ^{ns}
96	906.1 ^{ns}	18.72 ^{ns}	44.51 ^{ns}	288.8 ^{ns}	203.9 ^{ns}	15.70 ^{ns}
120	1045.6 ^{ns}	19.78 ^{ns}	47.03 ^{ns}	338.0 ^{ns}	235.3 ^{ns}	16.10 ^{ns}
144	1006.3 ^{ns}	18.73 ^{ns}	46.73 ^{ns}	303.7 ^{ns}	226.4 ^{ns}	15.87 ^{ns}
Urea 120	978.9	19.22	45.89	320.6	220.3	15.90

Means followed by (*) are different from the control by the test of Dunnett at 5 % probability. Means followed by (^{ns}) do not differ from the control by the test of Dunnett at 5 % probability.

Source: Elaborated by the authors (2021).

Figure 1 – Regression of mean values of (A) commercial ear length (B) number of grain rows (C) weight of husked commercial ear (D) weight of unhusked commercial ear (E) and productivity according to N doses using blood meal as nitrogen fertilizer, Ponta Porã-MS, 2019.



*: equation significant at 5 % probability by the F test.

Source: Elaborated by the authors (2021).

The maximum value for commercial ear length was 19.7 cm with a dose of 128 kg ha⁻¹ N. According to Kappes *et al.* (2009), the average ear length, despite being a characteristic of high heritability and less dependence on the environment, is one of the production components that can directly interfere in the number of grains per row and consequently will affect corn productivity.

Pereira Filho and Cruz (2002) stated that the ideal ear length to meet both the interests of the filling industry and the production for fresh use is close to 20 cm, a value very close to the maximum length to be obtained with the fertilization of 128 kg ha⁻¹ N of the blood meal.

The largest number of grain rows was obtained using topdressing fertilization containing 113 kg ha⁻¹ N blood meal, with ears containing 16-grain rows. According to Fancelli and Dourado Neto (2000), the number of grain rows is defined in the V8 stage, a phase in which the nutrient availability, especially N, is very important as this moment is of greater demands for this nutrient by the plant, thus emphasizing the importance of the correct management of nitrogen fertilization and the efficient use of blood meal.

The maximum weight of the husked and unhusked commercial ear was 315.9 g and 227.2 g obtained by applying 119 kg ha⁻¹ and 136 kg ha⁻¹ N of blood meal, respectively. The average increases in-ear weight resulting from the application of N were 45.2 % in husked ears and 46.3 % for unhusked ears, when compared to the dose of 0 kg ha⁻¹ N. This behavior was also observed by Freire *et al.* (2010), who found an increasing trend in weight of husked ear according to the increment of N, in which higher doses of nitrogen provided greater volume of straw as this nutrient is directly linked with the growth and vegetative development, which will also affect the production of sweet corn ears due to increases in the average cob weights.

According to Damasceno *et al.* (2010), the weight of husked ears is very important for the commercialization of sweet corn, which is traded with the husk due to its culinary use since the consumer always tends to choose the largest and heaviest ears, both for consumption in fresh form and for the industry.

Nitrogen doses significantly influenced the increase in productivity, its production peak was 1027 kg ha⁻¹ of unhusked ears using the dose of 113 kg ha⁻¹ (FIGURE 1). Thus, the use of blood meal was as efficient as the use of urea as a nitrogen source. Freire *et al.* (2010) reported that because of the particularities of N, the dose recommendations for crops are based on response curves obtained locally, depending on the mineralization rate, the organic matter content, and the leaching of nitrate in the soil, and, in particular, due to the amount of rainfall in the period of its conduction.

Regarding AUDPC, no difference was found between nitrogen doses when compared to the control treatment using urea as a source of nitrogen in topdressing (TABLE 5).

According to Silva (2002), the establishment of the disease on the plant after reaching the stage of maturation does not cause significant damage, so the effect of the disease on production varies according to when the plant was infected. Regarding white spot, Godoy *et al.* (2001) observed that only the visual quantification of the severity of the disease cannot present an exact indication of the effect of the pathogen on the photosynthetic content of the host, since phytosanitary efficacy is reduced not only in the injured tissue but also in parts of the remaining green tissue of the infected leaf.

For the severity of the disease, a significant difference was observed in the control treatment at the R3 stage (TABLE 5), in which the topdressing nitrogen fertilization had not been carried out, leading to an increase in the severity of the white spot. According to Durães *et al.* (2004), the use of high concentrations of fertilizer, such as 200 kg ha⁻¹ of nitrogen, resulted in a decrease in the

incidence of the disease, which is also confirmed by the work of Corrêa *et al.* (2007) in which they emphasized that N interferes with the severity of the white spot.

Table 5 – Means of severities and AUDPC were analyzed in Sweet corn according to the blood meal (FS) and urea doses. Ponta Porã-MS, 2019.

BM doses (kg ha ⁻¹ N)	Severity at VT stage (%)	Severity at R3 (%)	AUDPC (%)
0	1.00 ^{ns}	2.05*	50.4 ^{ns}
48	0.9 ^{ns}	1.725 ^{ns}	47.1 ^{ns}
96	0.9 ^{ns}	1.675 ^{ns}	44.2 ^{ns}
120	0.9 ^{ns}	1.25 ^{ns}	35.6 ^{ns}
144	0.9 ^{ns}	1.25 ^{ns}	39.6 ^{ns}
Urea 120	0.9	1.15	28.8

Means followed by (*) are different from the control by the test of 5 % probability.

Means followed by (^{ns}) are not significant.

Source: Elaborated by the authors (2021).

Conclusion

The use of blood meal in topdressing fertilization in sweet corn crop produces results similar to urea from the dose of 48 kg ha⁻¹ N. The maximum yield was obtained using 112 kg ha⁻¹ N of blood meal in topdressing.

The corn crop responds positively to the increase in the dose of N using blood meal for ear length, husked ear weight, unhusked ear weight rows of commercial ear grains, and yield.

There was no influence of blood meal for the area below the white spot disease progress curve in the corn Crop.

Farinha de sangue como fonte nitrogenada e seu efeito sobre a severidade de doenças no milho-verde

Resumo

A farinha de sangue é um subproduto de frigoríficos e pode ser utilizada como adubo nitrogenado devido ao seu teor mínimo de 10 % de nitrogênio. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de doses de farinha de sangue, como adubo nitrogenado em cobertura, sobre os componentes de produção e a severidade de doenças no milho-verde. O experimento foi desenvolvido no IFMS, *Campus* Ponta Porã, num Neossolo Quartzarênico. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com cinco tratamentos de doses de farinha de sangue de (0 kg ha⁻¹; 48 kg ha⁻¹; 96 kg ha⁻¹; 120 kg ha⁻¹ e 144 kg ha⁻¹) e um tratamento utilizando ureia para adubação em cobertura com 120 kg ha⁻¹ de N. Foram analisadas a severidade de mancha branca nos estádios de pendramento e grão leitoso, a avaliação dos componentes de produção: altura de planta, altura da inserção da primeira espiga, diâmetro do colmo, comprimento das espigas comerciais despalhadas, diâmetro de espigas comerciais

despalhadas, número de fileiras de grãos, peso de espigas comerciais empalhadas, peso de espigas comerciais despalhadas e produtividade em kg ha⁻¹. A utilização da farinha de sangue se mostrou tão eficiente quanto o uso da ureia como adubo nitrogenado para as doses a partir de 48 kg ha⁻¹, a produtividade máxima foi obtida quando utilizada a dose de 112 kg ha⁻¹ de N de farinha de sangue em cobertura. A severidade da mancha branca não progrediu em tratamentos contendo a adubação nitrogenada em cobertura.

Palavras-chave: *Zea mays*. Adubo nitrogenado. Componentes de produção. Mancha branca.

References

CARVALHO, D. O.; POZZA, E. A.; CASELA, C. R.; COSTA, R. V.; POZZA, A. A. A.; CARVALHO, C. O. Adubação nitrogenada e potássica na severidade da antracnose em dois cultivares de milho. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 3, p. 380-387, 2013. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-737X2013000300011. Acesso em: 29 jun. 2020.

DAMASCENO, T. M.; WINDER, A. R. da S.; NOGUEIRA, J. C. M.; DAMASCENO, M. M.; MENDES, J. C. da F.; DALLAPORTA, L. N. Influência do espaçamento de plantio de milho na produtividade de silagem. **XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo**, Goiânia, Goiás, 2010.

DURÃES, F. O. M.; MAGALHÃES, P. C.; MARRIEL, I. E.; GAMA, E. G.; CASELA, C. R.; OLIVEIRA, A. C.; CANTÃO, F. R. O. Caracterização de genótipos para uso e eficiência em de nitrogênio em milho e influência da adubação nitrogenada sobre a incidência e severidade de da mancha foliar de *maydis*. Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, p.8, 2004.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETTO, D. Produção de milho. **Guaíba: Agropecuária**, p. 320, 2000.

FREIRE, F. M.; VIANA, M. C. M.; MASCARENHAS, M. H. T.; PEDROSA, M. W.; COELHO, A. M.; ANDRADE, C. L. T. de. Produtividade econômica e componentes da produção de espigas verdes de milho em função da adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 9, n. 3, p. 213-222, 2010.

GODOY, C. V.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Alterações na fotossíntese e na transpiração de folhas de milho infectadas por *Phaeosphaeria maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 209-215, 2001

HUBER, D. M., THOMPSON, A. Nitrogen and plant disease. In: Nutrition mineral and plant disease. **The American Phytopathological Society**. Saint Paul. v. 1, p. 31-44, 2007. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/284757533_Nitrogen_and_plant_disease_In_Mineral_nutrition_and_plant_disease_Eds_LE_Datnoff_WH_Elmer_DM_Huber_The_American_Phytopathological_Society_St_Paul_Minnesota. Acesso em: 29 jun. 2020.

KAPPES, C.; CARVALHO, M. A. C. de.; YAMASHITA, O. M.; SILVA, J. A. N. da. KWIATKOWSKI, A.; CLEMENTE, E. Características do milho doce (*Zea mays* L.) para industrialização. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, 2007.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Editora Ceres, 2006. 631p.

MANFROI, E.; LANGHINOTTI, C.; DANELLI, A.; PARIZE, G. Controle químico de doenças foliares e rendimento de grãos na cultura do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 15, n. 2, p. 357-365, 2016. Disponível em: http://rbms.cnpms.embrapa.br/index.php/ojs/article/view/511/pdf_472. Acesso em: 29 jun. 2020.

MENDES, L. S.; TEBALDI, N. D. *Pantoea ananatis*: importância, isolamento, cultivo em meio de cultura, inoculação, sobrevivência, disseminação, penetração, colonização e controle para cultura do milho (*Zea mays* L.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 19, p. 386-399, 2011.

MIGUEL, T. A.; TAKAHASHI, H. W.; BERND, L. P.; MONTAGNER, T.; BORDINI, J. G.; OMORI, A. M.; HIROOKA, E. Y.; ONO, E. Y. S. Efeitos da fertilização nitrogenada na contaminação de milho por fungos e fumonisinas. **Biosaúde**, Londrina, v. 17, n. 1, 2015.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and earth system sciences discussions**, v. 4, n. 2, p. 439-473, 2007. Disponível em: <https://www.hydrol-earth-syst-sci.net/11/1633/2007/>. Acesso em: 29 jun. 2020.

PEREIRA FILHO, I. A.; CRUZ, J. C. Cultivares de milho para o consumo verde. Sete Lagoas: **Embrapa CNPMS**. Circular técnica n. 15, 2002.

RENUNCIO, A. **Avaliação de métodos de coleta de sangue em pequenos abatedouros do estado de Santa Catarina visando sua valorização para o consumo humano**. 1997. 45 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ, V. H. *Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais*: 5. Aproximação. Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. **How a Corn Plant Develops**. Special Report 48. Ames, IA Iowa State University. 21 p., 1993.

SACHS, P. J. D.; NEVES, C. C. S. V. J.; CANTERI, M. G.; SACHS, L. G. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha branca em milho. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 4, p. 202-204, 2011.

SANTOS, M. R.; SEDIYAMA, M. A. N.; SANTOS, I. C.; SALGADO, L. T.; SANZIO, S. M. Produção de milho-verde em resposta ao efeito residual da adubação orgânica do quiabeiro em cultivo subsequente. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n. 1, p. 77-83, 2011. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0034737X2011000100012&script=sci_abstract&lng=pt. Acesso em: 29 jun. 2020.

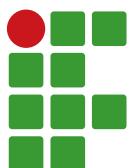
SILVA, H. P. Genética da resistência a *Phaeosphaerium maydis* em milho. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista. Tese (Doutorado). **Universidade Estadual Paulista**, Jaboticabal, 105f, 2002.

SORATTO, R. P.; PEREIRA, M.; COSTA, M. T.; LAMPERT, V. N. Fontes alternativas e doses de nitrogênio no milho safrinha em sucessão à soja. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n 4, p. 511-5518, 2010. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-66902010000400002. Acesso em: 29 jun. 2020.

VELOSO, M. E. C.; DUARTE, S. N.; DOURADO NETO, D.; MIRANDA, J. H.; SILVA, E. C.; SOUZA, V. F. Doses de nitrogênio na cultura do milho, em solos de várzea, sob sistema de drenagem subterrânea. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 5, n. 3, p. 382-394, 2006. Disponível em: <http://rbms.cnpms.embrapa.br/index.php/ojs/article/view/200/200>. Acesso em: 29 jun. 2020.

Received: June 29, 2020.

Accepted: September 17, 2020.



Quality control of commercial samples of “arnica” (*Arnica montana* and *Solidago chilensis*) from Rio de Janeiro, Brazil

Pedro Nogueira Araújo¹

André Luis Alcantara Guimarães²

Mirian Ribeiro Leite Moura³

Ana Cláudia de Macêdo Vieira⁴

Abstract

Arnica montana is a medicinal plant native to Europe and used topically to treat contusions, inflammations, and muscular aches. Studies have confirmed the anti-inflammatory activity of extracts of this plant, which can be attributed to the presence of lactones. Its use in Brazil has traditionally been substituted by the species *Solidago chilensis*, which demonstrates similar therapeutic activity but is more adapted to a tropical climate. It is known that *S. chilensis* can be used as a substitute for *A. montana* as they both contain similar active compounds. We acquired eight different commercial brands of “arnica” sold in Rio de Janeiro State, Brazil, in 2013. The analyses of these products were divided into four categories: labeling, macroscopic, microscopic, and microchemical analysis. Labeling analysis followed RDCs (“Resolução de Diretoria Colegiada”) standards (10/2010 through 26/2014). The morphological analyses were performed using microscopic techniques and were followed by microchemical analyses. Our results indicated that none of the samples were in complete conformity with labeling standards, the material was poorly conserved, contaminants were abundantly present, the species were incorrectly identified, and the directions of use were inadequate and potentially dangerous to human health.

Keywords: Plant anatomy. Chemical markers. Medicinal plants. Traditional phytotherapeutic products. Quality markers.

Introduction

Arnica montana Linné is a medicinal plant native to Europe that demonstrates anti-inflammatory and antimicrobial activity and is used topically for treating contusions, inflammations, and muscular pain due to the presence of sesquiterpene lactones of the helenalin type (LORENZI; MATOS, 2008; HALL, 1979; LYSS *et al.*, 1997; BARNES; ANDERSON; PHILLIPSON, 2012). Its use in Brazil has been traditionally substituted by the species *Solidago chilensis* Meyen, also known as *Solidago microglossa* DC, which is more adapted to a tropical climate and demonstrates similar anti-inflammatory activity due to the presence of similar chemical constituents (LORENZI; MATOS, 2008; THE PLANT LIST, 2016; GASTALDI *et al.*, 2018; ATHAYDE *et al.*, 2019, KELLY; OLIVEIRA; VALVERDE, 2020).

1 Universidade Federal do Rio de Janeiro – Laboratório de Farmacobotânica, Faculdade de Farmácia. araujopn@gmail.com

2 Universidade Federal do Rio de Janeiro – Laboratório de Farmacobotânica, Faculdade de Farmácia. andreguimaraes@pharma.ufrj.br

3 Universidade Federal do Rio de Janeiro – Laboratório de Controle Bromatológico e Microscópico, Faculdade de Farmácia. mirian.rlm@gmail.com

4 Universidade Federal do Rio de Janeiro – Laboratório de Farmacobotânica, Faculdade de Farmácia. anavieira@gmail.com. Av. Carlos Chagas Filho, 373, CCS, Bloco A, 2º andar, sala 22, Cidade Universitária, Rio de Janeiro, Brasil, CEP: 21.941-902.

A. montana is mostly used in the form of a hydro-alcoholic infusion of its inflorescences that is applied topically (BRAZIL, 2010). The traditional medicinal use of *Solidago chilensis* consists of the same type of infusion, although using its leaves and aerial portions (LORENZI; MATOS, 2008). Woerdenbag *et al.* (1994) described the hepatotoxicity of *A. montana*, attributable to the cytotoxic action of lactones sesquiterpenes, thus not recommending its oral ingestion. The FDA classifies the species as a “dangerous plant”, forbidding its use in formulations to be ingested (NEWALL; ANDERSON; PHILIPSON, 2002). There are, however, no clinical studies condemning the use of *Solidago chilensis* by oral ingestion – nor studies that demonstrate the safety of that form of use.

The sale of traditional phytotherapeutic products in Rio de Janeiro State (and all of Brazil) was regulated by “Diretoria Colegiada” (collegiate directorate) resolution (RDC) n° 10 of 2010 of the National Health Surveillance Agency (“Agência Nacional de Vigilância Sanitária” – ANVISA), which was revoked in 2014 by RDC n° 26 and replaced with new provisions concerning labeling, technical terms, and notifications (BRAZIL, 2014a). For any herbal medicine to be marketed as a traditional phytotherapeutic product, it must be exempt from the necessity of a medical prescription and demonstrate effectiveness based on its traditional use and pertinent bibliography. Nonetheless, there are plants whose commercialization is not permitted, as listed in Annex 1 of RDC n° 26. Traditional phytotherapeutic products can also be exempt from registration if listed by the Normative Instructions (IN) n° 02 and 13 of May/2014 (Brazil, 2014a; 2014b). *Arnica montana* is the only species currently encountered on that list.

As such, the present work examined different brands of “arnica” commercialized in Rio de Janeiro State using macroscopic, microscopic, and microchemical analyses as well as evaluations on labeling quality and the plant material itself. These studies were performed under the current regulations and the specialized literature concerning the species *Arnica montana* and *Solidago chilensis*.

Materials and methods

Obtaining samples

We examined eight samples of “arnica” from different brands acquired from randomly chosen commercial establishments in Rio de Janeiro State in 2013. When the samples were acquired in 2013, RDC 10/2010 norms still ruled, so that our analyses are based on those as well as on the more recent requirements of RDC n° 26/2014, when applicable.

Labeling analyses

The labeling information on the products was evaluated under the discipline of RDC n° 10 de 2010 (BRAZIL, 2010), which regulates the notification of plant medicines to the National Agency of Public Health (Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA). The commercial registries (CNPJ) of the eight samples were verified by consulting the Internet pages of the regulatory organs ANVISA and MAPA. The descriptive statistical analyses regarding labeling data were performed using Microsoft Excel 2013®.

Macroscopic and microscopic analyses

The packaged materials were opened over plastic trays and photographed using a Canon Rebel T1i digital camera (15 megapixels). The most abundant contaminant elements were separated and identified as extraneous plant species or as plant parts different from those cited on the labels. These

analyses were made using an Olympus® CH30 optical microscope. The morphologies of the plant parts were compared with *Solidago chilensis* samples collected in Campo Grande, in the municipality of Rio de Janeiro, RJ, and with examples in the literature (BRAZIL, 2019; PANIZZA; GROTTA, 1965; LORENZI; MATOS, 2008). Ten stem and leaf fragments were selected from each sample and rehydrated in a 50 % solution of glycerin in ethanol absolute (P.A.).

The rehydrated material was analyzed based on the methodology described by Kraus and Arduin (1997). Sections for microscopic examination were cut using a tabletop microtome at thicknesses varying from 10 μm to 25 μm (depending on the quality of the sample). The slides were viewed using an Olympus® CH30 optical microscope and documented using a Moticam 2300® camera coupled to it, focusing on the region of the central nerve, the lateral nerves of the leaves, stems, and any contaminant material encountered. The images were processed using Motic Images Plus 2,0 ML® software. The same procedures were used for the *Solidago chilensis* standards conserved in 70 % ethanol. The results were compared with the *Solidago chilensis* standards regarding the presence of unique anatomical characteristics of the species (PANIZZA; GROTTA, 1965). The samples were also inspected for the characteristics of *Arnica montana* as described in the “Farmacopéia Brasileira” (BRAZIL, 2019).

Chemical analyses

For chemical evaluation, plant material from each brand was randomly selected. Then, 15 g of dried material of each sample was macerated in 100 mL of absolute ethanol for five days at 25 °C. The sample filtrate was dried with a rotary evaporator (60 °C; 100 rpm). The chemical analyses were performed using chemical tests for the identification of flavonoids, following the methodology proposed by Matos (1997). We added 3 mL of each extract into three numbered test tubes, following pH changes with hydrochloric acid (HCl 5 %) or sodium hydroxide (NaOH 3 %) (3.0, 8.5, and 11.0, respectively). The evaluation of each type of flavonoid was based on the color changes according to the pH range. For positive control, extracts of *Achyrocline satureioides* (flavonoids) were also used.

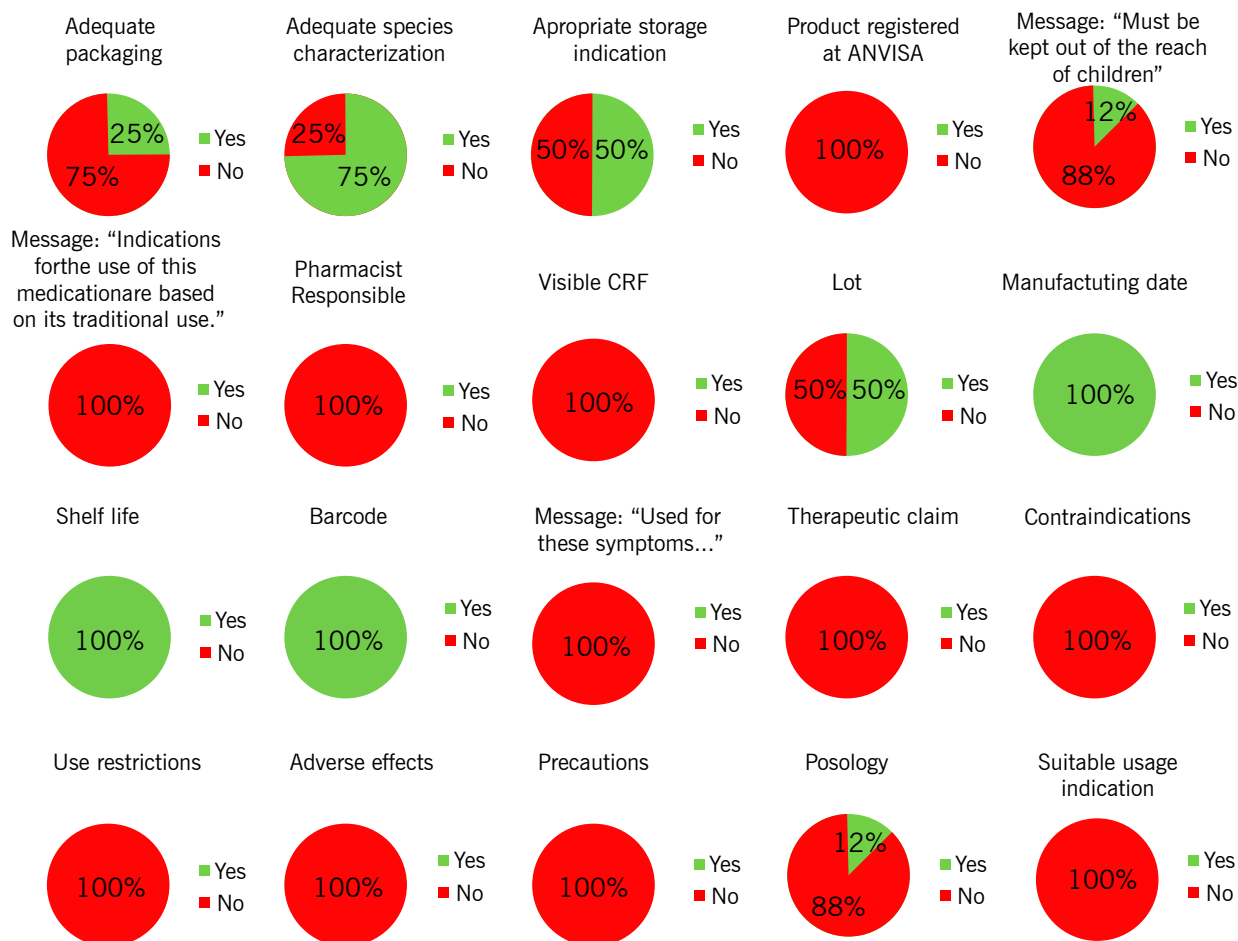
Results and discussion

The federal government of Brazil has been promoting research and development of medicinal plants and phytotherapeutics since 2006, beginning with Ministerial Decree MS/GM nº 971, of May 3, 2006, which approved the National Policies of Integrative and Complementary Practices (PNPIC) within the Unified Health System (SUS). In the case of “arnica”, the Brazilian species *Solidago chilensis* was included in the National List of Medicinal Plants of Interest to SUS (RENISUS) (BRAZIL, 2009), under the synonym *Solidago microglossa* DC. Plants on the list are the subject of studies supporting the use of traditional medicinal herbs, to ensure the safety of the country’s citizens within the directives of the National Program of Medicinal and Phytotherapeutic Plants (BRAZIL, 2008). *S. chilensis* was not, however, listed in Annex I of the RDC 10/2010, and therefore could not be sold as a medicinal plant in 2013. In opposition to the species *A. montana*, the *S. chilensis* was not listed again in IN nº 2 of 2014, as it lacked any registry whatsoever for commercialization, including clinical tests (which only *Arnica montana* has fulfilled until the current moment). As mentioned above, there are incentives for research on *Solidago chilensis* and its traditional use, although adequate studies that could allow its commercialization have not yet been undertaken.

Labeling analyses

The labeling analyses of samples I to VIII, in compliance with RDC n° 26/2014 norm, are summarized below (FIGURE 1).

Figure 1 – Labeling analyses of the 8 samples obtained in commercial establishments in Rio de Janeiro State (RJ) in 2013.



Source: Elaborated by the authors (2020).

It was verified that none of the samples were in full accordance with RDC n° 26/2014 terms. Amongst the violations encountered, there were the following:

- 1) The absence of information regarding storage (such as "store in a cool dry place" or "store at room temperature");
- 2) The lack of warnings concerning child safety ("keep out of reach of children");
- 3) No advisory message stating that it is not a drug, deriving rather from other origins ("indications for the use of this medication are based on its traditional use");
- 4) No indications of a responsible pharmacist; samples III and IV indicated only the chemist responsible (which is not a regulation requirement);
- 5) Inadequate directions of use, namely the ingestion in the form of tea (oral infusion). The labels of samples II to VIII all show pictures that resemble a teacup;

- 6) Samples I, II, III, V, VII, and VIII were sold in translucent packaging (not opaque), which allowed sunlight contact;
- 7) None of the samples contained observations concerning the use by pregnant women (“Pregnant women should not use this product without consulting a qualified health professional”);
- 8) The plant species were not identified on samples IV and V, which made the analyses more difficult, since there were no established standards for comparison.
- 9) Samples II and III indicated their contents as *Arnica montana* but no floral capitula could be found, which identifies with the cited species. Being the package transparent, it was possible to observe the presence (or not) of the floral capitula.

Initial inspections were carried out to determine if the packaging material was adequate and if the samples were being sold within their shelf-life limits (if that information was available), to prevent quality loss during storage. Our analyses of the packages labeling demonstrated several quality infringements according to RDC 10/2010 standards (BRAZIL, 2010) – standards that range from “no immediate risk to consumer health nor to the integrity of the material” (Points 1 to 3), to “immediate risk to consumers based on factors that impact guarantees of quality and integrity of the plant remedy” (Points 4 and beyond). As of the ruling legislation, the indication of a pharmaceutical technician is no longer required on the packaging of traditional phytotherapeutic products – which is counterproductive, as these new regulations were imposed to increase vigilance over plant remedies being sold in that country.

We were not able to find any previous studies examining the labeling of arnica samples for traditional use, either as *Solidago chilensis* or *Arnica montana*, making the present work the first effort to examine this facet of “arnica” marketing. In that sense, the commercialization of plant drugs in Rio de Janeiro State needs to be better regulated and enforced, as the falsification of natural products is considered a crime (article 275, chapter III of the Penal Code), with penalties ranging from 1 to 5 years in prison and/or fines (BRAZIL, 1998).

In general, the investigated samples were in an extremely poor state of conservation, which affected the quality of the sections prepared for microscopic examination and made the analyses and recognition of their essential structures harder. Nonetheless, the similarities and discrepancies observed in terms of the standards allowed the identification of the materials and diagnoses of their quality, which, associated with the chemical analyses, were sufficient for our objectives.

Current legal requirements stipulate that quality control of raw materials for traditional phytotherapeutic products, especially plant remedies, must include macroscopic and microscopic identifications of the matter commercialized as well as chromatographic profiles of their extracts (BRAZIL, 2014a; BRAZIL, 2019). Nevertheless, chemical tests with specific reagents for each assessed metabolite class associated with morphological analyses could also be useful regarding quality control of plant drugs. Also, the use of other tests rather than those from pharmacopeias is allowed since the authors provide a detailed description of such methodologies (BRASIL, 2014a).

RDCs 10/2010 and 26/2014 specify that the weight of the plant constituent must be displayed on the primary or secondary packaging of any traditional phytotherapeutic product (although these provisions do not specify permitted weight variations). This feature was, however, regulated by INMETRO decree nº 248/2008, which focuses on the verification of the weights and volumes of commercial products (BRAZIL, 2008). Studies are pointing out variations in weights of plant material in the fourth and fifth editions of “Farmacopeia Brasileira”, although they have generally focused on medicines. In the present case of arnica, samples I, IV, V, VII demonstrated average variations of 28.01 % of real product weights

below those declared on the packaging (featured on red font) – demonstrating variations greater than one-quarter of the declared weight. Samples I, II, III, V, and VII had primarily plastic wrappings, totally exposing the products to ambient light sources, while the labels themselves were made of paper – contrary to provisions designated to assure packages would protect the plant remedies from solar radiation and possible alteration and/or degradation of their contents. These results demonstrate serious issues with the packaging from a qualitative point of view. There are no properly established parameters on tolerated variations of product weights – demonstrating a lack of official concern regarding quality and uniformity aspects of those products. The ANVISA regulations (RDC 10/10 and RDC 26/14) are incomplete on what concerns the weight of the phytotherapeutic products in the market.

Anatomical analyses of the samples

Sample I

The manufacturer identified the species as *S. microglossa* - morphological and anatomical patterns were described for comparison (FIGURE 2A-C) with each sample and *A. montana* (FIGURE 2D). The heterogeneity of the sample was duly noted, with stems of different thicknesses, leaves of various tones, being both quite fragmented (FIGURE 2E). We also observed glandular trichomes on the abaxial epidermis in the midrib and lateral bundles next to the main vascular bundle. There were no secretory canals associated with the vascular bundles (FIGURE 2F). The leaf outline is biconvex and palisade parenchyma was observed on the adaxial face, with spongy parenchyma immediately below (FIGURE 2F). The stem demonstrated vascular bundles arranged in a ring, with no aerenchyma in the cortex. A fibrous pericycle was little evident. This sample could not be classified as *Solidago chilensis* due to the absence of markers of that species (FIGURE 2G). The stem contaminants demonstrated a well-developed secondary vascular system, with no fibrous pericycle, secretory canals, or aerenchyma. The cortical parenchyma was thin and without evident intercellular gaps. The medulla demonstrated some degenerated regions, indicating the poor conservation of the sample (FIGURE 2H).

Sample II

This sample, labeled as *A. montana*, exhibited a complete absence of floral capitula and was contaminated by grasses. It was composed of leaves and stems that were extremely thinly divided, totally incongruent with the species declared on the label (FIGURE 2I).

Microscopic analyses revealed leaf blades with dorsiventral symmetry. Secondary vascular units were observed next to the principal units in the region of the central nerve, without associated secretory canals. Collenchyma was present only on the adaxial face, and the shape of the midrib was quite different from that of *Solidago chilensis* (FIGURE 2J). The stems did not show cortical aerenchyma. No secretory canals were observed in associations with the vascular bundles, and the medulla showed elongated cells, different from *Solidago* (FIGURE 2K). The contaminant leaves showed nerves parallel to the leaf blade with visible bulliform cells, as well as anatomical patterns consistent with monocots of the grass family (FIGURE 2L).

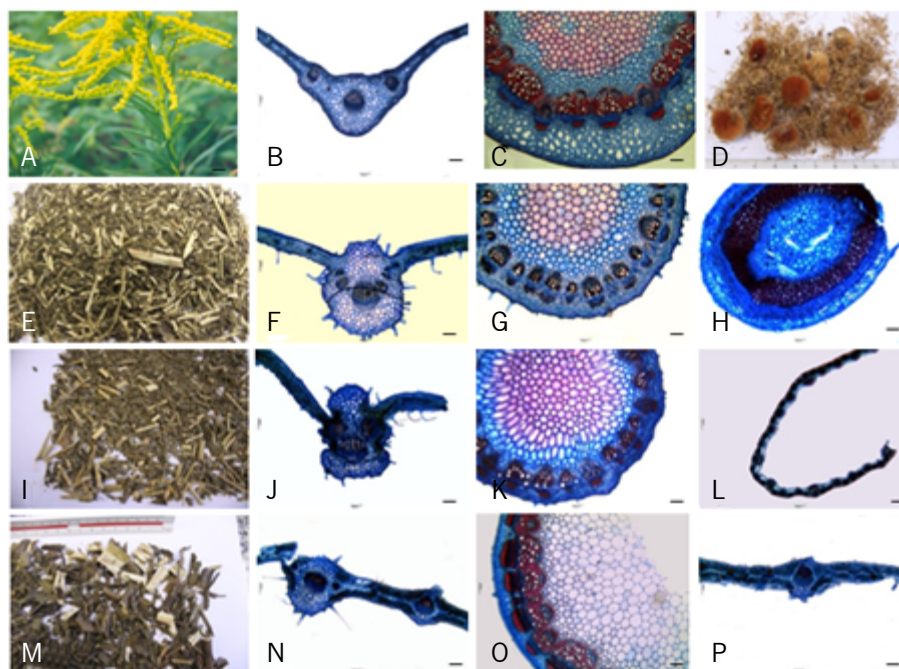
Sample III

We noted the presence of thick stems with soft medullar regions and the predominance of very finely divided leaves. Even though the label declared the species to be *Arnica montana*, the sample did not show vestiges of floral capitula (FIGURE 2M). The leaf fragments demonstrated characteristics

resembling those of *Solidago chilensis*, with secretory canals associated with the vascular units, isobilateral palisade parenchyma in the leaf blade, and trichomes near the midrib (FIGURE 2N).

According to Panizza and Grota (1965), trichomes may or may not be present in *S. chilensis*. Of the stems recovered, only one was able to be studied. That sample showed collapsed cortical aerenchyma in some regions and vascular bundle placement like that associated with *Solidago chilensis* (FIGURE 2O). Leaf contaminants were small in comparison to other leaves in the same sample, with secretory canals associated with the vascular bundles, indicating those might have been very young leaves of *S. chilensis* (FIGURE 2P).

Figure 2 – (A) Macroscopic aspects of *Solidago chilensis*. (B) Transverse section of the midrib region of *Solidago chilensis*. (C) Transverse section of the stem of *Solidago chilensis*. (D) *Arnica montana* as a medicinal plant. (E) General aspect of Sample I. (F) Midrib region, having glandular trichomes and vascular bundles without associated secretory canals. (G) Transverse section of the stem. (H) Transverse section of a contaminant stem. (I) General aspect of Sample II. (J) Midrib region. Collenchyma near the adaxial region, demonstrating palisade parenchyma and the remains of the mesophyll filled by spongy parenchyma. Medulla with elongated cells, common to *Solidago chilensis*. (K) Stem region. (L) Contaminant leaf, possibly Poaceae. (M) General aspect of Sample III. (N) Midrib region, with secretory canals associated with the vascular bundles. Isobilateral palisade parenchyma is separated by two layers of spongy parenchyma. Annular placement of the vascular bundles similar to the pattern of *Solidago*. (O) Transverse section of the stem. (P) Contaminant leaf. Bars: (A) = 1 cm; (B, F, J, L, N, P) = 200 μ m; (C, G, H, K, O) = 100 μ m. Rio de Janeiro State (RJ), 2013.



Source: Elaborated by the authors (2020).

Sample IV

The label did not specify the species, despite the use of the popular name “ARNICA”. The sample contained stem fragments that were reduced to tiny particles, and leaves reduced to dust. The material was quite pale and there were portions of plant reproductive structures. There was an intense aroma of menthol. There were also stem shreds with distinct colors and fibrous aspects (FIGURE 3A).

The leaf fragments were extremely small, almost pulverized. There were several multicellular trichomes (FIGURE 3B). The stem showed a vascular system in transition to secondary growth; akin to the standard, but we could not observe any aerenchyma in the cortex. There were no secretory

canals associated with the vascular bundles (FIGURE 3C). The stem contaminants did not show any secretory canals associated with the vascular bundles or aerenchyma (FIGURE 3D).

Sample V

The packaging was labeled "MONTANA LINNE" (sic), but no floral capitula of *A. montana* were encountered in the sample material. The plant matter was pulverized, with large amounts of shredded stems (FIGURE 3E). The leaves were morphologically analogous to those seen in Sample II. Vascular bundles were observed in the central region of the leaves, but without any associated secretory canals (FIGURE 3F). Likewise, the stems did not show secretory canals associated with the vascular bundles, and there was no evidence of aerenchyma, being therefore distant from the *S. chilensis* standard (FIGURE 3G). The stem contaminants showed signs of a periderm (FIGURE 3H).

Sample VI

This sample was labeled as *Solidago chilensis*. The material was well conserved, although 40 % of the stem structures were in varying stages of development. More than one type of leaf was mixed within the sample. We encountered contaminant structures that appeared to be rhizomes, different from the pattern expected for *Solidago chilensis* (FIGURE 3I).

The leaves showed secretory canals associated with the vascular bundles, but the isobilateral palisade parenchyma was difficult to identify (FIGURE 3J). The vascular bundles contained phloem, with areas of lignified cells and associated secretory canals (FIGURE 3K). The leaf contaminants showed trichomes on the adaxial surface and anatomical traits different from the standard (FIGURE 3L).

Sample VII

This sample was labeled as *S. chilensis*. The material was predominantly composed of stems at different stages of development. There were floral structures comparable to those of the floral capitula of Asteraceae. The sample was very heterogeneous, with highly fragmented leaves, many of which were reduced almost to dust. We noted the presence of numerous leaf and floral fragments, possibly derived from grasses (FIGURE 3M).

The leaf fragments showed palisade parenchyma towards the abaxial surface in the midrib region, as seen in the *Solidago chilensis* standard (FIGURE 3N). The stems had many obliterated and degenerated regions in the cortex and pith due to the poor conservation of the material, although secretory canals associated with the vascular bundles could be identified (FIGURE 3O). The contaminant leaf material of this sample showed anatomical similarities to Poaceae (FIGURE 3P).

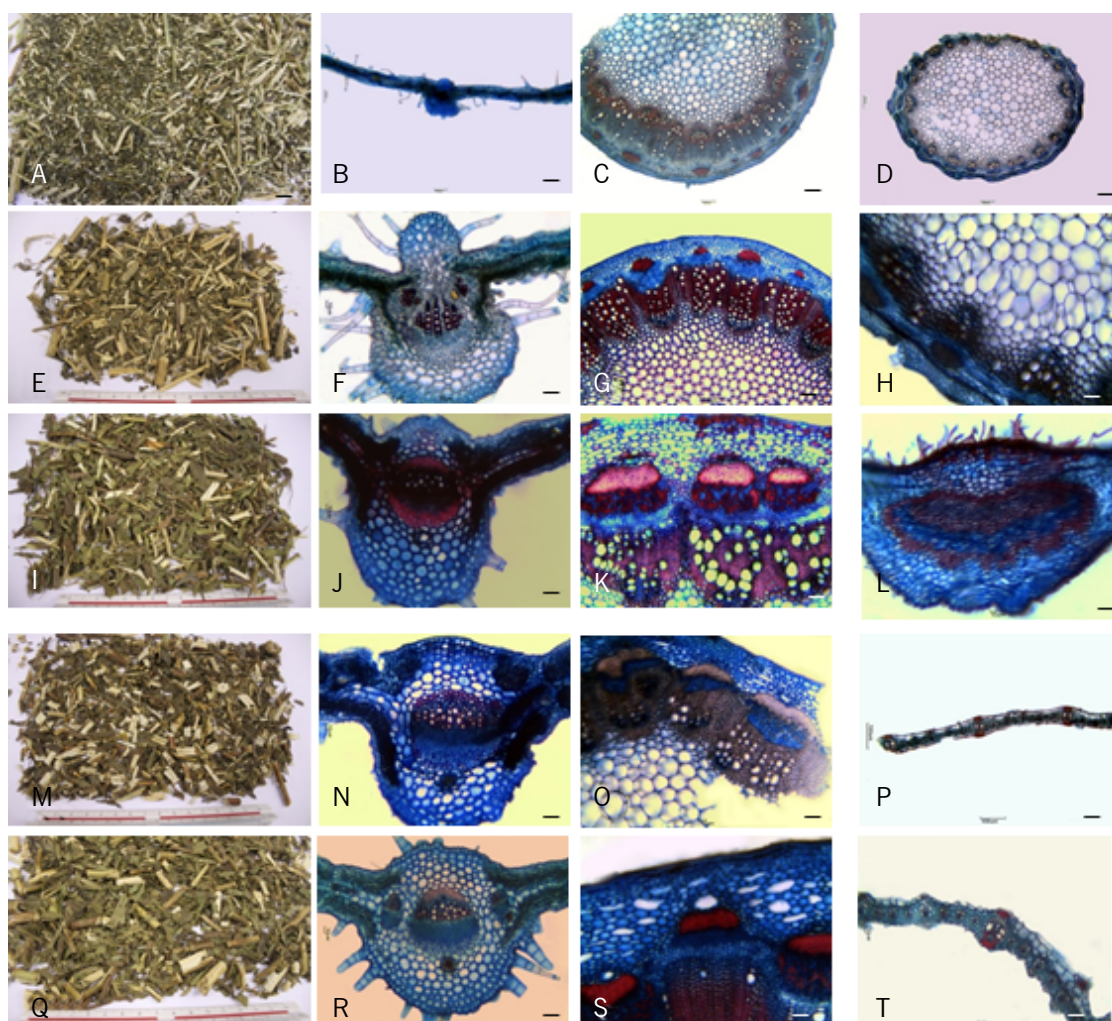
Sample VIII

This sample was composed of leaves and stems, with the clear presence of grass contaminants. The stems demonstrated different covering tissues, characterizing different stages of plant development and/or contamination by various species (FIGURE 3Q).

Isobilateral symmetry was observed, and trichomes were identified in the midrib region, as well as secretory canals associated with the central vascular system. There were accessory vascular bundles with biconvex shapes, different from the standard sample, although there is the possibility, considering other characteristics, that the plant material in question did belong to the genus *Solidago* (FIGURE 3R). The stem showed visible aerenchyma and secretory canals associated with the vascular

bundles (FIGURE 3S). The contaminant leaves encountered had anatomical features resembling those seen in grasses (Poaceae), as in samples II and VII (FIGURE 3T).

Figure 3 – (A) General aspect of Sample IV. (B) Midrib region. (C) Transverse section of the stem, showing the annular placement of the vascular bundles, similar to the pattern known for *Solidago*. Abundant multicellular trichomes. Aerenchyma not observed (D) Transverse section of a contaminant stem. (E) General aspect of Sample V. (F) Midrib region. (G) Stem region with annular vascular bundles, without associated secretory canals. Aerenchyma was not observed. (H) Detail of a contaminant stem. (I) General aspect of Sample VI. (J) Midrib region, showing a secretory canal associated with the vascular bundle. Isobilateral palisade parenchyma. (K) Transverse section of the stem. Note abundant extraxylary fibers adjacent to the phloem. (L) Transverse section of the midrib of a contaminant leaf. (M) General aspect of Sample VII. (N) Transverse section of the midrib, with isobilateral palisade parenchyma extending into its abaxial region. (O) Transversal section of a stem. (P) Transverse section of a contaminant leaf (Poaceae). (Q) General aspect of Sample VIII. (R) Transverse section of the midrib region of a contaminant leaf. (S) Transverse section of a stem, showing secretory canals associated with the vascular bundle, and well-defined aerenchyma (T) Transverse section of a contaminant leaf. Bars: (A) = 1 cm; (B, D, P) = 200 μ m; (C, F-H, J-L, N, O, R, T) = 50 μ m. Rio de Janeiro State (RJ), 2013.



Source: Elaborated by the authors (2020).

None of the samples, even those specifically identified as *Arnica montana* on their labels, demonstrated any floral capitula of that species; the samples did, however, demonstrate visual similarities to *Solidago chilensis* regarding their leaves and aerial portions. According to Panizza and Grotta (1965), among the characteristics that can be used to identify *S. chilensis* are the presence (or not) of secretory canals

associated with the vascular bundles; the tissue composition of the central nerve and lateral regions; the presence of aerenchyma in the stem; and the presence of collenchyma in the leaves. Additionally, Athayde *et al.* (2019) studied some species known as ‘arnica’, including *S. chilensis*, and provided morphological and chemical diagnostic markers, which could be also applied in the “arnica” quality control.

Microscopic analyses of the samples indicated serious detriment on quality due to inadequate storage of the plant material. The shredded leaves and stems (the latter should not even be present) were only able to be diagnosed after meticulous analysis and added to the heterogeneity of the material. It was possible to identify similarities between some samples, as samples II and V, and also to detect divergent material, such as sample IV – but there was not a single positive result for the primary species (*Arnica montana*). Similar results were obtained on studies of commercial samples of other plant remedies such as “centela”, “chá verde” (green tea) and “espinheira santa” (COSTA; GUIMARÃES; VIEIRA, 2015), and “quebra pedra”, “espinheira santa”, “erva doce”, “carqueja” and “boldo”, in which no sample had been approved regarding label information and quality markers (LOPES *et al.*, 2019). These insights highlight the poor quality of medicinal plants sold in the country.

Chemical analyses of the samples

The microchemical analyses of different types of flavonoids showed that samples I, II, III, V, VI, VII, and VIII were similar to *Solidago chilensis*, notably by the presence of flavonols detected in Test 1, and, more specifically, flavanones by Test 2. Sample IV, however, did not contain any flavonoids at all, either by Test 1 or Test 2, indicating that its chemical constitution was divergent from the standard (what was also confirmed in the anatomical analyses).

Table 1 presents the results of the chemical tests of the samples after alcohol extraction. The materials were extracted at different pHs and at different temperatures to detect different types of flavonoids, followed by ultraviolet tests to detect flavanones. Table 1 also displays the qualitative microscopic results and the weights of the samples.

Table 1 – Results of the chemical and morphological analyses and the weights of the analyzed samples from Rio de Janeiro State (RJ) in 2013. Variations out of tolerance range in sample weights are indicated in bold type, according to INMETRO decree nº 248/2008.

Sample	Flavonoid Classes (Test 1)	Presence of Flavonoids (Test 2)	Results of the microscopic analyses	Labeled weight/ true weight
I	Flavanones, Flavonols	Yes	Not observed <i>Solidago chilensis</i> and/or <i>Arnica montana</i>	20 g/ 11.7652 g
II	Flavanones, Flavonols	Yes	Not observed <i>Solidago chilensis</i> and/or <i>Arnica montana</i>	15 g/23.5700 g
III	Flavanones, Flavonols	Yes	Not observed <i>Solidago chilensis</i> and <i>Arnica montana</i>	20 g/19.0459 g
IV	Condensed tannins	No	Not observed <i>Solidago chilensis</i> and/or <i>Arnica montana</i>	20 g/ 16.0352 g
V	Flavanones, Flavonols	Yes	Not observed <i>Solidago chilensis</i> and/or <i>Arnica montana</i>	15 g/ 11.4094 g
VI	Flavanones, Flavonols	Yes	Not observed <i>Solidago chilensis</i> and/or <i>Arnica montana</i>	20 g/21.1242 g
VII	Flavanones, Flavonols	Yes	Not observed <i>Solidago chilensis</i> and/or <i>Arnica montana</i>	20 g/ 14.5773 g
VIII	Flavanones, Flavonols	Yes	Not observed <i>Solidago chilensis</i> and/or <i>Arnica montana</i>	20 g/19.0079 g

Source: Elaborated by the authors (2020).

When it comes to the chemical analyses, seven of the eight samples would be approved according to the information contained on their labels, even though, as it has been demonstrated throughout this essay, an absolute majority of the samples would be rejected under their microscopic examination. In light of these facts, the importance of anatomical inquiry of plant materials must be emphasized to provide conclusive diagnostic evaluations; the storage conditions and handling of the plant matter must also be considered as they will greatly influence the chemical characteristics of the samples and could cause them to become less effective or even dangerous to human health.

Paes-Leme (2008) demonstrated that considerations respecting plant anatomy are of great importance to quality assurance of medicinal plants and herbal medicines and represent relevant criteria within the application of Good Manufacturing Practices. Microscopic analyses, although indispensable, can be insufficient to determine the quality of raw materials derived from plants and must be associated with chemical tests to provide conclusive results (WHO, 1998). Costa, Guimarães and Vieira (2015) correspondingly demonstrated the importance of combining morphological and microchemical studies in the analyses of commercial samples of other plant remedies.

As such, the results of our anatomical and chemical analyses of arnica products demonstrated that these techniques are complementary and capable of assuring, with good levels of reliability, the identity and quality of plant remedies through preliminary and low-cost analyses.

We hope that the present study will contribute to the establishment of specific disciplines for those elements and reduce problems caused by the lack of assurance over the quality of the raw materials offered to consumers, especially concerning the presence and percentages of contaminants.

Conclusion

The species *Solidago chilensis* was not listed in Annex I of the RDC nº 10 of 2010, and therefore could not be commercialized in 2013, and none of the products that identified themselves as *Arnica montana* demonstrated any similarity to that plant. They did, however, demonstrate resemblance to the Brazilian counterpart *S. chilensis*. Of the samples analyzed, none possessed qualities that could guarantee their safe and efficient use, for various reasons: all of the samples demonstrated problems in their labeling, ranging from incorrect to inadequate information concerning the material used in their compositions; none of them presented all of the characteristics necessary to identify the plant indicated on the label; the absolute majority of them contained contaminants and evidence of extremely inadequate storage and handling conditions. As such, the present work demonstrated the importance of both chemical and anatomical analyses for quality control of plant raw materials.

Análise da qualidade de amostras de Arnica (*Arnica montana* e *Solidago chilensis*) comercializadas no estado do Rio de Janeiro

Resumo

Arnica montana é uma espécie nativa da Europa usada topicamente no tratamento de contusões, inflamações e dores musculares. Estudos confirmaram a atividade anti-inflamatória de extratos da planta, sendo esta atribuída à presença de lactonas. No Brasil, seu uso é substituído tradicionalmente

pela espécie *Solidago chilensis*, mais adaptada ao clima tropical com similar atividade terapêutica. Sabe-se que a *S. chilensis* pode ser usada como substituta da *A. montana* por ter semelhantes ativos químicos. Foram adquiridas oito marcas diferentes de arnica no comércio do estado do Rio de Janeiro no ano de 2013. As análises realizadas foram divididas em quatro grupos: rotulagem, análise macroscópica, microscópica e microquímica. A análise de rotulagem seguiu os pontos inclusos nas RDCs nº 10/2010 e nº 26/2014. As análises morfológicas foram realizadas com auxílio de técnicas de microscopia e, posteriormente, ensaios microquímicos para a identificação dos marcadores. Os resultados indicaram ausência de amostra em total conformidade com os padrões de rotulagem; material malconservado; presença abundante de contaminantes; espécies declaradas incorretas e descrições de uso incorretas e potencialmente danosas à saúde humana.

Palavras-chave: Anatomia vegetal. Plantas medicinais. Produtos tradicionais fitoterápicos. Marcadores químicos. Marcadores de qualidade.

References

ATHAYDE, A. E. DE; RICHETTI, E.; WOLFF, J.; LUSA, M. G.; BIAVATTI, M. W. "Arnicas" from Brazil: comparative analysis among ten species. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 4, p. 401 - 424, jul. 2019.

BARNES, J.; ANDERSON, L. A.; PHILLIPSON, J. D. **Fitoterápicos**. Artmed, Porto Alegre, RS, 3ª Ed.: 720 pp., 2012.

BRASIL. Lei 9677 de 02/07/1998. Altera dispositivos do Capítulo III do Título VIII do Código Penal, incluindo na classificação dos delitos considerados hediondos crimes contra a saúde pública, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 03 jul. 1998. Seção 1, p 1.

BRAZIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 10, de 9 de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 10 mar. 2010. Seção 1, p. 52.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 26, de 13 de maio de 2014a. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 mai. 2014. Seção 1, p. 52.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 02 de 13 de maio de 2014b. Publica a "Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado" e a "Lista de produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado". **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 mai. 2014. n. 90, Seção 1, p. 58.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, Brasília; volume 2: 6ª Ed. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM/MS nº 2.960, de 9 de dezembro de 2008. **Aprova o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e cria o Comitê Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos** [Internet]. [cited 2016 16 mar] Available in: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2008/pri2960_09_12_2008.html. 2008

BRASIL. Ministério da Saúde. **Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS** [Internet]. [cited 2016 16 mar] Available in: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms_relacao_plantas_medicinais_sus_0603.pdf. 2009.

BRASIL. MDIC. Portaria Inmetro nº 248 de 17 de julho de 2008. **Regulamento técnico metrológico a que se refere a portaria INMETRO nº 248 de 17 de julho de 2008.**

COSTA, R. P. C.; GUIMARÃES, A. L. A.; VIEIRA, A. C. M. Avaliação da Qualidade de Amostras de Plantas Medicinais Comercializadas no Brasil. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 3, p. 425-433, 2015.

GASTALDI, B.; CATALÁN, C. A. N.; SILVA-SOFRÁS, F. M.; GONZÁLEZ, S. B. *Solidago chilensis* Meyen (Asteraceae), a medicinal plant from South America. A comprehensive review: ethnomedicinal uses, phytochemistry and bioactivity. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 17, n. 1, p. 17-29, 2018.

HALL, I. H. Anti-inflammatory activity of sesquiterpene lactones and related compounds. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 68, n. 5, p. 537-542, 1979.

KELLY, A. M.; OLIVEIRA, T. B. DE; VALVERDE, S. S. Determination of the metabolic profile of *Solidago canadensis* using UFLC-PDA-ESI-TOF. **Rodriguésia**, v. 71, p. 01062019, 2020.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. EDUR, Seropédica, RJ: 198 pp., 1997.

LOPES, A. C.; OLIVEIRA, V. J. S.; SILVA, L. L. S. C.; MASCARENHAS, L. S.; BRITO, N. M. CONTROLE DE QUALIDADE DE ERVAS MEDICINAIS COMERCIALIZADAS EM SANTO ANTÔNIO DE JESUS-BA. **Journal of Biology**, v. 15, n. 3, p. 15, 2019.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais do Brasil**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, Nova Odessa, SP, 2ª Ed: 576 pp., 2008.

LYSS, G.; SCHMIDT, T. J.; MERFORT, I.; PAHL, H. L. Helenalin, an anti-inflammatory sesquiterpene lactone from *Arnica*, selectively inhibits transcription factor NF-kappa B. **Bollettino chimico farmaceutico**, v. 378, n. 9, p. 951-961, 1997.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. Ed. UFC, Fortaleza, CE; 2ª Ed: 141 pp., 1997.

NEWALL, C. A.; ANDERSON, L. A.; PHILIPSON, J. D. **Plantas medicinais: guia para profissional de saúde**. São Paulo. Premier: 40-41, 2002

PAES-LEME, A. C. V. **A Importância da Microscopia no Controle de Qualidade de Drogas de Origem Vegetal**, 2008. 40 f. [Monography (Especialização em Tecnologia Industrial Farmacêutica), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ]

PANIZZA, S; GROTTA, A. S. Contribuição ao estudo morfológico e anatômico de *Solidago chilensis* DC. Compositae. **Revista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v. 3, p. 27-50, 1965.

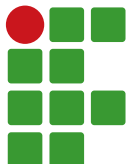
THE PLANT LIST. Version 1.1. *Solidago microglossa* DC. [Internet]. [cited 2016 16 mar] Available in: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/gcc-116108>. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Quality control methods for medicinal plant materials**. Geneva, 1998. 123p.

WOERDENBAG, H.J.; MERFORT, I.; PASSREITER, C.M.; SCHMIDT, T.J.; WILLUHN, G.; VAN UDEN, W.; PRAS, N.; KAMPINGA, H.H.; KONINGS, A. W. Cytotoxicity of flavonoids and sesquiterpene lactones from *Arnica* species against the GLC4 and the COLO 320 cell lines. **Planta Medica**, v. 60, n. 5, p. 434-437, 1994.

Received: July 28, 2020

Accepted: November 5, 2020



Inhibition of the fungus *Colletotrichum lindemuthianum* in the presence of different potassium sorbate concentrations

Fernanda Engel¹

Antônio Azeredo Coutinho Neto²

Abstract

One of the major problems of *in vitro* plant cultivation is caused by contaminations such as fungal, which represent great losses for plant cultivation laboratories. In view of the problem about contamination and gaps in efficient disinfection protocols, the present study aimed to evaluate the inhibition of the fungus *Colletotrichum lindemuthianum* in the presence of the potassium sorbate food preservative at different concentrations (0 g L⁻¹; 0.076 g. L⁻¹; 0.15 g. L⁻¹; 0.30 g. L⁻¹; 0.45 g. L⁻¹; 0.60 g. L⁻¹ and 0.75 g. L⁻¹). The analyses of the Percentage of Micelial Growth Inhibition (ICP) and the growth at 24 and 72 hours at different concentrations were quantified. It was observed that Potassium Sorbate was effective in the analysis of ICP at different concentrations in relation to control, with greater effectiveness for T4 to T7. The highest percentages of inhibition (T5 to T7) presenting an inhibition rate of mean mycelial growth of 17.5 % in relation to the control for the 72h period, indicating, therefore, that with further studies this preservative can be used to combat fungal microorganisms *in vitro* culture.

Keywords: Inhibition. Microorganism. In vitro contamination. Fungal inhibition. Mycelial growth. Food preservative.

Introduction

The development and improvement of plant manipulation techniques *in vitro* contributes to the production of plant species on a large scale and at all times of the year (LEIFERT; CASSELLS, 2003). These techniques consist of the production of clones of a plant from an explant, and the complete regeneration of a fragment to a complete plant is based on the principle of cellular totipotency, and at the end, a plant will be obtained that will present the same genotypic constitution as the one that gave rise to it (TORRES *et al.*, 2000).

Despite numerous advantages found in large-scale *in vitro* production, some problems have not yet been fully or safely solved, such as contamination, which cause large losses of plant material and which are possibly the main problems encountered in tissue culture (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; LEIFERT MORRIS; WAITES, 1994; CASSELLS, 2000b). Contaminations can occur by fungi, yeasts, bacteria, viruses, and also by the operator who manipulates plant material (GEORGE, 1993; CASSELLS, 2000a). Thus, to inhibit or minimize the problem resulting from contamination, numerous disinfection procedures and protocols are used in *in vitro* micropropagation laboratories (YEPES; ALDWINCKLE, 1994; PIERIK, 1997; VIANA *et al.*, 1997; PASQUAL, 2001; HIRATA; MANCINI-FILHO, 2002; COLOMBO *et al.*, 2004; EMMANUEL *et al.*, 2004).

1 Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI). Estudante de Pós-Graduação (Doutorado em Ciência e Tecnologia Ambiental). fernanda_engel@hotmail.com.

2 Universidade de São Paulo (USP). Estudante de Pós-Graduação (Mestrado em Ciências Biológicas). antonioacneto@biologo.bio.br.

A possibility in view of the problem of contamination is the use of food preservatives such as Potassium Sorbate ($C_6H_7O_2K$), added to the culture medium, considering that it is already widely used in various foods, cosmetics, and pharmaceuticals for the containment of decaying microorganisms such as fungi and their spores, bacteria, and yeasts (OLIVIER *et al.*, 1998; SUHR; NIELSEN, 2004; GUYNOT *et al.*, 2005; BRAZIL, 1999; ESFANDIARI *et al.*, 2013), being considered a product with dependent dose action (OLIVIER *et al.*, 1998; FAGUNDES *et al.*, 2013). Has decomposition at temperatures above 270 °C, which favors its use in culture media due to its previous sterilization (SOFOS, 1995). Its inhibitory action has been attributed to the inhibition of enzymes, and the substance may accumulate in the cytoplasmic membrane of microorganisms, interfering in the transport of substrates and oxidative phosphorylation, resulting in mycelial non-growth and its sporulation (FREESE, SHEU; GALLIERS 1973; SOFOS, 1995; FALLIK *et al.*, 1997; PALMER, HORST; LANGHANS 1997; HEYDARYINIA, VEISSI; SADADI, 2011). Some studies have demonstrated its efficacy in plantations, that is, in the *in vivo* condition (DELIOPOULOS, KETTLEWELL; HARE 2010; MECTEAU; ARUL; TWEDDELL, 2002), and studies using Potassium Sorbate or its derivatives as inhibitors of microorganisms *in vitro* are scarce. Due to this gap, this article aimed to evaluate the inhibition of a fungus (*Colletotrichum lindemuthianum* Sacc. & Magnus) Briosi & Cavara 1889 in the presence of different concentrations of potassium sorbate, with a view to its use *in vitro* plant cultivation.

Material and methods

Choice of the potassium sorbate food preservative

The choice of this food preservative was due to the fact that it is already used in the food, cosmetic and pharmaceutical area, has easy to obtain, it has an affordable cost and it has a decomposition temperature above 270 °C, and thus remains stable during the autoclaving process, as well as presenting a versatility as to the broad spectrum of microorganisms whose growth is inhibited (BRAZIL, 1999; GUYNOT *et al.*, 2005; ESFANDIARI *et al.*, 2013), according to the range of microorganisms that occur *in vitro*, and also, for presenting low levels of human toxicity, with a median lethal dose of 500 g in an adult (OLIVIER *et al.*, 1998).

Isolation, choice, and culture medium of the fungus *C. lindemuthianum*

The phytopathogenic fungus *C. lindemuthianum* was isolated from lesions in the bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Small sterilized fragments of the lesions were collected and inoculated in the center of plates with Potato-Dextrose-Agar (BDA) medium, 20 mL, and kept in the dark at 25 ± 2 °C for 72 hours. After isolation and growth in plaques, the fungus was used in the treatments.

The choice of this fungus was due to its ease of isolation and cultivation, as well as the literature showing that fungi of the genus *Colletotrichum* infect various cultures and some are causing anthracnose disease (MUNCH *et al.*, 2008; DAMM *et al.*, 2010). In addition to infections that can be observed in the *in vivo* condition, such fungi can also infect explants when inoculated *in vitro* in the most different plant species, making this fungus quite recurrent *in vitro* cultivation (HORNER; AUGUSTIN; FORCELINI 2001; MARTIN *et al.*, 2003), taking advantage of the nutritional environment for its development (KRISHNA; SINGH, 2007; ANDRADE *et al.*, 2008).

Effect of inhibition of mycelial growth of the fungus *C. lindemuthianum*

With the aid of a 5 mm hole punch, uniform fragments of 5 mm diameter of BDA medium were obtained with mycelium of the fungus growing after 72 h of the previously described isolation (MENTEN *et al.*, 1976). These culture medium discs containing mycelium were inserted in the center of three plates for each of the treatments, as well as in three plates without the presence of potassium sorbate (control).

After inoculation of the discs, the plates remained in the growth room at 25 ± 2 °C, with a photoperiod of 12 h for a total time of 72 h, considering that above this time the control plate reaches the maximum growth margin within the culture medium. The mean radial diameter of the fungus growth was performed every 24 hours. The capacity in Percentage of Mycelial Growth Inhibition (ICP) was verified through the equation described by Edgington, Khew and Barron, (1971) with modifications suggested by Menten *et al.* (1976).

The radial growth of the fungus was always measured on the same axis during the analyzed period, taking as a reference point the center of the sample inoculated at time zero. It was inferred from the sampling center to the edge of mycelial growth, every day at the same time. The center of the 5 mm sample disc was demarcated, in addition, the same position was always demarcated for the sampling of mycelial growth values to the edge of the mycelium over the test time.

Potassium sorbate concentrations

Culture media were made with 6 different concentrations of Potassium Sorbate of the Adicel brand, in addition to control. Thus, the following treatments were obtained: T1: Control; T2: 0.076 g L⁻¹; T3: 0.15 g L⁻¹; T4: 0.30 g L⁻¹; T5: 0.45 g L⁻¹; T6: 0.60 g L⁻¹, and T7: 0.75 g L⁻¹. These concentrations were based on previous own studies that used the same food preservative *in vitro* cultivation, and the results showed that concentrations above 0.75 g L⁻¹ caused complete oxidation of the explant and subsequent death, and thus its use would be unfeasible to contain microorganisms for cultivation purposes.

These media were also sterilized (121 ± 1 °C and 1.1 atm) for 15 minutes in the autoclave (Prismatec 18L) and were then placed in Petri dishes of 9 cm in diameter (20 mL per plate) in a laminar flow chamber. Three plates were made for each treatment.

Statistics

The data were logarithmized to normalize the values and submitted to statistical analysis of variance through the Tukey and ANOVA test of a factor in the statistical program R (OKSANEN; KINDT; BLANCHET, 2013 - R core Team 2014). The data were represented through graphs with the averages of the triplicates of each treatment and control, together with the standard error of the samples in the Graphpad Prism Version 5.0 program.

Results and discussion

The different potassium sorbate concentrations tested on the percentage of mycelial inhibition, total growth (72 h), and daily growth rate (24 h) showed significant differences ($p < 0.001$) according to Table 1, evidencing the differences between the beginning of inoculation and up to 72 h of cultivation.

Table 1 – Data on the comparison of means (Tukey) in relation to the significance of mycelial growth inhibition, inhibition of growth after 72 h of incubation and every 24 h.

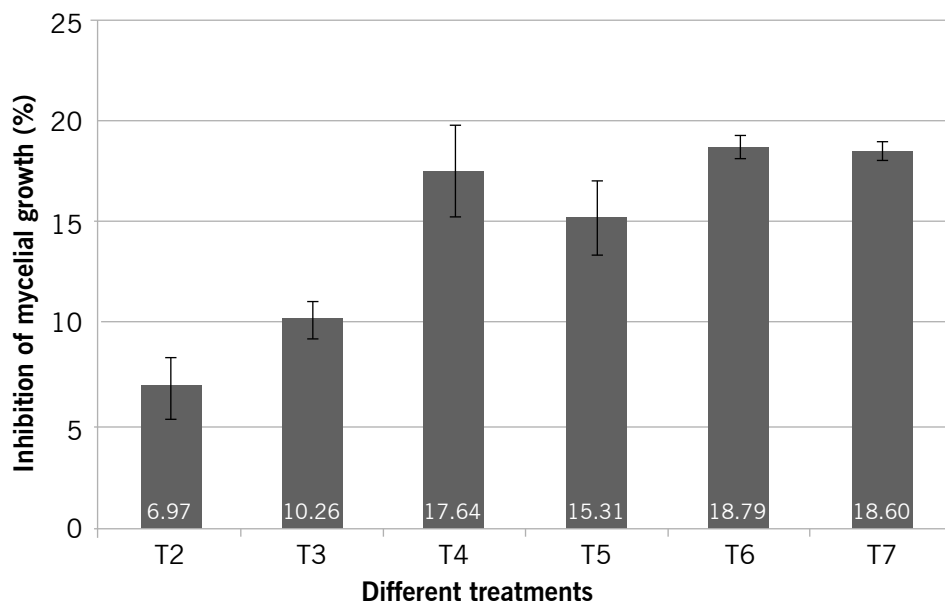
Variation	Treatments		
	d.f	F	P
Inhibition of mycelial growth	9	35.15	0,000000919
Growth after 72 hours of incubation	6	67.95	0,0000000151
Growth every 24 hours	6	67.95	0,0000000151

Source: Elaborated by the authors in University of São Paulo (2019).

Potassium sorbate is used to control different fungal species and their spores with effectively at some specific concentrations and their antifungal action has been attributed to enzyme inhibition, interference in substrate transport, and in the steps oxidative phosphorylation (FREESE; SHEU; GALLIERS, 1973; SOFOS, 1995). Its efficacy is also directly related to pH, and acid media cause greater inhibition in the development of fungi, bacteria, and yeasts (SOFOS, 1995).

In the Figure 1, it is possible to check that at the lowest concentrations (0.076 g L⁻¹ and 0.15 g L⁻¹) there was a lower inhibition of mycelial growth of the fungus *C. lindemuthianum* after 72 h of *in vitro* cultivation, and in the highest percentages of inhibition occurred in the highest concentrations, being 0.30 g L⁻¹, 0.45 g L⁻¹, 0.60 g L⁻¹, and 0.75 g L⁻¹ of the preservative potassium sorbate.

Figure 1 – Percentage of mean inhibition of mycelial growth of the fungus *C. lindemuthianum* after 72 h of *in vitro* cultivation under different concentrations of potassium sorbate.



Source: Elaborated by the authors in University of São Paulo (2019).

A few studies and/or reports inform that this preservative is effective in concentrations between 0.5 g L⁻¹ and 3.0 g L⁻¹ (BRASIL, 1999), not providing the percentage of inhibition or more information. Mecteau, Arul, Tweddell (2002) conducted a study analyzing the different effects of organic and inorganic salts against the phytopathogenic fungus *Fusarium sambucinum* causing rot in potato tubers. When analyzing mycelial growth and spore germination, the present study found inhibition

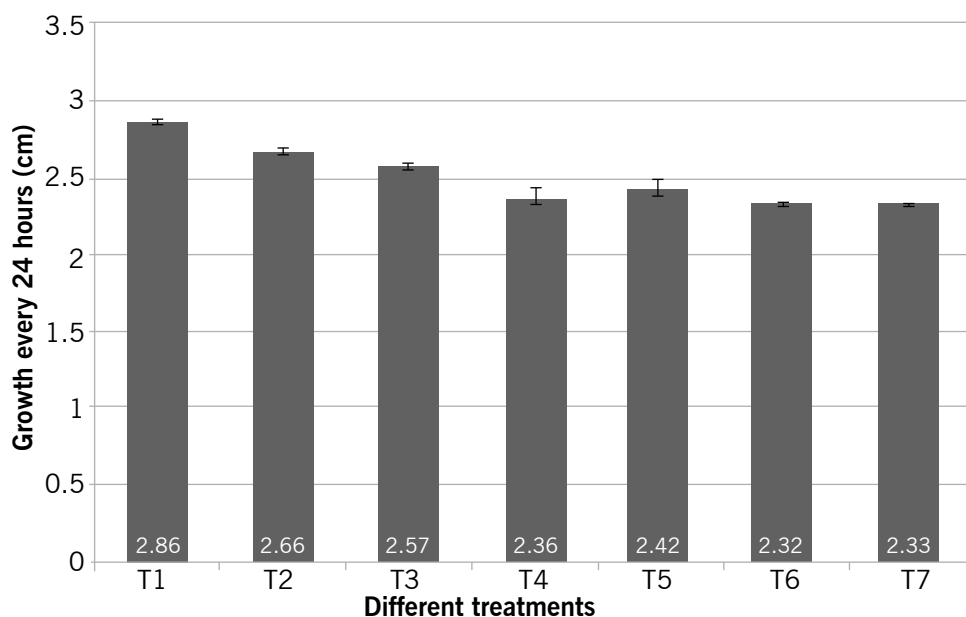
rates of 100 % for both conditions, when analyzing the concentration of 30 g L⁻¹ in 24 h of the experiment. In the present article, at the highest concentration (0.75 g L⁻¹) occurred an inhibition rate of 18.6 % and proportionally the inhibition rate was higher, considering that the concentration used was lower, as well as the exposure time was longer (72 h). Although it is also a phytopathogenic fungus, it is evidenced that the responses at the concentration level vary quite from one organism to another, and that high concentrations increase the effect as it is expected of a dose-dependent product.

Al Zaemey, Magan, and Thompson (1993) verified that potassium sorbate was efficient in completely suppressing the banana pathogen *Colletotrichum musae* at a concentration of 1.25 g L⁻¹ *in vitro* conditions. The highest concentration used in the present article was 0.75 g L⁻¹ and this was not efficient in completely suppressing the present phytopathogenic fungus belonging to the same genus, and this may have occurred due to the difference in concentration, which is about 1.6 times higher than used in the present article.

It was also found that at the concentration of 1,000 mg L⁻¹, it occurred 95 % inhibition of fungi that cause sinusitis when potassium sorbate was used *in vitro*. The highest concentration of the present study was 750 mg L⁻¹ and inhibition was much lower when compared with this study, considering, this time, no similarity to the genus of the tested species (ALSUDANI, 2017).

With the follow-up of mycelial growth every 24 h, a difference in the gain in centimeters was observed in the intervals of total growth, until the plaque was covered with mycelium of the fungus at the end of 72 h of cultivation. Lower growth averages were observed in the first two treatments with 0.076 g L⁻¹ and 0.15 g L⁻¹ (T2 and T3) with respect to control and growth averages even lower at concentrations of 0.30 g L⁻¹; 0,45 g L⁻¹; 0.60 g L⁻¹ and 0.75 g L⁻¹ (T4 to T7) of potassium sorbate per liter of BDA culture medium (FIGURE 2), thus evidencing that the higher concentrations of potassium sorbate promoted a lower average growth rate.

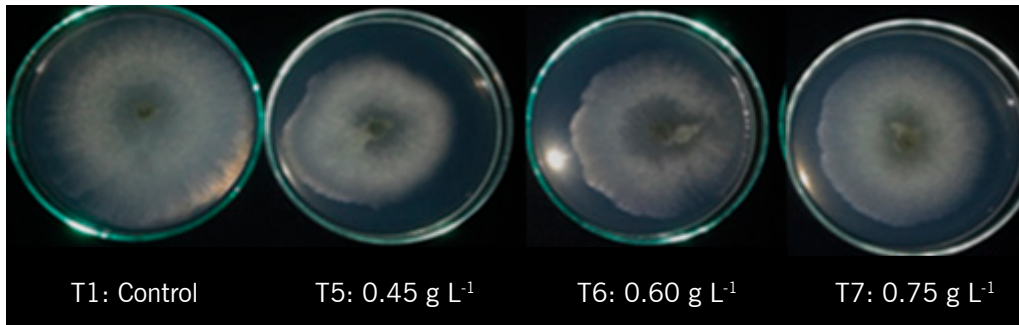
Figure 2 – Average growth in diameter (centimeters) of the fungus of *C. lindemuthianum* *in vitro* condition in the 24-hour interval under different potassium sorbate concentrations.



Source: Elaborated by the authors in University of São Paulo (2019).

It was also verified that after 72 h of *in vitro* cultivation the fungus *C. lindemuthianum* came to colonize 90 % of the plaque in T1 (control), and at the highest concentrations (T5 to T7: 0.45 g L⁻¹, 0.60 g L⁻¹, and 0.75 g L⁻¹) such colonization reached 70 %, causing, therefore, a reduction of plate colonization of 20 % (FIGURE 3).

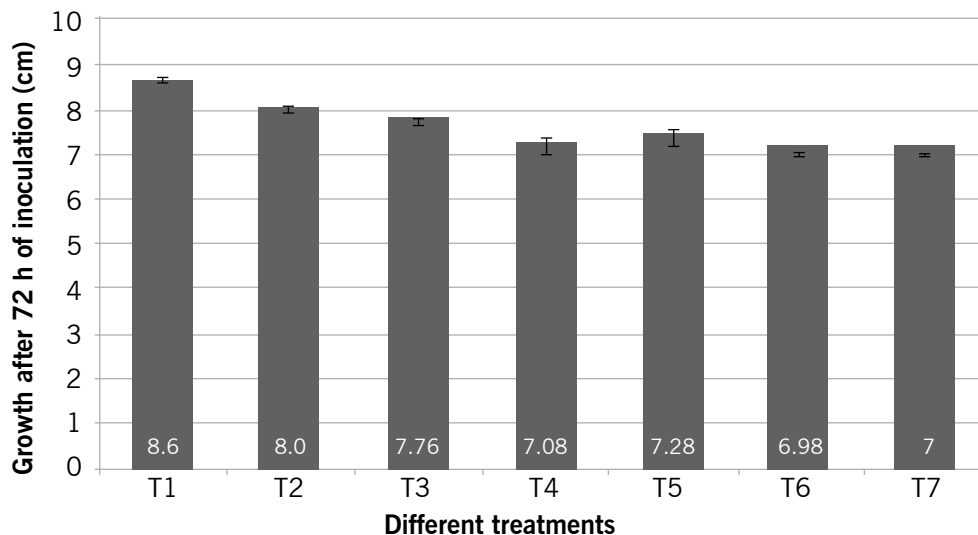
Figure 3 – Comparison of mycelial growth after 72 h of *in vitro* cultivation of T1, T5, T6, and T7 plates, respectively, evidencing the decrease in the colonization of the fungus *C. lindemuthianum* in the presence of potassium sorbate.



Source: Elaborated by the authors in University of São Paulo (2019).

These results were obtained from the average total growth of the present fungus after 72 h of cultivation (FIGURE 4).

Figure 4 – Comparison of the mean mycelial growth in diameter (centimeters) of the fungus *C. lindemuthianum* after 72 h of cultivation under different concentrations of potassium sorbate.



Source: Elaborated by the authors in University of São Paulo (2019).

It is noteworthy that although the plaque was colonized by the fungus even at the highest concentration of potassium sorbate (0.75 g L⁻¹), it is known that when manipulating an explant *in vitro* cultivation contamination occurs in much lower proportions than those practiced in the present study, considering all the asepsis processes that are previously performed according to studies (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; MORAES *et al.*, 2007). Thus, it is suggested that with the

asepsis performed previously and with the other care that should be adopted during the cultivate and the following phases of multiplication, the percentage of inhibition can certainly be well above the 20 % observed, it and may even result in a material free of contamination.

It is already known that there are several alternatives in the control of fungal contamination *in vitro* cultivation, such as those mentioned previously and in relation to their use in the culture media, studies have revealed that the use of some fungicides such as Benomil, Chlorothalonil, and Azoxistrobin demonstrated lethal effects for explants of a orchid and eucalyptus specie, even at the lowest concentrations studied, also evidencing its toxic characteristics to the environment (WATT; GAUNTLETT; BLAKEWAY, 1996; ODA *et al.*, 2003), and therefore, potassium sorbate may add up as a strategy to combat fungi observed *in vitro*, by the characteristics already presented.

Thus, considering that there are still some gaps in the disinfection processes for *in vitro* multiplication, as well as risks and unfeasibility in using commercial fungicides to combat fungal contamination *in vitro*, the food preservative potassium sorbate can be a product to be used to control the development of fungi in plant crops in the *in vitro* multiplication stage, given the results presented, which may help in a significant reduction of plant material losses due to contamination, which, in some cases, may cause the unsuccess of *in vitro* multiplication of plant species with consequent commercial loss, as well as the infeasibility of these *in vitro* cell culture laboratories (CASSELLS, 1991; CASSELLS, 1997).

Conclusions

Treatments from T4 to T7 had statistically equal and higher inhibition performances in relation to T2 and T3 treatments. The highest inhibition percentages occurred from T5 to T7 with an average inhibition rate of 17.5 % for the 72 h period, although the increase in potassium sorbate concentration also caused a higher percentage of inhibition, regardless of time, in all treatments.

The present study indicated that potassium sorbate can provide a control of the fungus *C. lindemuthianum*, and more information about its antifungal activities in the combat of *in vitro* microorganisms correlated with plant cell cultivation need to be elucidated.

Acknowledgements

To the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (Capes) and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), for the scholarships granted during the realization of this research.

Inibição do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* na presença de diferentes concentrações de sorbato de potássio

Resumo

Um dos grandes problemas do cultivo vegetal *in vitro* é causado por contaminações como as fúngicas, que representam grandes perdas para os laboratórios de cultivo vegetal. Diante da problemática acerca das contaminações e das lacunas em protocolos eficientes de desinfecção, o presente estudo teve como objetivo avaliar a inibição do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* na presença do conservante alimentar Sorbato de Potássio em diferentes concentrações (T1: controle, T2: 0,076 g L⁻¹;

T3: 0,15 g L⁻¹; T4: 0,30 g L⁻¹; T5: 0,45 g L⁻¹; T6: 0,60 g L⁻¹ e T7: 0,75 g L⁻¹). Quantificaram-se as análises da Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial (PIC) e o crescimento em 24 e 72 horas em diferentes concentrações. Observou-se que o Sorbato de Potássio foi efetivo na análise de PIC nas diferentes concentrações com relação ao controle, com maior efetividade para o T4 a T7. As maiores porcentagens de inibição (T5 a T7) tiveram uma taxa de inibição média de 17,5 % em relação ao controle para o período de 72 h, indicando, portanto, que com mais estudos este conservante pode ser utilizado no combate a microrganismos fúngicos no cultivo *in vitro*.

Palavras-chave: Inibição de microrganismos. Contaminação *in vitro*. Inibição fúngica. Crescimento micelial. Conservante alimentar.

References

AL ZAEMEY, A. B.; MAGAN, N.; THOMPSON, A. K. Studies on the effect of fruit-coating polymers and organic acids on growth of *Colletotrichum musae* in vitro and on postharvest control of anthracnose of bananas. **Mycological Research**, v. 97, n. 12, p. 1463-1468, 1993. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80218-9](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80218-9).

ALSUDANI, A. A. In vitro antifungal effect of potassium sorbate and sodium benzoate on the growth of fungi causing sinusitis. **African Journal of Microbiology Research**, v. 11, n. 6, p. 232-236, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8414>.

ANDRADE, S. R. M.; OLIVEIRA, W. C.; REIS JUNIOR, F. B.; CHARCHAR, M. J. D. A.; FALEIRO, F. G.; MEHTA, A.; PEIXOTO, J. R. **Controle do crescimento e identificação de microrganismos contaminantes visando à micropropagação de gemas laterais de mangueira**. Planaltina: Embrapa Cerrados. 2008. 28p.

BRASIL. Resolução RDC n.389, de 05 de agosto de 1999. 16: bebidas - subcategoria 16.2.2 - bebidas não alcoólicas gaseificadas e não gaseificadas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Distrito Federal, Brasil. Seção 1. 45-53.

CASSELLS, A. C. **Contamination and its impact in tissue culture. IV International symposium on in vitro culture and horticultural breeding**, 560, 2000a.

CASSELLS, A. C. 1991. Problems in tissue culture: culture contamination. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Ed.). **Micropropagation: technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p. 31-44.

CASSELLS, A. C. Aseptic microhydroponics: a strategy to advance microplant development and improve microplant physiology. *Acta Horticulturae*, v. 530, p. 187-194, 2000b. DOI: 10.17660/ActaHortic.2000.530.21.

CASSELLS, A. C. **Pathogen and microbial contamination management in micropropagation**. Dordrecht: Springer, 1997. 371 p.

COLOMBO, L. A.; FARIA, R. T.; CARVALHO, J. F. R. P.; ASSIS, A. M.; FONSECA, I. C. B. Influência do fungicida clorotalonil no desenvolvimento vegetativo e enraizamento in vitro de duas espécies de orquídeas brasileiras. **Acta Horticulturae**, v. 26. n. 2, p. 253-258, 2004. DOI: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v26i2.1893>.

DAMM, U.; BARONCELLI, R.; CAI, L.; KUBO, Y.; O'CONNELL, R.; WEIR, B.; CANNON, P. F. Colletotrichum: species, ecology and interactions. **IMA Fungus**, v. 1, n. 2, p. 161-165, 2010. DOI: 10.5598/ima fungus.2010.01.02.08.

DELIOPOULOS, T.; KETTLEWELL, P. S.; HARE, M. C. Fungal disease suppression by inorganic salts: A review. **Crop Protection**, v. 29, p. 1059-1075, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.05.011>.

EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L & BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazoles compounds. **Phytopathology**, v. 61, p. 42-44, 1971.

EMMANUEL, E.; HECK, G.; BLANCHARD, J.; VERMANDE, P.; PERRODIN, Y. Toxicological effects of disinfestations using sodium hypochlorite on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital wastewater. **Environment Internacional**, v. 30, p. 891-900, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.02.004>.

ESFANDIARI, Z.; BADIEY, M.; MAHMOODIAN, P.; SARHANG-POUR, R.; YAZDANI, E.; MIRLOHI, M. Simultaneous determination of sodium benzoate, potassium sorbate and natamycin content in Iranian yoghurt drink (Doogh) and the associated risk of their intake through Doogh consumption. **Iranian Journal of Public Health**, v. 42, p. 915-920, 2013.

FAGUNDES, C.; PÉREZ, M. B.; MONTEIRO, A. R.; PALOU, L. Antifungal activity of food additives in vitro and as ingredients of hydroxypropyl methylcellulose lipid edible coatings against *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata* on cherry tomato fruit. **International Journal of Food Microbiology**, v. 166, p. 391-398, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.08.001>.

FALLIK, E.; ZIV, O.; GRINBERG, S.; ALKALAI, S.; KLEIN, J. D. Bicarbonate solutions control powdery mildew (*Leveillula taurica*) on sweet red pepper and reduce the development of postharvest fruit rotting. **Phytoparasitica**, v. 25, p. 41-43, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02981478>.

FREESE, E.; SHEU, C. W.; GALLIERS, E. Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives. **Nature**, v. 241, p. 321-325, 1973. DOI: <https://doi.org/10.1038/241321a0>.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. 2. ed. Edington: Exegetics, 1993. 574p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa/SPI, 1998. p. 183-260.

GUYNOT, M. E.; RAMOS, A. J.; SANCHIS, V.; MARIN, S. Study of benzoate, propionate, and sorbate salts as mould spoilage inhibitors on intermediate moisture bakery products of low pH (4.5- 5.5). **International Journal of Food. Microbiology**, v. 101, p. 161-168, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.11.003>.

HEYDARYINIA, A.; VEISSI, M.; SADADI, A. A comparative study of the effects of the two preservatives, sodium benzoate and potassium sorbate on *Aspergillus niger* and *Penicillium notatum*. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 4, n. 4, p. 301-307, 2011.

HIRATA, M. H.; MANCINI-FILHO, J. **Manual de biossegurança**. Barueri: Manole, 2002. 496p.

HORNER, L. de A.; AUGUSTIN, L.; FORCELINI, C. A. Estudo do desenvolvimento e identificação dos agentes contaminantes da erva-mate cultivada in vitro. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA MATE, 2.; REUNIÃO TÉCNICA DA ERVA MATE, 3. 2000. Encantado. **Anais...** Porto Alegre: Comissão dos Organizadores; Universidade do Rio Grande do Sul; Fundação de Pesquisa Agropecuária, 2001. p. 453-456.

KRISHNA, H.; SINGH, S. K. Biotechnological advances in mango (*Mangifera indica* L.) and their future implications in crop improvement – A review. **Biotechnology Advances**, v. 25, p. 223-243, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.01.001>.

LEIFERT, C.; CASSELLS, A. C. Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. **In vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, v. 37, p. 133-138, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11627-001-0025-y>.

LEIFERT, C.; MORRIS, C. E.; WAITES, W. M. Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field grown plants: reason for contamination problems in vitro. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 13, p. 139-183, 1994. DOI: <https://doi.org/10.1080/07352689409701912>.

MARTIN, M. C.; SUAREZ, M. A.; PÉREZ, A. C.; MICHEL, L. M.; CAPÓ Y. A. Efecto del carbendazim para el control de *Colletotrichum* sp., contaminante del establecimiento in vitro de callos de café. **Biotecnología Vegetal**, v. 3, n. 2, p.111-113, 2003.

MECTEAU, M. R.; ARUL, J.; TWEDDELL, R. J. Effect of organic and inorganic salts on the growth and development of *Fusarium sambucinum*, a causal agent of potato dry rot. **Mycology Research**, v. 106, n. 6, p. 688-696, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0953756202005944>.

MENTEN, J. O. M.; MACHADO, C. C.; MUNISSI, E.; CASTRO, C.; KIMATI, H. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid “in vitro”. **Fitopatologia Brasileira**, v. 1, p. 57-66, 1976.

MORAES, R. M.; CALDAS, L. S.; SILVEIRA, C. E. S.; SOUZA, A. V.; BERTONI, B. W.; PEREIRA, A. M. S. Micropropagação e Banco de Germoplasma “in vitro” para produção e conservação de plantas nativas do Cerrado. In: PEREIRA, A. M. S. (Ed.). **Recursos genéticos e conservação de plantas medicinais do Cerrado**. Ribeirão Preto: Editora Legis Summa, 2007. v. 1, p. 185-214.

MUNCH, S.; LINGNER, U.; FLOSS, D. S.; LUDWIG, N.; SAUER, N.; DEISING, H. B. The hemibiotrophic lifestyle of *Colletotrichum* species. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, n. 1, p. 41-51, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.06.008>.

ODA, M. L.; FARIA, R. T.; FONSECA, I. C. B.; SILVA, G. L. Avaliação da fitotoxicidade de fungicidas e germicidas na propagação in vitro de *Oncidium varicosum* Lindl. (Orchidaceae) para o controle de microrganismos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n. 2, p. 273-276, 2003.

OKSANEN, J.; KINDT, R.; BLANCHET, F. G. **Vegan**: community ecology package. R package version 2.0-9. 2013. Disponível em: <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>. Acesso em: 26 jan. 2021.

OLIVIER, C.; HALSETH, D. E.; MIZUBUTI, E.; LORIA, R. Postharvest application of organic and inorganic salts for suppression of silver scurf on potato tubers. **Plant Disease**, v. 82, p. 213-217, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.2.213>.

PALMER, C. L.; HORST, R. K.; LANGHANS, R. W. Use of bicarbonates to inhibit in vitro colony growth of *Botrytis cinerea*. **Plant Disease**, v. 81, p. 1432-1438, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.12.1432>.

PASQUAL, M. **Meios de cultura**. Lavras: UFLA-FAEPE, 2001. 74p.

PIERIK, R. L. M. **In vitro culture of higher plants**. 1a ed. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1997. 348p.

R Core Team. **R: a language and environment for statistical computing**. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. 2014. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. Acesso em: 26 jan. 2021.

SOFOS, J. N. Antimicrobial agents. In: MAGA, J. A.; TU, A. T. (Eds.). **Food additive toxicology**. Marcel Dekker, New York, United States, 1995. p. 501-529.

SUHR, K. I.; NIELSEN, P. V. Effect of weak acid preservatives on growth of bakery product spoilage fungi at different water activities and pH values. **International Journal of Food Microbiology**, v. 95, p. 67-78, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.02.004>.

TORRES, A.C.; FERREIRA, A. T.; SÀ, F. G. de.; BUSO, J. A.; CALDAS, L. S.; NASCIMENTO, A. S.; BRIGIDO, M. de M.; ROMANO, E. 2000. **Glossário de biotecnologia vegetal**. Embrapa Hortaliças, Brasília, 128p.

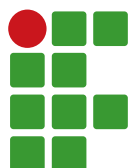
VIANA, G. R. COUTO, F. A. A.; OLIVEIRA, A. B.; ZAMBOLIM, L.; MARIA, J. A rifampicina na descontaminação bacteriana de explantes de mamoeiro provenientes do campo. **Bragantia**, v. 56, p. 249-254, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0006-87051997000200003>.

WATT, M. P.; GAUNTLETT, B. A.; BLAKEWAY, F. C. Effect of anti-fungal agents on in vitro cultures of *Eucalyptus grandis*. **South African Forestry Journal**, v. 175, n.1, p. 23-27, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1080/00382167.1996.9629889>.

YEPES, M. L.; ALDWINCKLE, H. S. Micropropagation of thirteen Malus cultivars and rootstocks, and effect of antibiotic on proliferation. **Plant Growth Regulation**, v. 15, p. 55-67, 1994. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00024677>.

Received: June 4, 2020

Accepted: November 12, 2020



Land use and occupation in the Fundaça Stream subbasin, Espírito Santo, Brazil

Caio Henrique Ungarato Fiorese¹

Abstract

The objective of the research was to evaluate land use and occupation in the Fundaça Stream subbasin, state of Espírito Santo, Brazil, aiming at subsidizing improvements in environmental conservation and territorial planning. The procedures were performed in the ArcGIS® computer program. First, the study defined the limits of the subbasin, and then obtained the features of land use and occupation for the state of Espírito Santo from two mappings, from 2007 to 2008, and from 2012 to 2015. These features were edited, defining the classes of use and occupation only for the subbasin. They were identified, quantified, and mapped. There is a predominance of pasture, with percentages above 50 %, although this occupation decreased by 1.94 % between the periods studied. Coffee growing, the third predominant class, also decreased, which can be attributed to the preference for other activities, such as eucalyptus forestry. This showed strong growth, although with even lower percentages. Mishandling of those areas can cause environmental and economic damage. However, the areas of native vegetation represented a minimal rate, even with an increase, due to the decrease of vegetation in the early stage of regeneration. *Macega* (wild vegetation) coverage, besides being close to the native vegetation and which was predominantly fragmented, indicates problems with the use and occupation planning. The action of the local river-basin committee and public managers, besides environmental education, and correct management of rural activities, are necessary actions.

Keywords: Geographical space. Geoprocessing. Environmental impacts. Mitigation. Territorial planning.

Introduction

As the population grows, there is more demand for new areas to meet the need for housing or developing activities such as livestock, forestry, and agriculture. However, in many situations, this causes the disorderly occupation of areas and the uncontrolled use of natural resources (NASCIMENTO; FERNANDES, 2017). The accelerated process of development of society has left strong marks on the Earth's surface, thus requiring - and with the same speed at which those transformations are processed - the systematic elucidation of possible changes in anthropic interference on the environment (LEITE; ROSA, 2012).

A watershed is a systemic unit in which there is a balance between rainfall entrance and water outflow, allowing for the delineation of basins and subbasins, interconnected through water flows. Human activities are developed in this territory, covering all urban, industrial, agricultural, or preservation areas. What happens there is a consequence, for example, of the forms of land occupation (PORTO; PORTO, 2008). Different environmental analyses can be carried out in the watersheds, to

1 Universidade Federal do Espírito Santo – UFES. Mestrando do curso de Agroquímica. Engenheiro Ambiental. caiofiorese@hotmail.com.

obtain information on the current local situation, providing adequate management to make perennial the existing natural resources, essential to human well-being (MOREIRA; FERNANDES; NERY, 2014).

Given the relevance of the watersheds, watershed committees (*comitês de bacias hidrográficas*- CBH) were created, which are the public agencies responsible for discussing and deliberating on issues of common interest to different water users in a water basin. One of CBH's primary management resources is the Watershed Plan. Those committees are vital for the integrated management of water resources. For example, those groups propose public policies and decentralize and materialize the management, playing a strategic role in the National Water Resources Policy (TRINDADE; SCHEIBE, 2019).

Mapping land use and occupation is now an important tool that enables information that fosters the construction of environmental scenarios and indicators, such as subsidies for assessing environmental support capacity (MOREIRA; FERNANDES; NERY, 2014). Land use and occupation encompass information about the degree of preservation, conservation, or artificialisation of a particular place worldwide. The importance of their analysis in studies of environmental distinction is justified especially by the need to identify sources or potential sources of environmental changes. Thus, knowledge of the sources allows a decisive assessment on which actions must be taken into account to eliminate or reduce the changing factor (ALVES; CONCEIÇÃO, 2015). In the case of the Fundaça Stream watershed, studies focused on land use and occupation are especially important, as the region has been little researched. Another point is the severe problems that improper planning of land use may cause, such as soil erosion and agricultural productivity damage.

Lack of knowledge of land use aptitude and adequate land use planning has been a frequent negative factor impacting the environment (PEDRON *et al.*, 2006). For example, land use and occupation significantly influence surface runoff and sediment intake in the waterbed and may modify the quality and availability of water resources (VANZELA; HERNANDEZ; FRANCO, 2010).

Land use and occupation mapping are based mainly on Geographic Information Systems (GIS) tools. Its use enables detailed environmental analyses. The use of GIS merges interdisciplinary bits of knowledge, aiming to achieve spatial information of all kinds. Thus, a geographical database is obtained, enabling several studies on the dynamics of the Earth's surface and, in turn, providing various cartographic products (BEZERRA JUNIOR; GUEDES, 2016). The treatment and generation of information about space through remote sensing techniques are essential for optimizing time and reducing costs in the field (FAUSTINO; RAMOS; SILVA, 2014).

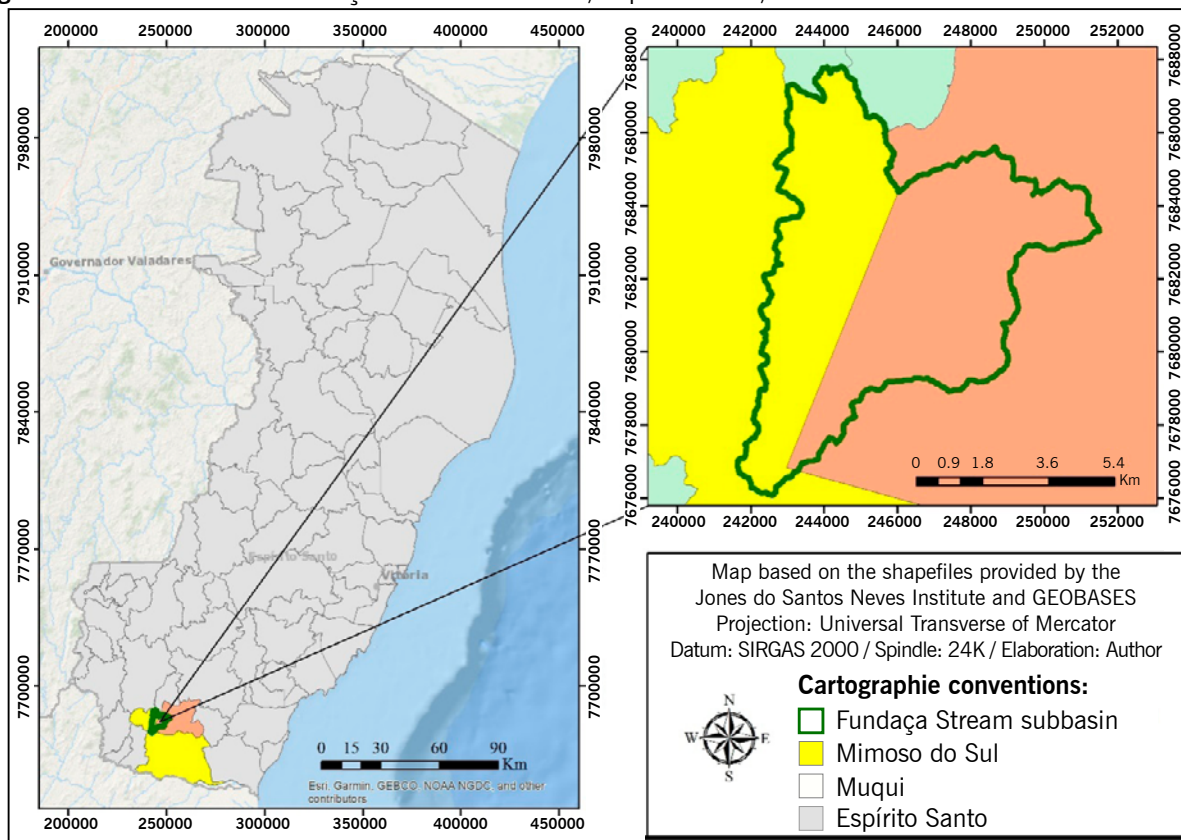
Thus, the research objective was to analyze the land use and occupation in the subbasin of the Fundaça Stream, state of Espírito Santo, Brazil, to support improvements for soil and environmental conservation of this basin, combined with territorial planning.

Materials and methods

The study comprehended the Fundaça Stream Watershed (Bacia Hidrográfica do Córrego Fundaça - BHCF), which is in the rural area of the municipalities of Muqui and Mimoso do Sul, in the southern mesoregion of the state of Espírito Santo. It is a relevant basin for the supply of the district of Santo Antônio de Muqui, which has a population of 1,400 inhabitants. This region produces coffee, being agriculture, and cattle raising critical activities (PORTAL MIMOSO, 2020). According to editing data in a Geographic Information System, this subbasin has an area of 53.73 km² and has its mouth in the Muqui do Sul River. Figure 1 shows the map of the area at stake, plotted through geographic

data from municipalities in the state of Espírito Santo, obtained from the Jones dos Santos Neves Institute electronic portal (IJSN, 2020).

Figure 1 – Location of the Fundaça Stream watershed, Espírito Santo, 2020.



Source: Prepared by the author (2020), based on data from the Jones dos Santos Neves Institute (IJSN, 2020).

The procedures were subsidized by the geoprocessing technique, running them in the ArcGis® computer program (ARCGIS, 2020). The geographic databases considered were the websites of the Integrated System of Geospatial Bases of the State of Espírito Santo (GEOBASES, 2020), the National Water Agency (ANA, 2020), and the Jones dos Santos Neves Institute (IJSN). Initially, the subbasin of interest was delimited, from the procedures mentioned by Santos, Louzada, and Eugenio (2010): acquisition of area-level curve features; generation of the Digital Elevation Model (MDE) and its subsequent correction; delimitation of the direction and accumulation of local drainage; extraction of the hydrographic mesh; identification of the main watercourse (in this case, the Fundaça Stream) from features of watercourses obtained on the National Water Agency (ANA) website, and demarcation of the BHCF outflow.

Subsequently, through GEOBASES, we obtained land use and occupation features for the state of Espírito Santo, referring to two mappings carried out: the first, from 2007 to 2008, and the second, from 2012 to 2015. Both were on a scale equal to or better than 1:25000, according to GEOBASES. We produced the mappings on the orthophoto mosaics made available by GEOBASES, considering the photointerpretation procedures and manual vectorization of limits between the classes of land use and occupation identified.

The mappings were represented by adjacent polygons submitted to topological validation to obtain the correct closure of these polygons and mitigate the overlap and appearance of voids between them. The minimum area of the polygons mapped was 0.50 ha, and the minimum accuracy index of the mapping was 90 %. We carried out field activities to solve all doubts in the identification of mapping classes. At this stage, we made registers of photographs and coordinates of the areas investigated (ESPÍRITO SANTO, 2020).

Features have been added to the program layout. With the aid of editing resources, land use and occupation classes were determined and delimited only for the BHCF. Through the table of attributes of the new use and occupation files generated, the classes were identified and quantified. Quantification in percentage occurred from the export of data, initially in square meters (m²), to Microsoft Excel® spreadsheet. The mapping was carried out from the plotting of two thematic maps. Thus, quantitative information and maps allowed the execution of further studies based on the literature considered.

Results and discussion

The most comprehensive classes in the BHCF were agriculture and cattle raising (presence of pasture and coffee crops), native vegetation, native vegetation in the early stage of regeneration and *macega*. Table 1 shows the description of the classes identified and their respective percentages.

Table 1 – BHCF land use and occupation classes and respective percentages, Espírito Santo, 2020.

Classes	Years 2007-2008	Years 2012-2015
Rocky Outcrop	0.36 %	0.43 %
Constructed Area	0.03 %	0.04 %
Bog	0.64 %	0.44 %
Agriculture - Banana	0.00 %	0.15 %
Agriculture - Coffee	17.28 %	15.88 %
Agriculture - Other Permanent Crops	0.05 %	0.37 %
Agriculture - Other Temporary Crops	0.91 %	0.60 %
<i>Macega</i> area	6.30 %	6.56 %
Water Body	0.04 %	0.04 %
Native Vegetation	10.81 %	13.16 %
Native Forest in Early-Stage Regeneration	7.21 %	5.83 %
Others	1.53 %	2.48 %
Pasture	54.12 %	52.18 %
Reforestation - Eucalyptus	0.26 %	1.32 %
Reforestation - Rubber tree	0.23 %	0.26 %
Soil exposed	0.22 %	0.26 %

Source: Edited from GEOBASES (2020).

The class that had the most significant increase was eucalyptus forestry, although it presented percentages below 2 %.

The highest percentage found was for “pasture,” which occupies most of the BHCF, although it decreased by 1.94 % in the period analyzed. The high predominance of pasture can be justified by the historical livestock relevance context. This activity has been essential in the Brazilian economy. It began to be developed in the sixteenth century, in the third decade after the beginning of the colonization process. It exerted a strong influence on economic expansion, highlighting the export agenda, and significant importance in the domestic market supply. Livestock continues to be practiced, in large part, in the traditional system of breeding, that is, cattle are raised loosely in natural pastures or planted in the extensive system (TEIXEIRA; HESPANHOL, 2014).

When mishandled, pasture becomes an environmental problem of significant magnitude, especially when it comes to traditional management techniques, such as the extensive system. Some of these negative environmental impacts are the destruction of the ecosystems, soil degradation through compaction and erosion, water resources pollution, and greenhouse gas emissions (DE ZEN *et al.*, 2008).

Given this situation, actions taken to improve animal yield should lower the consumption of natural resources and increase animal digestive system efficiency (DE ZEN *et al.*, 2008). An important measure to reduce overgrazing is the creation of silvopastoral systems, which improve the management of grazing systems such as crop-livestock integration. The environmental benefits of this technique are the conservation and renewal of natural resources by keeping trees in the grazing environment, since the large plants employed, such as timber, fruit, or forage, serve as food for animals (WÜST; TAGLIANI; CONCATO, 2015). Another important technique is the formation of pickets, as they allow better use of pasture areas associated with soil conservation, besides safeguarding more areas for forest preservation in rural properties (FIORESE; LEITE, 2018). These actions are fundamental to minimize the effects of the predominance of pasture in the BHCF, especially when there are soil mismanagement measures in the region.

In the water supply of the district of Santo Antônio de Muqui, the measures mentioned for pasture are extremely relevant and necessary, as they would contribute to more significant water infiltration into the soil and minimize the problematic effects of surface runoff and erosion in the region. Considering the predominance of rudimentary management techniques in livestock, as is the case with extensive livestock, such techniques could improve soil productivity and the quality of water resources used for water supply, and the economy.

Coffee growing was the third most comprehensive class seen. However, as well as pasture, it showed a decrease (equivalent to 1.40 %) in the period considered, revealing a decrease in agricultural activity in BHCF. The region’s historical context also justifies the expressive occupation of local coffee culture and pasture. Coffee was brought to the state of Espírito Santo in the early nineteenth century, due to the expansion of cultivation areas of the Paraíba Valley. By the end of that century, coffee monoculture was already the predominant agricultural activity in the state (FERRÃO *et al.*, 2007).

However, given the expressiveness of coffee culture, when mismanaged, soil degradation of those crops reduces water infiltration and increases runoff, causing groundwater lowering, erosion, flooding, and silting of rivers and reservoirs (SAMBUICHI *et al.*, 2012). Although coffee crops have not caused negative effects on the native vegetation in BHCF when using traditional management

techniques, they can cause adverse environmental impacts of great magnitude, and economic and quality damage to the local growers.

Simple practices indicated to prevent soil degradation, such as no-tillage in straw, planting in level curves, and crop rotation, are still little used by Brazilian farmers (SAMBUICHI *et al.*, 2012). Other measures would also be of great relevance to stimulate the economic and more sustainable production of coffee in BHCF, such as the development of research, actions and participatory studies guided by the principles of agroecology, application of appropriate technologies for irrigation management, wastewater, and methods of natural control of pests and diseases, and expansion of financing and resources of rural credit specific to initiatives aimed at the transition from the traditional to the natural system (FERRÃO *et al.*, 2007). Such measures are very relevant to the detriment of traditional soil management techniques in coffee crops, predominantly in the BHCF region.

Native vegetation showed much lower percentages in both mappings than other subbasins of similar studies, such as the Santo Amaro stream subbasin, 20.84 % in the 2007-2008 mapping, and 20.21 % in the 2012-2015 one (FIORESE; NASCIMENTO, 2019). However, it grew by 2.35 %, which can be credited to the reduction of other classes, especially the evolution of the class “native forest in early-stage regeneration,” which, in turn, decreased by 1.38 %.

Native vegetation contributes to the maintenance of biodiversity and can also assist in water and edaphic resources (FRANCO *et al.*, 2007). For the infiltration process, vegetation plays a determining role to the extent that it reduces the velocity of surface runoff, providing infiltration, which will supply groundwater and watercourses (FAUSTINO; RAMOS; SILVA, 2014). Therefore, the maintenance of the remnants and the expansion of native vegetation cover would be essential in BHCF, or else its shortage can bring losses in terms of environmental quality and economic productivity.

The “*macega*” class presented significant percentages considered, with the occupation rate increased by 0.26 %. This class coverage percentages were higher than those of river basins of similar studies, such as the Estrela do Norte stream subbasin with 3.49 % and 3.00 % in 2007-2008 and 2012-2015, respectively (FIORESE; LEITE, 2018). This indicates a problem regarding BHCF land occupation, as these areas could be occupied by other classes, which would bring environmental services and more significant economic gains. An example of use could be native vegetation (FIORESE; NASCIMENTO, 2019).

Another interesting form of occupation would be agroforestry systems, which would enable more significant ecological, environmental, and economic benefits. These systems represent an important resource in the fight against poverty in rural areas, food security, conservation of natural resources, and are increasingly included in development programs implemented by various entities (PALUDO; COSTABEBER, 2012). These suggestions would bring several benefits to BHCF and could be adapted according to the natural conditions of the region and the economic conditions of the rural producers.

Although at low rates, eucalyptus areas increased in subbasins of similar studies, such as the Santo Amaro stream subbasin, with a growth of 2.65 %, according to Fiorese and Nascimento (2019). Eucalyptus crops can be both beneficial and harmful, depending on the physical conditions of the past. In environmental terms, reforestation would be less impactful if it were carried out in areas without native vegetation, with some degree of environmental degradation. An example of these areas is pastures and crops or crops that have been abandoned due to low productivity over time (OLIVEIRA; MENEGASSE; DUARTE, 2002).

However, Oliveira and Almeida (2018) reported that eucalyptus forestry in the form of monocultures causes various environmental effects in the state of Espírito Santo. According to the authors, most impacts hit the physical and biological environments with adverse environmental changes. Soil and water characteristics are significantly affected and endangered species of flora and fauna.

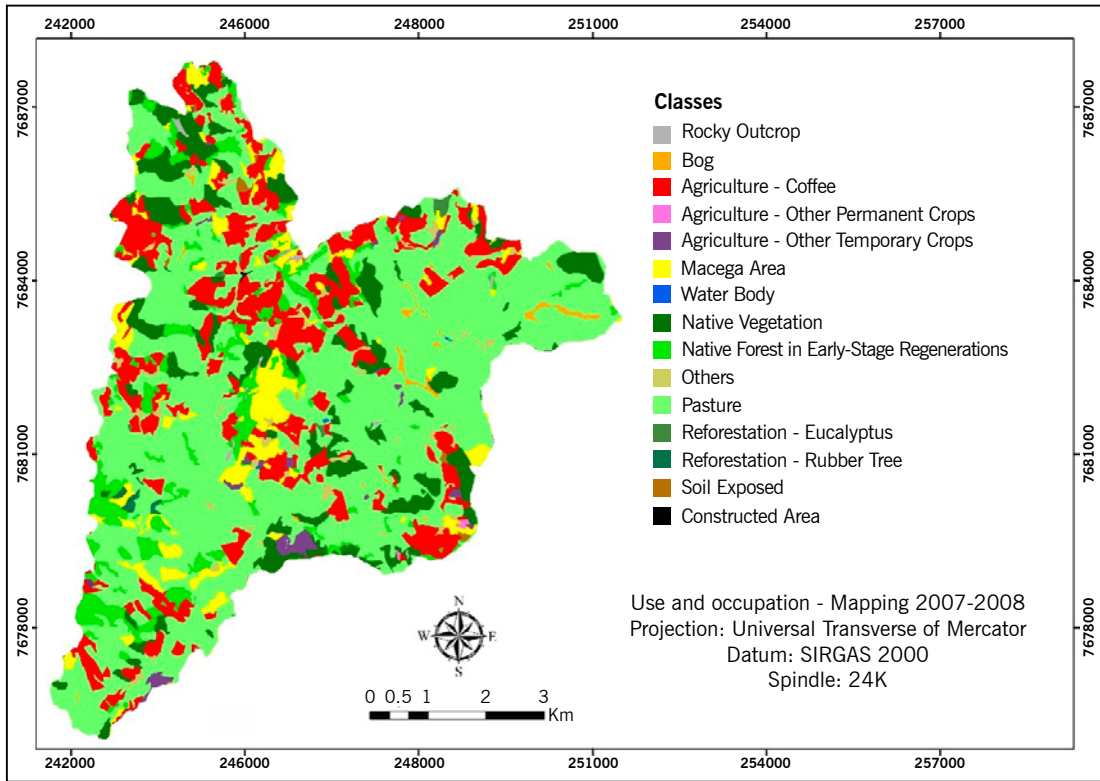
However, an interesting alternative would be the adaptation of eucalyptus monoculture in agroforestry systems. This form of cultivation has proven to be a viable and sustainable economic option for small and medium-sized properties (MOSCA, 2008). This option would bring greater benefits to the eucalyptus areas of the BHCF and farmers in the region, also associated with the correct management of those crops. This alternative becomes even more relevant, given the growing trend of eucalyptus cultivated areas in the region, even though this growth of use in the basin under study was not observed in the period evaluated.

Among the primary mitigation and attenuation measures of the classes arising from anthropic action discussed is environmental education. Environmental education should be the fundamental resource for the participation of various sectors of society in awareness and involvement, whether in the identification of environmental problems or in the development of strategies that mitigate or solve their impacts. As an example, we can cite the reduction of disorders caused by the intensive use of pesticides in agriculture, which causes harm to human health and damage soil fertility (SANTOS; SILVA, 2017).

Moreover, the practice of environmental education is also beneficial for protecting other areas important for biodiversity and which have not been discussed previously, as is the case with the bogs and water resources of BHCF. Environmental education, for BHCF, would be fundamental for better planning of land use and occupation combined with the correct land occupation, in line with the environmental quality of this area. The other classes, due to their low percentages or because they did not undergo drastic increase or reduction, were not discussed much in this work.

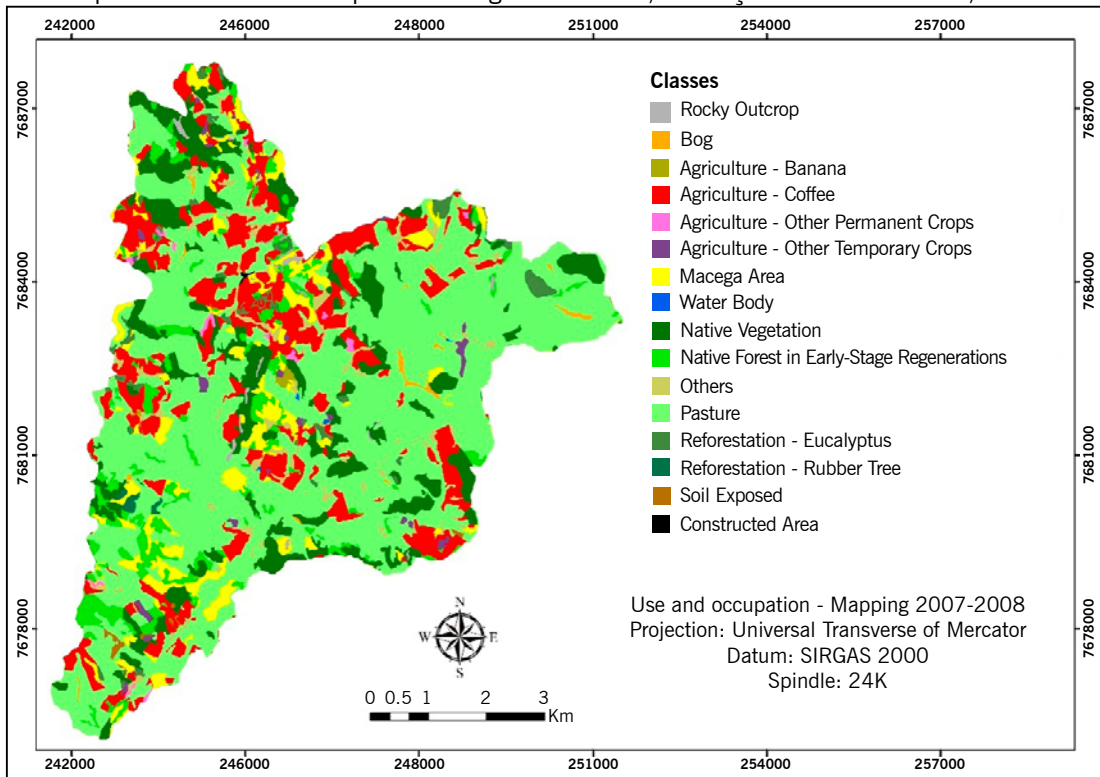
Figures 2 and 3 present land use and occupation maps for 2007 to 2008 and 2012 to 2015, respectively.

Figure 2 – Map of land use and occupation during 2007-2008, Fundaça stream watershed, 2020.



Source: Prepared by the author (2020).

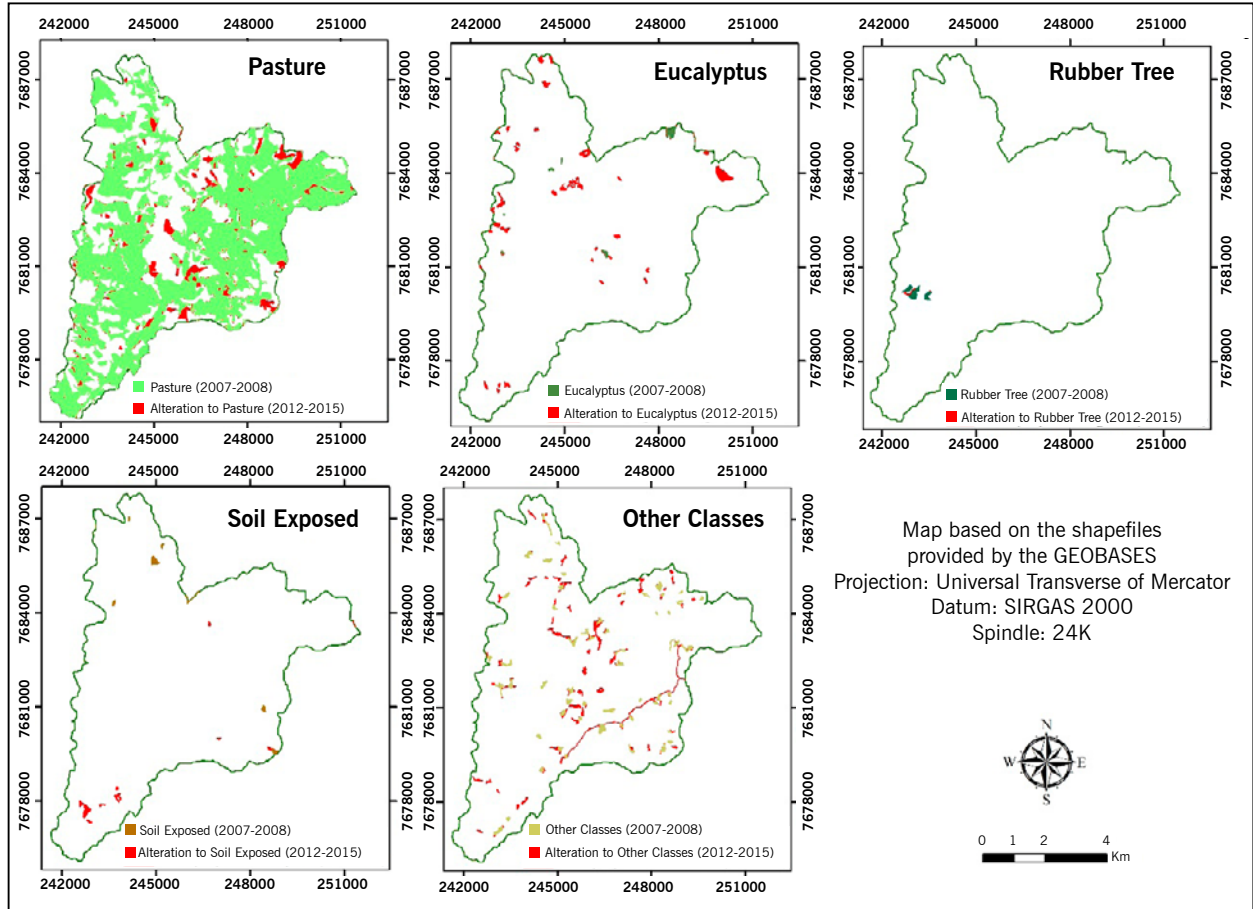
Figure 3 – Map of land use and occupation during 2012-2015, Fundaça stream watershed, 2020.



Source: Prepared by the author (2020).

Figure 4 shows the changes in land use and occupation from 2012 to 2015 for the classes: pasture, eucalyptus, rubber tree, exposed soil, and unidentified classes (other classes).

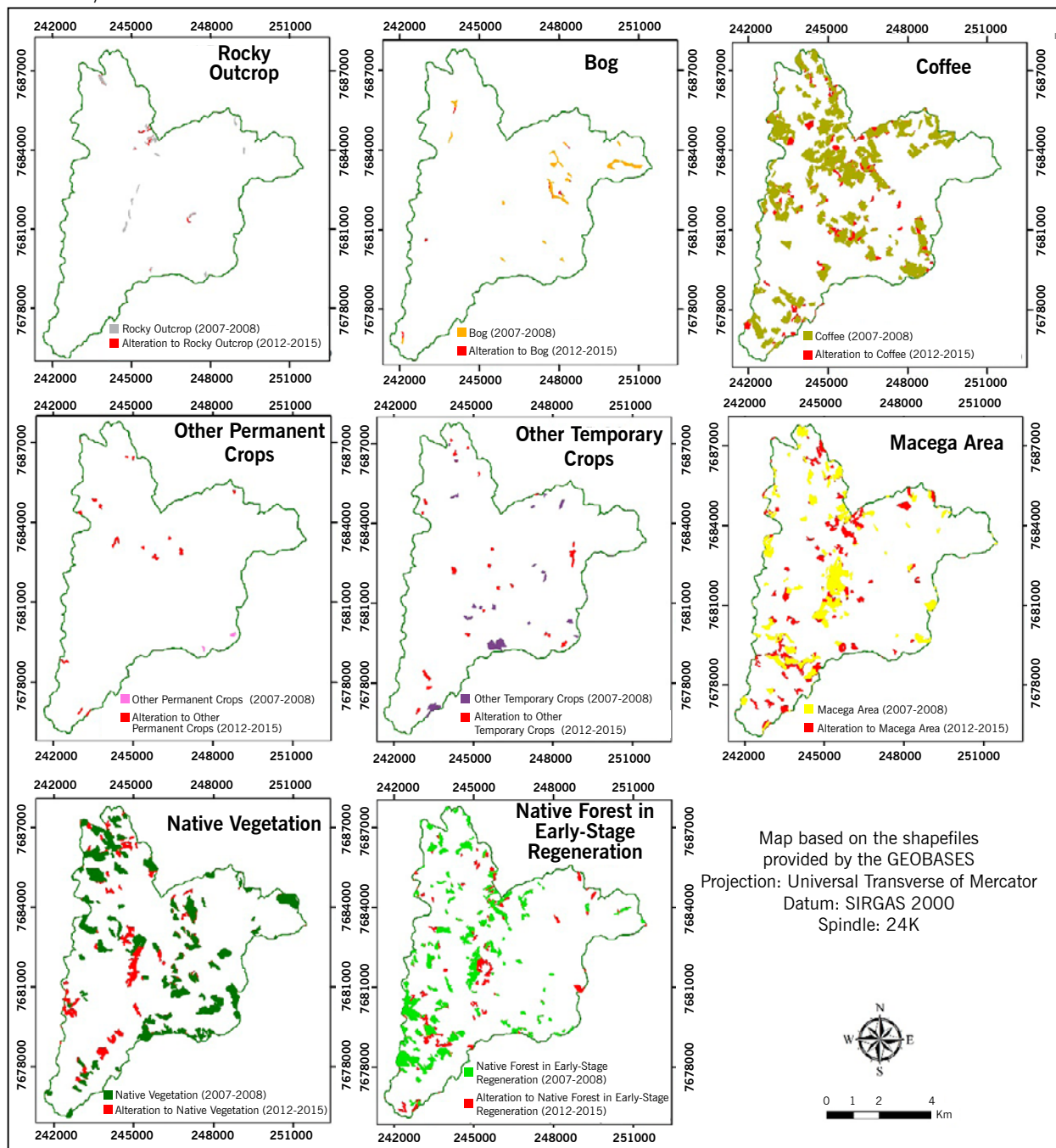
Figure 4 – Map of land use and occupation class changes from 2007-2008 to 2012-2015, Fundaça stream subbasin, 2020.



Source: Prepared by the author (2020).

Figure 5 shows the changes in land use and occupation from 2012 to 2015 for the classes: rocky outcrop, bog, coffee, other permanent crops, other temporary crops, *macega*, native forest, and native forest in early-stage regeneration.

Figure 5 – Map of land use and occupation class changes from 2007-2008 to 2012-2015, Fundaça stream subbasin, 2020.



Source: Prepared by the author (2020).

The classes “Agriculture - Banana” and “Constructed Area” were not represented in the maps of changes of each class, because there was a minimal increase (by 0.01 %) of built area, which to the naked eye is very difficult to perceive. Bananiculture, on the other hand, because it was represented only in the 2012-2015 mapping, was geospatialised in the map of land use and occupation of the 2012-2015 mapping (FIGURE 3).

We can observe that the predominance of pasture occurs all over the subbasin. Eucalyptus areas practically increased at a specific point, which was formerly occupied by pasture. Thus, as reported in the discussion of the quantitative data of that class of use and occupation, the environmental benefits become greater, especially if that pasture area was degraded. However, this eucalyptus crop needs proper management; otherwise, it can become an environmental problem.

However, most of the BHCF shows the occupation of native vegetation in the form of forest fragments. This visualized fragmentation can be attributed to the misuse of natural resources and land occupation in a disorderly manner, which has suppressed several areas of relevant biological characters, such as primary forests and secondary vegetation (VERONESE, 2009).

The degradation of native forests results from the complex interaction between factors inherent to the fragmentation process, such as reduction of the area, greater exposure to the edge effect and isolation, and constant anthropic pressure. These factors manifest and combine in different ways, generating various forms of degradation. Consequently, a unique mosaic of units is created for each fragment (VIANA; PINHEIRO, 1998). Therefore, the forest fragmentation seen for the BHCF results from incorrect planning of use and occupation. In terms of environmental conservation, the connection of those fragments and the gradual recovery of degraded areas of the subbasin would be relevant.

In this sense, an interesting measure that could be adopted is the creation of ecological corridors. They constitute a strategy of adopting public policies and integrated management to ensure species' survival, the maintenance of evolutionary ecological processes, regional economic development, social inclusion, and the rational use of natural resources (ARANA; ALMIRANTE, 2007). This feature would bring a connection between nearby fragments and, in environmental terms, is an excellent suggestion for BHCF.

Another factor that evidences the incorrect planning of the forms of occupation is *macega* fragments near areas of native vegetation and, mainly, native vegetation in an early stage of regeneration. Through environmental reforestation programs, those areas could be better used to bring more ecosystem and economic benefits. Moreover, the use of those areas through agroforestry systems, as discussed by Paludo and Costabeber (2012), is an excellent suggestion for ecology, sustainability, and economy.

Conclusion

The subbasin studied has low quantities of native vegetation cover, which, in turn, is distributed in the form of fragments in a large part of the area.

The high expressiveness of *macega*, especially near areas of native vegetation, evidence problems regarding land use and occupation planning in BHCF.

The strong presence of agricultural activity requires proper management of local lands; otherwise, it can cause severe environmental and economic problems.

The importance of the action of the watersheds local committee and other public managers, the environmental education practice with the residents of the region, and the correct soil management to the detriment of traditional cultivation techniques are evidenced.

Uso e ocupação das terras na sub-bacia hidrográfica do Córrego Fundaça, Espírito Santo, Brasil

Resumo

O objetivo da pesquisa foi avaliar o uso e a ocupação das terras na sub-bacia hidrográfica do Córrego Fundaça, no estado do Espírito Santo, com vistas a subsidiar melhorias em conservação ambiental e planejamento territorial. Os procedimentos foram realizados no programa computacional ArcGIS®. Inicialmente foi delimitada a sub-bacia estudada para, em seguida, serem adquiridas feições de uso e ocupação das terras para o Estado do Espírito Santo referentes a dois mapeamentos: o primeiro, nos anos de 2007 a 2008; o segundo, de 2012 a 2015. Tais feições foram editadas delimitando as classes de uso e ocupação somente para a sub-bacia. As classes foram identificadas, quantificadas e mapeadas. Há predominância de pastagem, com percentuais acima de 50 %, embora esta ocupação tenha decrescido em 1,94 % entre os períodos estudados. A cafeicultura, terceira classe predominante, também decresceu entre os períodos analisados, o que pode ser atribuído à preferência por outras atividades, como a silvicultura do eucalipto. Esta apresentou um forte crescimento, embora com percentuais ainda baixos. Tais áreas, caso manejadas incorretamente, acarretam danos ambientais e econômicos. Todavia, as áreas de vegetação nativa representaram percentual muito pequeno, mesmo com aumento, devido ao decréscimo da vegetação em estágio inicial de regeneração. A abrangência da macega somada ao fato de que ela esteve próxima da vegetação nativa e predominantemente fragmentada indicam problemas de planejamento de uso e ocupação. A atuação do comitê local de bacias hidrográficas e gestores públicos, além da educação ambiental e do manejo correto das atividades rurais, são ações necessárias.

Palavras-chave: Espaço geográfico. Geoprocessamento. Impactos ambientais. Mitigação. Planejamento territorial.

References

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS – ANA. **Encontre mapas interativos, conjuntos de dados geográficos, imagens de satélite e outros serviços.** Disponível em: <https://metadados.ana.gov.br/geonetwork/srv/pt/main.home>. Acesso em: 10 mar. 2020.

ALVES, A. C.; CONCEIÇÃO, P. E. A. Levantamento do uso e ocupação do solo por meio de imagens TM-Landsat-5 e ADS-80 para o município de Manaus/AM. In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. 2015, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: 17, 2015, p. 5881-5888.

ARANA, A. R. A.; ALMIRANTE, M. F. A importância do corredor ecológico: um estudo sobre o Parque Estadual “Morro do Diabo” em Teodoro Sampaio-SP. **Geografia**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 143-168, jan./jun. 2007. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/geografia/article/view/6578>. Acesso em: 24 abr. 2020.

ARCGIS. **ArcGIS: software**. Disponível em <http://www.esri.com/software/arcgis/index.html>. Acesso em: 10 jan. 2020.

BEZERRA JUNIOR, A.; GUEDES, J. A. Caracterização e análise do uso e ocupação da terra no entorno do reservatório Santana, Rafael Fernandes/RN. **Revista OKARA: Geografia em debate**, João Pessoa, v. 10, n. 3, p. 517-530, 2016.

DE ZEN, S.; BARIONI, L. G.; BONATO, D. B. B.; ALMEIDA, M. H. S. P. de.; RITTL, T. F. **Pecuária de corte brasileira: impactos ambientais e emissões de gases efeito estufa (GEE)**. Piracicaba: Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada, 2008.

ESPÍRITO SANTO. Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos. **Referência técnica**. Disponível em: https://geobases.static.es.gov.br/public/MAP_ES_2012_2015/MAP_ES_2012_2015_REFEENCIA_TECNICA.pdf. Acesso em: 21 nov. 2020.

FAUSTINO, A. B.; RAMOS, F. F.; SILVA, S. M. P. da. Dinâmica temporal do uso e cobertura do solo na Bacia Hidrográfica do Rio Doce (RN) com base em Sensoriamento Remoto e SIG: uma contribuição aos estudos ambientais. **Sociedade e Território**, Natal, v. 26, n. 2, p. 18 - 30, jul./dez. 2014. Disponível em: <https://periodicos.ufrn.br/sociedadeeterritorio/article/view/5305>. Acesso em: 11 abr. 2020.

FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A. da.; BRAGANÇA, S. M.; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H. **Café Conilon**. Vitória: Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, 2007. 702 p.

FIORESE, C. H. U.; LEITE, V. R. Dinâmica do uso e cobertura do solo na sub-bacia hidrográfica do Ribeirão Estrela do Norte no município de Castelo, Estado do Espírito Santo. **Agrarian Academy**, Goiânia, v. 5, n. 10, p. 52-65, 2018. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/Agrarian%20Academy/2018B/dinamica.pdf>. Acesso em: 22 abr. 2020.

FIORESE, C. H. U.; NASCIMENTO, W. A. R. do. Mapeamento do uso das terras na sub-bacia hidrográfica do Ribeirão Santo Amaro, no Sul do Estado do Espírito Santo. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 16, n. 29, p. 1554-1566, 2019. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2019a/agrar/mapeamento.pdf>. Acesso em: 12 abr. 2020.

FRANCO, G. A. D. C.; SOUZA, F. M. de.; IVANAUSKAS, N. M.; MATTOS, I. F. A.; BAITELLO, J. B.; AGUIAR, O. T.; CATARUCCI, A. F. M.; POLISEL, R. T. Importância dos remanescentes florestais de Embu (SP, Brasil) para a conservação da flora regional. **Biota Neotrópica**, v. 7, n. 3, p. 145-161, 2007. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1676-06032007000300017&script=sci_arttext. Acesso em: 24 abr. 2020.

GEOBASES. **IEMA - mapeamento ES - 2012-2015**. Disponível em: <https://geobases.es.gov.br/links-para-mapas1215>. Acesso em: 10 mar. 2020.

INSTITUTO JONES DOS SANTOS NEVES – IJSN. **Shapefiles**. Disponível em: <http://www.ijsn.es.gov.br/mapas/>. Acesso em: 11 mar. 2020.

LEITE, E. F.; ROSA, R. Análise do uso, ocupação e cobertura da terra na bacia hidrográfica do Rio Formiga, Tocantins. **OBSERVATORIUM: Revista Eletrônica de Geografia**, v. 4, n. 12, p. 90-106,

dez. 2012. Disponível em: <http://www.observatorium.ig.ufu.br/pdfs/4edicao/n12/05.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2020.

MOREIRA, A. A.; FERNANDES, F. H. S.; NERY, C. V. M. Mapeamento e análise do uso e ocupação do solo na bacia do Rio Vieira no município de Montes Claros/MG. **Revista Brasileira de Geomática**, Pato Branco, v. 2, n. 2, p. 40-48, jul./dez. 2014. Disponível em: <https://periodicos.utfpr.edu.br/rbgeo/article/view/5448>. Acesso em: 11 abr. 2020.

MOSCA, A. A. de O. **Avaliação dos impactos ambientais de plantações de eucalipto no Cerrado com base na análise comparativa do ciclo hidrológico e da sustentabilidade da paisagem em duas bacias de segunda ordem**. 2008. 256 p. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo.

NASCIMENTO, T. V. do.; FERNANDES, L. L. Mapeamento de uso e ocupação do solo em uma pequena bacia hidrográfica da Amazônia. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 39, n. 1, p. 170-178, jan./abr. 2017. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/cienciaenatura/article/view/21737>. Acesso em: 06 abr. 2020.

OLIVEIRA, J. de A.; ALMEIDA, F. S. Alterações ambientais provocadas pela silvicultura no Estado do Espírito Santo. In: SIMPÓSIO DE GESTÃO AMBIENTAL E BIODIVERSIDADE. 2018, Três Rios. **Anais...** Três Rios: 7, 2018, p. 256-259.

OLIVEIRA, F. R. de.; MENEGASSE, L. N.; DUARTE, U. Impacto ambiental do eucalipto na recarga de água subterrânea em área de cerrado, no médio vale do Jequitinhonha, Minas Gerais. **Revista Águas subterrâneas**, São Paulo, p. 1-10, 2002. Disponível em: <https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/22677>. Acesso em: 27 abr. 2020.

PALUDO, R.; COSTABEBER, J. A. Sistemas agrofloretais como estratégia de desenvolvimento rural em diferentes biomas brasileiros. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 7, n. 2, p. 63-76, 2012. Disponível em: https://orgprints.org/22937/1/Paludo_Sistemas%20agrofloretais.pdf. Acesso em: 24 abr. 2020.

PEDRON, F. de A.; POELKING, E. L.; DALMOLIN, R. S. D.; AZEVEDO, A. C. de.; KLANT, E. A aptidão de uso da terra como base para o planejamento da utilização dos recursos naturais no município de São João do Polêsine – RS. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 105-112, jan./fev. 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cr/v36n1/a16v36n1.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2020.

PORTAL MIMOSO. **Santo Antônio do Muqui**. 2020. Disponível em: <http://www.portalmimoso.com.br/distritos/santoantoniodomuqui/index.html>. Acesso em: 10 mai. 2020.

PORTO, M. F. A.; PORTO, R. la L. Gestão de bacias hidrográficas. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 22, n. 63, p. 43-60, 2008. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0103-40142008000200004&l. Acesso em: 06 abr. 2020.

SAMBUICHI, R. H. R.; OLIVEIRA, M. A. C. de.; SILVA, A. P. M. da.; LUEDEMANN, G. **A sustentabilidade ambiental da agropecuária brasileira: impactos, políticas públicas e desafios**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, 2012. 52 p.

SANTOS, A. R. dos.; LOUZADA, F. L. R. de O.; EUGENIO, F. C. **ArcGIS 9.3 total: aplicações para dados espaciais**. 2.ed. Alegre: CAUFES, 2010. 184 p.

SANTOS, F. R.; SILVA, A. M. A importância da educação ambiental para graduandos da Universidade Estadual de Goiás: Campus Morrinhos. **Interações**, Campo Grande, v. 18, n. 2, p. 71-85, abr./jun. 2017. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/inter/v18n2/1518-7012-inter-18-02-0071.pdf>. Acesso em: 27 abr. 2020.

TEIXEIRA, J. C.; HESPANHOL, A. N. A trajetória da pecuária bovina brasileira. **Caderno Prudentino de Geografia**, Presidente Prudente, v. 1, n. 36, p.26-38, jan./jul. 2014. Disponível em: <https://revista.fct.unesp.br/index.php/cpg/article/view/2672>. Acesso em: 23 abr. 2020.

TRINDADE, L. de L.; SCHEIBE, L. F. Gestão das águas: limitações e contribuições na atuação dos comitês de bacias hidrográficas brasileiros. **Ambiente & Sociedade**, São Paulo, v. 22, p. 1-20, 2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/asoc/v22/1809-4422-asoc-22-e02672.pdf>. Acesso em: 14 jan. 2020.

VANZELA, L. S.; HERNANDEZ, F. B. T.; FRANCO, R. A. M. Influência do uso e ocupação do solo nos recursos hídricos do Córrego Três Barras, Marinópolis. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 1, p. 55-64, 2010. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-43662010000100008. Acesso em: 10 abr. 2020.

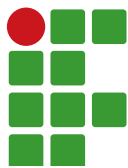
VERONESE, J. V. **Análise de fragmentos florestais e proposição de corredores ecológicos com base no Código Florestal – Lei 4.771/65**: aplicação na Serra do Brigadeiro - MG. 2009. 56 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização). Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora.

VIANA, V. M.; PINHEIRO, L. A. F. V. Conservação da biodiversidade em fragmentos florestais. **Série Técnica IPEF**, v. 12, n. 2, p. 25-42, dez. 1998. Disponível em: <https://www.ipef.br/publicacoes/stecnica/nr32/cap03.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2020.

WÜST, C.; TAGLIANI, N.; CONCATO, A. C. A pecuária e sua influência impactante ao meio ambiente. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL. 2015, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: 6, 2015, p. 1-5.

Received: May 19, 2020

Accepted: November 26, 2020



Investigation of the growth bacteria and Nano iron on the chlorophyll and some nutrients triticale

Zohreh Sepehrzadegan¹

Omid Alizadeh²

Abstract

This study evaluated the effect of growth bacteria and nano iron fertilizer and ordinary iron fertilizer on the chlorophyll content and concentration of some nutrients. The experiment was conducted as 4×6 factorial in RCBD design with three replications in two years (2016-2017). Treatments included: use of plant growth-promoting bacteria in four levels (Non-inoculation, inoculation with *Azotobacter crococcoccus*, *Azospirillum methylpofrome*, and *Pseudomonas putida*) and nano iron fertilizer in five levels (0.0 %, 0.5 %, 1.0 %, 1.5 %, and 2.0 %) and ordinary iron fertilizer on two levels (2.0 % and 0.0 %). Based on the results, the application of biofertilizer and Fe fertilizer had significant effects on all traits at 1.0 % or 5.0 % level. The results of the comparison of the mean of treatments showed that the highest chlorophyll a (0.806) was obtained by *Azotobacter crococcoccus* + 0.5 % nano-Fe and the highest means of chlorophyll b and carotenoid with 0.275 mg g FW⁻¹ and 0.224 (mg g FW⁻¹) values, respectively, were observed by *Pseudomonas putida* + 0.5 % nano-Fe. The highest value of P (55.24), N (4.42) and Fe (84.43) were obtained by *Pseudomonas putida* + control Fe, *Azotobacter crococcoccus* + 1 % nano-Fe and *Pseudomonas putida* + 1 % nano-Fe, respectively.

Keywords: Elements. Inoculation. Nutrition. Pigments.

Introduction

Triticale, a man-made cereal from wheat and rye hybridization, is mainly used as animal feed. In recent years, there has been increasing interest in utilizing triticale for food production (ZHU, 2018). The need for sufficient and healthy food for an ever-increasing global population requires that biological methods be used along with chemical methods to increase the production of agricultural products. One of the biological methods for increasing the production of agricultural products is the use of terrestrial micro-organism. Bio-fertilizers are the best ecofriendly approach for plant and soil environments (RIAZ *et al.*, 2020). Inoculation of different plant species with growth bacteria stimulators has caused to stimulate the growth of the root or increase the formation of the secondary roots through secretion of the auxin hormones by these bacterias (ZHANG *et al.*, 2019) and following this, the effective level of root increased, which, in addition to increasing the absorption of water and nutrients by crops (KUMAR *et al.*, 2015; BASHAN *et al.*, 2017), increased the amount of pigment production (MARIUS *et al.*, 2005). *Azotobacter*, *Azospirillum*, and *Pseudomonas* are the most important bacteria in the growth-promoting plant (YOUSEFI *et al.*, 2017). Some microorganisms play a role in soil element cycles, such as phosphates, and dissolve low soluble organic and mineral (KHAVAZI; ASADI RAHMANI; MALAKOUTI, 2002). Many researchers pointed to the effect of these

1 Islamic Azad University, Firoozabad, Iran, Department of Agriculture. Ph.D. student. zohre.sepehrzadegan@gmail.com

2 Islamic Azad University, Shiraz, Iran. Department of Agriculture. Associate Professor. omid.alizade709@gmail.com

bacteria on the yield of the plant such as wheat (NAILI *et al.*, 2018), soybean (OMARA *et al.*, 2017), tomato and potato (LEDGER *et al.*, 2018). Also, it determined that the Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) are correlated with the physicochemical properties of the soil (FLORES-NÚÑEZ *et al.*, 2018). Iron is one of the essential elements in the production of agricultural products in the world, and plants need to be used continuously for optimal growth (KOBRAEE *et al.*, 2011). There is a lot of evidence that shows the shortage of low-energy elements, including iron, in limestone soils in arid and semi-arid regions, has limited growth, yield, and quality of the plant (EISA; TAHA; ABDALLA, 2011). Organic iron and mineral iron sources are used to correct the iron deficiency (BASHAN *et al.*, 2017). Nanotechnology is one of the new technologies that is now being developed and developed. One of the most important applications of nanotechnology in agriculture is plant nutrition (REZAEI; MOAVENI; MOZAFARI, 2015), at this order, the use of nano fertilizer leads to increased nutrient utilization, reducing soil toxicity, minimizing the negative effects of excessive fertilization, and reducing the frequency of application of fertilizers (NADERI; SHAHRAKI, 2013). There are many reports about nano Fe effects on the increase of physiological traits and yield of the plant, such as Yousefzadeh and Sabaghnia (2016), who mentioned that nano Fe fertilizer led to the increase of chlorophyll content and total flavonoid of *Dracocephalum moldavica*, and Afshar, Hadi, and Pirzad (2013) reported that nano iron led to increasing the yield and yield component of cowpea. Similar results have been reported on soybean (SHEYKHBAGLOU *et al.*, 2010), apple (AVESTAN; NASERI; NAJAFZADEH, 2018), barley (JANMOHAMMADI *et al.*, 2016). This study aimed to investigate the effect of growth bacteria, Nano iron fertilizer, and ordinary iron fertilizer treatments on the chlorophyll content and concentration of some nutrients in triticale.

Material and methods

This project was carried out in a farm located in Firoozabad, Fars province with a length of 52° and 33 ° East and a latitude of 28 ° 53' N and a mean altitude of 1,362 m from the sea level as a factorial in a randomized complete block design with three replications. Based on the results of soil analysis (TABLE 1), 150 kg ha⁻¹ nitrogen fertilizer from urea source and 75 kg ha⁻¹ potassium sulfate fertilizer was added to all experimental plots. Treatments included: use of growth-stimulating bacteria in four levels (Non-inoculation, inoculation with *Azotobacter crococcoccus*, *Azospirillum methylpofrome*, and *Pseudomonas putida*) and Nano iron Fertilizer in five levels (0.0 %, 0.5 %, 1.0 %, 1.5 %, and 2.0 %), and ordinary iron Fertilizer on Two Levels (2.0 % and 0.0 %). Nano iron Fertilizer used from a source of nano iron oxide with a purity of 99 and a particle diameter of less than 30 nm were used.

Table 1 – The properties of experiment soil included Organic carbon %, Phosphor, Potassium, Iron, Manganese, pH, Lime %.

Soil Patt ern	Organic Carbon %	P (ppm)	K (ppm)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Zn (ppm)	Cu (ppm)	pH	Lime Percentage
Clay Loo mi	66 %	4.2	320	5.2	5.6	0.46	1	7.6	32.2

Source: Elaborated by the authors (2016).

On the farm, the plot size was 6 m × 1.6 m. Each plot consisted of 8 planting lines with a spacing of 20 cm apart and a total area of 9.6 square meters. For inoculation of seeds, seven grams of

inoculum per hectare of 107 live and active bacteria have been used. Fighting with pests and diseases was also done according to technical recommendations during the growth period. To estimate the amount of remobilization of materials from vegetative organs to the seed, from the time of filling to the physiological stage, 15 identical and uniform plants are marked in each plot, and from one week of filling the grain (step 65 from Zadoc's coding table) to the examination Physiological (stage 93 of the Zadoc syllabus) was performed every four days.

Chlorophyll (Chl) a and Chl b were calculated according to the following equations (IANCULOV *et al.* 2005):

$$\text{Chl a} = 12.21 \cdot A_{663} - 2.81 \cdot A_{646} \quad (1)$$

$$\text{Chl b} = 20.13 \cdot A_{646} - 5.03 \cdot A_{663} \quad (2)$$

In which:

A_{663} is the sample absorbance at 663 nm;

A_{646} is the sample absorbance at 646 nm.

Results and discussion

Based on the results, the application of biofertilizer on all traits was significant at 1.0 % statistical level. The interaction between different treatments on the amount of chlorophyll a, chlorophyll b, N, and Fe content in seeds was significant at 1.0 % level, and it was significant on carotenoid content and P content in seed at 5.0 % level, but on the amount of K was not significant in the seeds (TABLE 2).

Table 2 – Analysis of variances for Chlorophyll, Carotenoid, Potassium, Phosphor, Nitrogen, Iron traits in responses to treatments at 2017 year.

S.O. V	d.f	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Carotenoids	K	P	N	Fe
Block	2	49.39ns	1.17ns	1701**	385078**	0.67ns	0.001 ^{ns}	0.3ns
Bacteria	3	9282**	2017**	5323**	26549**	332.4**	1.74**	1981**
Fe	5	2073**	3786**	139.6*	23.25ns	4.22*	0.05**	31.55**
Bacteria*Fe	15	125.8ns	34.72ns	12.37ns	6.5ns	1.05ns	0.02ns	2.39ns
Error	46	53.15	5.39	28.41	5592	1.42	0.005	1.62
CV%		13.2	11	24.3	15.7	22.5	17.1	16.4

ns, *, ** show no significant and significant at 5.0 % and 1.0 % statistically level, respectively.

Source: Elaborated by the authors (2017).

Chlorophyll a, b, and carotenoid

Regarding the amount of chlorophyll, a and b, and carotenoid, the results of the data analysis indicated that bacterial treatment was significant at a 1.0 % level. The effect of different levels of nano iron and ordinary iron fertilizer on the amount of chlorophyll a and b at 1.0 % level, and carotenoid content was significant at 5.0 % level, however the interaction was not significant (TABLE 2). The results of the mean comparison for bacterial treatments showed that the treatment with *Azospirillum* had the highest effect and control treatment had the least effect on the amount of chlorophyll a and b and carotenoid.

The highest means for Chlorophyll a, b and carotenoid with 0.806, 0.275, and 0.225 value, respectively, were obtained by *Azotobacter crococcoccus* + 0.5 % nano-Fe, *Pseudomonas putida* + 1.0 % nano-Fe, *Azospirillum methylpofrome* + control of Fe (TABLE 3), in this regard, it can be said that the bacterium provides more water and nutrients to the plant, which, as a result, increases the production of pigments and facilitates the transfer of water and photosynthetic materials in the plant (MARIUS *et al.*, 2005).

Table 3 – Mean comparison of Chlorophyll, Carotenoid, Potassium, Phosphor, Nitrogen, Iron traits in responses to treatments at 2017 year.

	Chl a		Chl b		Car		K		P		N		Fe	
	mg.g FW ⁻¹													
	ppm													
az0fe0	0.7815	g	0.2623	e	0.2226	e	463.1	e	50.326	e	3.754	e	61.26	c
azfe0	0.7943	d	0.2696	d	0.2244	ab	464.0	d	54.652	ab	4.297	bc	77.66	b
azfen.5	0.8063	a	0.2709	cd	0.2237	c	464.3	c	53.965	b	4.386	a	80.64	ab
azfe2	0.8037	b	0.2719	c	0.2243	ab	464.5	c	52.632	c	4.337	b	79.19	ab
azfen1	0.8054	ab	0.2731	b	0.2241	b	464.7	bc	53.621	b	4.427	a	83.00	a
azfen1.5	0.7886	e	0.2725	b	0.2244	ab	464.3	c	52.947	bc	4.359	ab	78.37	ab
azfen2	0.7883	e	0.2714	c	0.2236	c	464.6	c	52.36	c	4.296	cb	75.36	b
Psf0	0.7957	d	0.2702	d	0.2237	c	464.2	cd	55.241	a	4.248	c	78.67	ab
Psfen.5	0.8020	cb	0.2731	b	0.2242	b	464.9	b	53.681	b	4.307	cb	83.63	a
Psf2	0.8046	b	0.2727	b	0.2232	d	464.3	cd	53.951	b	4.340	b	79.65	ab
Psfen1	0.8043	b	0.2757	a	0.2246	a	464.5	c	53.412	b	4.352	b	84.43	a
Psfen1.5	0.7927	de	0.2726	b	0.2245	a	465.0	a	52.741	bc	4.257	c	78.64	ab
Psfen2	0.7890	e	0.2722	b	0.2241	b	464.1	cd	51.224	d	4.226	cd	77.48	ab
azofe0	0.7986	cb	0.2714	c	0.2246	a	464.6	c	55.021	a	4.254	c	76.33	b
azofen.5	0.8035	b	0.2727	b	0.2231	d	464.8	b	54.112	b	4.314	cb	80.66	ab
azofe2	0.8020	cb	0.2730	b	0.2241	b	464.2	cd	54.101	b	4.287	cb	78.95	ab
azofen1	0.8014	cb	0.2745	ab	0.2241	b	464.4	c	52.342	c	4.335	cb	82.00	ab
azofen1.5	0.7883	ef	0.2727	b	0.2235	c	464.5	c	53.624	b	4.276	cb	77.21	b
azofen2	0.7867	f	0.2717	c	0.2235	ab	463.9	d	51.627	d	4.164	d	73.21	b

Means followed by the same letter in the same column do not differ statistically at 5.0 % by Duncan test, Az: *Azotobacter crococcoccus*, Azo: *Azospirillum methylpofrome*, Ps: *Pseudomonas putida*, Fen: nano iron fertilizer, Fe: ordinary iron fertilizer.

Source: Elaborated by the authors (2017).

Compared to the average of treatment with different levels of nano and ordinary iron, it was also found that the highest effect on chlorophyll a and b and carotenoids was on nano iron at 1.0 % level and the lowest was related to control. The reason for this increase can be the effect of iron on the manufacture of chlorophyll synthesis precursors. It seems that iron nano-silicates increase nutritional status by improving chlorophyll a and b content and carotenoid content in the leaf. The iron element does not play a direct role in the chlorophyll structure; however, the presence of sufficient iron causes the production of chlorophyll a and b in the plant, and the chlorophyll status of the plant can affect the amount of photosynthesis (RUBAN, 2016). Carotenoids are auxiliary pigments that affect the

absorption and transmission of light, and chlorophyll protectors are considered during the oxidation processes (LAZAR, 2015). The fermentation of iron micronutrients had a significant effect on the increase of carotenoid in the red bean plant (ARANGO *et al.*, 2014).

Evaluated elements

Regarding the value of K, the results of the data analysis indicate that the effect of bacterial treatment on potassium concentration in grain was significant at 1.0 % level, however the effect of nano-iron and ordinary iron was not significant (TABLE 2). The comparison of bacterial treatments showed that the highest amount of potassium was obtained using *Pseudomonas* and the lowest amount was related to the control Growth stimulating bacteria, and especially *Pseudomonas*, which often increase the intrusion of insoluble mineral elements in the soil and thus improve the absorption of these elements by the plant (PATTEN; GLICK 2002). In a study on corn, it was found that application of growth-stimulating bacteria had a significant difference in Fe, K, Zn, Mn concentrations in corn grain. Typically, growth-promoting bacteria affect the formation and horizontal development of roots (BASHAN *et al.*, 2017). Particularly, the application of iron fertilizers should be said, although the use of this fertilizer may lead to a slight increase in the potassium content of the seed. But this effect is not meaningful. The results of this study are consistent with the research by Taha, Omar, and Hadeer (2016). The results of Elazab (2014) also confirm this topic. Regarding the value of P, the results of the data analysis indicate that bacterial treatment was significant at 1.0 % level and iron treatment at 5.0 % level and no interaction was significant (TABLE 2). The result of the mean comparison for bacterial treatment shows that the highest amount of P is in the treatment with *Pseudomonas* and the lowest in the control treatment. *Pseudomonas* bacteria are plant growth promoting bacteria that can increase plant growth by increasing the number of elements such as phosphorus (dissolving dissolved phosphates) as well as the production of various types of herbal hormones. Studies have shown that PGPR bacteria can dissolve insoluble phosphate by using methods such as acidification, chlorate formation, and various types of exchange reactions (GOSAL *et al.*, 2012). It was also found that the highest effect on the P content was observed for the control and the lowest value was 1.5%. The highest means for P, N, and Fe content with 55.0, 244.42, and 84.43 value, respectively, were obtained by *Pseudomonas putida* + control of Fe, *Azotobacter crococcoccus* + 1.0 % nano-Fe, *Pseudomonas putida* + 1.0 % nano-Fe. Nair *et al.* (2010) concluded that with increasing iron levels, the average concentration of phosphorus in soybeans decreased significantly. Rabieyan, Yarnia, and Kazemi-e-Arbat (2011) found that increased iron levels have caused to reduce the concentration of phosphorus in chickpea, probably due to the formation of iron phosphate or phosphate-iron hydroxide. Regarding the value of N, the results of the data analysis indicate that the treatment of the bacteria and the treatment of iron was significant at 1.0 % level and the interaction treatment was not significant (TABLE 2). The result of the mean comparison of bacterial treatment showed that the highest amount of N was related to *Azotobacter* treatment and the lowest amount was related to control. In three field experiments and using different bacterial treatments, the highest amount of nitrogen in aerial parts and seeds was obtained from inoculation of wheat with *Azotobacter* bacteria. Some researchers believe that the increase in nitrogen and grain yields is due to three main causes, including the secretion of various hormones that increase root growth and absorb nitrogen from the soil (JAMAATI SOMARIH *et al.*, 2009). The effect on nitrate adsorption is due to the reduction of this compound by bacteria in the root zone (UL HASSAN; BANO 2015), and finally through the fixation of nitrogen (ALIZADEH *et al.*, 2007). Comparing the average treatment with different levels

of nano iron and ordinary iron was found to have the highest effect on the content of nano iron at 1.0 % level and the lowest was related to control treatment. Iron is in combination with nitrate and nitrite reductase enzymes (in cytoplasm and chloroplasts, respectively), which in addition to nitrogen fixation directly affects the amount of nitrogen in the plant and increases the amount of nitrogen in the seed (HAGHIGHI; YARMAHMODI; ALIZADEH, 2010). The results obtained in this experiment are consistent with the result presented by Kobraee *et al.* (2011). Regarding the amount of Fe in grain, the results of the data analysis indicated that bacterial treatment and iron treatment were significant at 1.0% level, but the interaction was not significant (TABLE 2). Concerning Fe content, the result of the mean comparison for bacterial treatment shows that the maximum amount of Fe in the seed belongs to the *Pseudomonas* plant and the lowest amount is related to the control treatment. In this regard, as with *Pseudomonas*, the cause of increasing phosphorus concentration in the plant, *Pseudomonas* is one of the growth-promoting bacteria that can increase plant growth by increasing the amount of phosphorus (solubility of phosphate Insoluble) and iron (siderophore production). Siderophore and Chalatai or organic compounds with low molecular weight and with a strong combined desire for complexation with certain cations such as iron. Plants can use the siderophore produced by bacteria as an agent to supply the required iron (AHMAD; AHMAD; KHAN, 2006) and this iron plays an incremental role in plant growth and elevated iron element in the grain. Comparing the average treatment with different levels of nano and ordinary iron, it was also found that the maximum effect on Fe content in the seeds was related to nano iron at the 1.0% level and the lowest in the control level. Increasing iron concentrations could result from improving the production of assimilates caused by current photosynthesis, as well as the remanufacturing and desirable materials to be seeded. Khan, Hassan, and Maitlo (2006) showed that the amount of copper, iron, manganese, and zinc in straw and seeds increased due to the nutrition of wheat plants with mineral fertilizers.

Conclusions

Regarding the role of bacteria that enhance plant growth and the role of nano fertilizers in improving physiological characteristics and yield of plants, this study investigated them on triticales plants and determined that the application of these treatments would improve the amount of plant pigment and element content. Also, it determined that interaction of plant growth-promoting bacteria, *Azotobacter crococcocus*, and *Azospirillum methylpofrome* especially, with nano-Fe fertilized (1.0% and 1.5%) led to the improvement of agronomy and physiological properties of triticales and the use of *Azotobacter crococcocus* and *Azospirillum methylpofrome* with nano-Fe fertilization (1.0% and 1.5%) can be an alternative to improve to the sustainability of triticales cultivation, once it has the potential to reduce the use of conventional synthetic fertilizers.

Investigação das bactérias de crescimento e Nano ferro na clorofila e alguns nutrientes triticales

Resumo

Este estudo avaliou o efeito das bactérias de crescimento e fertilizantes de nano ferro e fertilizantes de ferro comum sobre o conteúdo de clorofila e a concentração de alguns nutrientes. O experimento foi conduzido em esquema fatorial 4×6 , Delineamento de Blocos Completos Casualizados (RCBD),

com 3 repetições em 2 anos (2016-2017). Os tratamentos incluíram: uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas em quatro níveis (não inoculação, inoculação com *Azotobacter crococcus*, *Azospirillum methylpofrome* e *Pseudomonas putida*), fertilizante de nano ferro em cinco níveis (0,0%, 0,5%, 1,0 %, 1,5% e 2,0%) e fertilizante de ferro comum em dois níveis (2,0 % e 0,0%). Com base nos resultados, a aplicação de biofertilizante e fertilizante de Fe teve efeitos significativos em todas as características ao nível de 1,0 % ou 5,0%. Os resultados da comparação das médias dos tratamentos mostraram que a maior clorofila a (0,806) foi obtida por *Azotobacter crococcus* + 0,5% nano-Fe e as maiores médias de clorofila b e carotenóide com 0,275 mg g FW-1 e 0,224 (mg os valores de g FW-1), respectivamente, foram observados por *Pseudomonas putida* + 0,5% nano-Fe. Os maiores valores de P (55,24), N (4,42) e Fe (84,43) foram obtidos por *Pseudomonas putida* + Fe controle, *Azotobacter crococcus* + 1,0% nano-Fe e *Pseudomonas putida* + 1,0% nano-Fe, respectivamente.

Palavras-chave: Elementos. Inoculação. Nutrição. Pigmentos.

References

AFSHAR, R. M.; HADI, H.; PIRZAD, A. Effect of nano-iron on the yield and yield component of cowpea (*Vigna unguiculata*) under end season water deficit. **International Journal of Agriculture**, v. 3, p. 27-34, 2013.

AHMAD, F.; AHMAD, I.; KHAN, M. S. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth-promoting activities. **Microbiological Research**, v. 36, p. 1-9, 2006.

ALIZADEH, O. E.; MAJIEDE, H. A.; NADIAN, G.; NOORMOHAMADE, M. Effect of water stress and nitrogen rate in yield and component of corn. **International Journal of Agricultural Science**, v. 13, p. 437-450, 2007.

ARANGO, M.; JOURDAN, E.; GEOFFRIAU, P.; BEYER, R. W. Carotene hydroxylase activity determines the levels of both α -carotene and total carotenoids in orange carrots. **Plant Cell**, v. 26, n. 5, p. 2223-2233, 2014.

AVESTAN, S.; NASERI, L.; NAJAFZADEH, R. Improvement of In vitro Proliferation of Apple (*Malus domestica* Borkh.) by Enriched Nano Chelated Iron Fertilizer. **International Journal of Horticultural Science and Technology**, v. 5, n. 1, p. 43-51, 2018.

BASHAN, Y.; HUANG, P.; KLOPPER, J. W.; DE-BASHAN, L. A proposal for avoiding fresh-weight measurements when reporting the effect of plant growth-promoting (rhizo) bacteria on growth promotion of plants. **Biology and Fertility of Soils**, v. 53, n. 1, 2017.

EISA, S. A. L.; TAHA, M. B.; ABDALLA, M. A. M. Amendment of soil fertility and augmentation of the quantity and quality of soybean crop by using phosphorus and micronutrients. **International Journal of Academic Research**, v. 3, p. 800-808, 2011.

ELAZAB, M. F. S. **Using some natural materials as a fertilizer and its effect on crop growth, yield and nutrients uptake**. MSc Thesis, Faculty of Agriculture - Mansoura University, 2014.

FLORES-NÚÑEZ, V. M.; AMORA-LAZCANO, E.; RODRÍGUEZ-DORANTES, A.; CRUZ-MAYA, J. A.; JAN-ROBLERO, J. Comparison of plant growth-promoting rhizobacteria in a pine forest soil and an agricultural soil. **Soil Research**, v. 56, n. 4, p. 346-355, 2018.

GOSAL, S. K.; SAROA, G. S.; VIKAL, Y.; CAMEOTRA, S. S.; PATHANIA, N.; BHANOT, A. Isolation and molecular characterisation of diazotrophic growth-promoting bacteria from wheat rhizospheric soils of Punjab. **Soil research**, v. 49. N. 8, p. 725-732, 2012.

HAGHIGHI, B. J.; YARMAHMADI, Z.; ALIZADEH, O. Evaluation the effects of biological fertilizer on physiological characteristic and yield and its components of corn *Zea mays* L. under drought stress. **American journal of Agricultural and Biological Sciences**, v. 5, p. 189-193, 2010.

IANCULOV, I.; PALICICA, R.; BUTNARIU, M.; DUMBRAVĂ AND GERGEN, I. Obținerea în stare cristalină a clorofilei din cetină de brad (*Abies alba*) și de pin (*Pinus sylvestris*). **Revista de Chimie**, v. 56, n. 4, p. 441-443, 2005.

JAMAATI SOMARIH, SH.; TOBEH, A.; HASSANZADEH, M.; HOKMALIPOUR, S.; ZABIHI MAHMOODABAD, R. Effects of plant density and nitrogen fertilizer on nitrogen uptake from soil and nitrate pollution in potato tuber research. **Journal of Environmental Sciences**, v. 3, p. 122-126, 2009.

JANMOHAMMADI, M.; AMANZADEH, T.; SABAGHNIYA, N.; DASHTI, S. Impact of foliar application of nano micronutrient fertilizers and titanium dioxide nanoparticles on the growth and yield components of barley under supplemental irrigation. **Acta Agriculturae Slovenica**, v. 107, n. 2, p. 265-276, 2016.

KHAN, H.; HASSAN, Z. U.; MAITLO, A. A. Yield and micronutrients content of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) under a multi-nutrient fertilizer Hal-Tonic. **Intl. Journal of Agricultural Biological**, v. 8, p. 366-370, 2006.

KHAVAZI, K.; ASADI RAHMANI, H.; MALAKOUTI, M. J. Necessity for the Production of Biofertilizers in Iran. **Agricultural Education Press, Iran**. (In Persian), 2002.

KOBRAEE, S.; NOOR MOHAMADI, N.; HEIDARI SHARIFABAD, H.; DARVISH KAJORI, F.; DELKHOSH B. Influence of micronutrient fertilizers on soybean nutrient composition. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 4, p. 763-769, 2011.

KUMAR, A.; BAHADUR, I.; MAURYA, B. R.; RAGHUWANSHI, R.; MEENA, V. S.; SINGH, D. K.; DIXIT, J. Does a plant growth-promoting rhizobacteria enhance agricultural sustainability?. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 9, n. 1, p. 715-724, 2015.

LAZAR, D. Parameters of photosynthetic energy partitioning. **Journal of Plant Physiology**, v. 175, n. 131-147, 2015.

LEDGER, T.; POUPIN, M. J.; TIMMERMANN, T.; STUARDO, M.; GONZALEZ, B.; LITTLE, C. Universidad Adolfo Ibanez, **Pgpr compositions and methods for improved cultivation of tomato and potato species**. U.S. Patent Application 15/115, 539, 2018.

MARIUS, S.; OCTAVITA, A.; EUGEN, U.; VLAD, A. Study of a microbial inoculation on several biochemical indices in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Genetics and Molecular Biology**, v. 12, n. 2, p. 11-17, 2005.

NADERI, M. R.; SHAHRAKI, A. D. Nanofertilizers and their roles in sustainable agriculture. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v. 5, p. 2229-2232, 2013.

NAILI, F.; NEIFAR, M.; ELHIDRI, D.; CHERIF, H.; BEJAOU, B.; AROUA, M. Optimization of the effect of PGPR-based biofertilizer on wheat growth and yield. **Biometrics & Biostatistics International Journal**, v. 7, n. 3, p. 226-232, 2018.

NAIR, R.; VARGHESE, S. H.; NAIR, B. G.; MAEKAWA, T.; YOSHIDA, Y.; KUMAR, D. S. Nanoparticulate material delivery to plants. **Plant science**, v. 179, n. 3, p. 154-163, 2010.

OMARA, A.; HAUKA, F.; AFIFY, A.; M. N. EL-DIN, M. N.; KASSEM, M. The role of some PGPR strains to biocontrol *Rhizoctonia solani* in soybean and enhancement the growth dynamics and seed yield. **Environment, Biodiversity and Soil Security**, v. 1, p. 47-59, 2017.

PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in the development of the host plant root system. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, p. 3795-3801, 2002.

REZAEI, F.; MOAVENI, P.; MOZAFARI, H. Effect of different concentrations and time of nano TiO_2 spraying on quantitative and qualitative yield of soybean (*Glycine max* L.) at Shahr-e-Qods, Iran. **Biological Forum**, v. 7, n. 1, p. 957-964, 2015.

RABIEYAN, Z.; YARNIA, M.; KAZEMI-E-ARBAT, H. Effects of Biofertilizers on Yield and Yield Components of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under Different Irrigation Levels. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 5, n. 12, p. 3139-3145, 2011.

RIAZ, U.; MEHDI, S. M.; IQBAL, S.; KHALID, H. I.; QADIR, A. A.; ANUM, W.; AHMAD, M. MURTAZA, G.; Bio-fertilizers: Eco-Friendly Approach for Plant and Soil Environment. In: **Bioremediation and Biotechnology**, p. 189-213. Springer, Cham. 2020.

RUBAN, A. V. Nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching: mechanism and effectiveness in protecting plants from photodamage. **Plant Physiology**, v. 170, p. 1903-1916, 2016.

SHEYKHBAGLOU, R.; SEDGHI, M.; SHISHEVAN, M. T.; SHARIFI, R. S. Effects of nanoiron oxide particles on agronomic traits of soybean. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 2, n. 2, p. 112-113, 2010.

TAHA, A. A.; OMAR, M. M.; HADEER, R. K. Effect of different sources and levels of potassium on growth, yield and chemical composition of faba bean. **Journal of Soil Sciences and Agricultural Engineering**, v. 7, p. 243-248, 2016.

UL HASSAN, T.; BANO, A. The stimulatory effects of L-tryptophan and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on soil health and physiology of wheat. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 15, n. 1, p. 190-201, 2015.

YOUSEFI, S.; KARTOOLINEJAD, D.; BAHMANI, M.; NAGHDI, R. Effect of *Azospirillum lipoferum* and *Azotobacter chroococcum* on germination and early growth of hopbush shrub (*Dodonaea viscosa* L.) under salinity stress. **Journal of Sustainable Forestry**, v. 36, n. 2, p. 107-120, 2017.

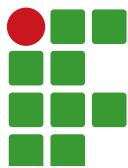
YOUSEFZADEH, S.; SABAGHNIA, N. Nano-iron fertilizer effects on some plant traits of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) under different sowing densities. **Acta agriculturae Slovenica**, v. 107, n. 2, p. 429-437, 2016.

ZHANG, Y.; GAO, X.; SHEN, Z.; ZHU, C.; JIAO, Z.; LI, R.; SHEN, Q. Pre-colonization of PGPR triggers rhizosphere microbiota succession associated with crop yield enhancement. **Plant Soil**, v. 439, p. 553–567, 2019.

ZHU, F. Triticale: Nutritional composition and food uses. **Food Chemistry**, v. 241, p. 468-479, 2018.

Received: September 13, 2020

Accepted: December 2, 2020



Effects of Nanofertilizers (Mg and Fe) and Planting Data on Productivity and Quality of Potato Tubers in Cold Desert Climate

Amir Khodadadi Karooki¹

Mohammadreza Yavarzadeh²

Mohammad Mehdi Akbarian³

Ali Akbar Askari⁴

Abstract

Interaction among nanofertilizers supply and planting data may yield synergistic outputs that could influence nutrient use efficiency. To provide insight on this phenomenon, a double split plot based on RCBD with 3 replications were laid out to evaluate the effects spraying solution of nanoparticles magnesium (Mg) and iron (Fe); 0.0 %, 1.0 %, and 2.0 % at flowering and tuber filling stages) and planting data (October 5, 2019 and October 25, 2019) on bioelements, protein nitrogen, and nitrates contents of Sante potato tubers in a cold desert climate (Kerman, Iran). Considering the control group, the use of different dosages of nanofertilizers resulted in a significant increase in the bioelements and pH contents. Besides effects of area and time of planting, their two and three effects on tuber chlorophyll contents were reported significant. The highest protein and nitrogen portion of the potato tubers were related to spraying solution of Mg (1.0 %) + Fe (2.0 %) nanofertilizers. Increasing nanofertilizers supplementation reduced the nitrate content of potato tubers. The results indicated that the application of nanofertilizers significantly increased the carotenoid portion of the potato tubers. The interaction effects of nanofertilizers and planting data on chlorophyll index and calcium levels of potato tubers were completely significant. Our analysis corroborated that application nanofertilizers by spraying during flowering and tuber filling stages enhances potato productivity and quality by improving bioelements or resulting in favorable physiological outcomes and is recommended to farmers.

Keywords: Bioelements. Sante potato tubers. Nanofertilizers. Nitrate. Planting data. Iran.

Introduction

The world population continues to grow rapidly. Likewise, in recent years the growth rates of world agricultural production and crop yields have slowed. This has raised fears that the world may not be able to grow enough food and other commodities to ensure that future populations are adequately fed (FAO, 2015). To overcome this phenomenon and to achieve food security, the research has aimed to clarify the effect of fertilization with nanofertilizers on efficient agronomic production.

Nowadays, how nanofertilizers affect crop yields and physiological outcomes in crop species under varying area conditions remain particularly interesting questions to be addressed. Nanotechnology helps to improve agricultural production by increasing the efficiency of inputs and minimizing relevant losses.

1 Islamic Azad University, Bam, Iran. Department of Agriculture. PhD Candidate. amirkh13611408@gmail.com

2 Islamic Azad University, Bam, Iran. Department of Agriculture. Assistant Professor. dr.yavarzadeh@iaubam.ac.ir (Correspondence)

3 Islamic Azad University, Bam, Iran. Department of Agriculture. Assistant Professor. maat121@yahoo.com

4 Islamic Azad University, Bam, Iran. Department of Agriculture. Assistant Professor. mazdakask@yahoo.com

Also, nanomaterials as unique carriers of agrochemicals facilitate the site-targeted controlled delivery of nutrients with increased crop protection (SHANG *et al.*, 2019; TABARRAEI *et al.*, 2019).

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is widely used for many food and industrial applications and is considered one of the most significant crops in moderate to cold regions (BIRCH *et al.*, 2012). Some previous studies reported that the application of nanofertilizers plays a dominant role in the course of growth and development processes, shaping the volume and quality of potato yields (especially at flowering and tuber filling stages) (ZENGIN *et al.*, 2008; POBEREZNY; WSZELACZYNSKA, 2011; WANG *et al.*, 2020), which are safe to consumers' health.

Magnesium (Mg) and iron (Fe) are involved in metabolic processes and these are considered activators of important key enzymes (MENGAL; KIRKBY, 2001; EMAMI and OLFATI, 2017). Mg plays a part in energy transfer, in the absorbing of water by the way of organizing of osmotic pressure in the cell and cell growing (ZENGIN *et al.*, 2008). Generally, Mg fertilization improves crop yield in most production systems. The deficiency of which affects photosynthesis and carbohydrate partitioning in crops (NEJIA *et al.*, 2016) reduces the sustainability of agricultural production and development (JEROEN *et al.*, 2015). The conflicting response of yield and quality traits of potato to increasing Mg supply may serve as an example (GERENDAS; FUHRS, 2013). Also, it has been estimated that more than 60 % of the world's population is Fe dietary deficient (WHITE; BROADLEY, 2009). Fe is an essential element for crop yields. Fe deficiency is a common nutritional disorder in many crop plants, causing chlorosis, poor yields, and reduced nutritional quality (AL-JOBORI; AL-HADITHY, 2014).

Potato tubers have a low tendency to accumulate nitrates (WRONIAK, 2006; HMELAK *et al.*, 2014). Nitrates content in consumable plant organs is small and should not raise concern provided that the recommended fertilization and harvest terms of the original plants are observed (POBEREZNY *et al.*, 2014).

The present study aimed to determine the effects of nanofertilizers (Mg and Fe from spraying solution) and planting date on the bioelements compounds and the protein nitrogen and nitrates content in potato tubers in a local cold desert climate that higher nutritional demand.

Materials and methods

Soil analysis

Soil samples in 0-30 cm deep were collected, air-dried, crushed, and sieved through a 2 mm sieve, and analyzed for the physicochemical properties with Ostrowska, Gawliński, and Szczubiaka methods (1991).

Table 1 – Some physicochemical properties of the soil used (2019): Electrical conductivity (EC) in ds m^{-1} , pH, percentage of silt, sand, and clay, soil texture, organic matter (OM) in percentage (%). Nitrogen (N), Phosphorus (P), Potassium (K), Iron (Fe), Magnesium (Mg) in g kg^{-1} Kerman, Iran (2019).

Area	EC (ds m^{-1})	pH	Soil property (%)			Soil texture	OM (%)	Elements (g kg^{-1})				
			Silt	Clay	Sand			N	P	K	Fe	Mg
Zeh-e Kalut	1.8	7.7	29	33	38	Sandy soil	0.59	0.06	12	135	2.6	3.2
Islamabad	1.8	7.9	39	28	33	Sandy soil	0.59	0.06	13	140	2.2	3.1

Source: Central Agriculture Laboratory, Bam Islamic Azad University (2019).

A double split plot based on randomized complete block design with 3 replications were laid out to determine the effects of spraying a solution of nanoparticles Mg and Fe (0, 1, and 2 % at

flowering and tuber filling stages) and planting data (October 5, 2019 and 25 October 25, 2019) on bioelements (Nitrogen (N), Potassium (K), Calcium (Ca), Sodium (Na), Phosphorus (P) and Iron (Fe)) and protein nitrogen and nitrates contents of Sante potato tubers in a cold desert climate (Kerman, Iran). Field experiments were carried out at the farms of Islamabad and Zeh-e Kalut Station (TABLE 2).

Table 2 – Geographical condition of areas (Kerman, Iran; 2019)

Area	Longitude	Latitude	Sea level
Zeh-e Kalut	27°14'51	56°35'56	22751
Islamabad	27°47'27	58°35'34	386

Source: Meteorological Organization, Tehran, Iran (2019)

The first spraying solution of nanoparticles was performed after the rows became compact and potato plants formed first floral buds, and the following treatments took place at 7-day intervals. Once the potato had completed their vegetative growth, potato tubers were collected and samples were fragmented, dried at 70 °C, and stored in sealed containers.

The concentration of bioelements was measured with a mix of Hydrochloric acid and Nitric acid solutions using standard methods derived from Westerman (1990). P concentration was measured with Spectrophotometric methods (RYAN; STEFAN; RASHID, 2001), and other elements were measured by atomic absorption methods (JONES, 2001).

Total and protein nitrogen contents were determined with Kjeldhal's methods. In brief, 24 % solution of trichloroacetic acid was used for titration of proteins to determine protein nitrogen. The content of nitrates was measured using the ion-selective methods (multi-purpose computer device CX-721, Elmetron).

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SPSS 17.0 software (2008). The results were expressed as mean \pm standard deviation (SD) and performed with one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's new multiple range test and values of $p < 0.05$ were considered as statistically significant.

Results and discussion

The bioelements content in potato tubers was significantly affected by the experimental factors and their interaction (TABLES 3 and 4). The lowest concentration of bioelements was determined in the potato tubers harvested in the control group (in which only distilled water had been applied). Considering the control group, the use of different dosages of nanofertilizers resulted in a significant increase in the bioelements concentration (including K, Ca, and Fe) ($p < 0.05$). In this study, the highest Fe and Ca contents were recorded in the potato tubers treated with Mg (1.0 %) + Fe (2.0 %) spraying solution.

Two and three effects of area and time of planting on tuber chlorophyll contents were reported significant (TABLES 5 and 6, $p < 0.01$). Likewise, the interaction effects of nanofertilizers and planting data on chlorophyll index and Ca levels of potato tubers were completely significant ($p < 0.05$).

Table 3 – Effects of nanoparticles and planting data on bioelements contents (%) of Sante potato tubers (Kerman, Iran; 2019): Nitrogen (N), Phosphorus (P), Potassium (K), Iron (Fe), Magnesium (Mg) in g kg⁻¹. Kerman, Iran (2019); p<0.05.

Treatments	K	Na	Ca	P	Fe
Area					
Zeh-e Kalut	1.9 ^a	1.64 ^a	0.09 ^a	0.072 ^a	33.35 ^a
Islamabad	1.84 ^a	1.50 ^a	0.09 ^a	0.070 ^a	33.22 ^a
Cultivar time					
5 October	1.88 ^a	1.98 ^a	0.09 ^a	0.070 ^a	33.17 ^a
25 October	1.85 ^a	1.93 ^a	0.09 ^a	0.070 ^a	33.4 ^a
Spraying solution					
Control	1.75 ^b	1.66 ^a	0.07 ^e	0.056 ^a	29.38 ^c
1 % Fe	1.84 ^{ab}	1.69 ^a	0.08 ^d	0.058 ^a	32.8 ^b
2 % Fe	2.01 ^a	1.74 ^a	0.09 ^c	0.060 ^a	32.6 ^b
1 % Mg	1.84 ^{ab}	1.71 ^a	0.07 ^b	0.073 ^a	32.18 ^b
2 % Mg	1.79 ^b	1.69 ^a	0.09 ^a	0.077 ^a	32.24 ^b
1 % Fe * 1 % Mg	1.9 ^{ab}	1.75 ^a	0.10 ^b	0.091 ^a	33.71 ^b
1 % Fe * 2 % Mg	1.76 ^b	1.72 ^a	0.11 ^a	0.096 ^a	32.6 ^b
2 % Fe * 1 % Mg	1.93 ^{ab}	1.70 ^a	0.10 ^a	0.093 ^a	37.03 ^a
2 % Fe * 2 % Mg	1.99 ^a	1.78 ^a	0.11 ^a	0.099 ^a	36.89 ^a

ns: non-significant; The letters (a-d) show a significant difference between groups

Source: Elaborated by the authors (2021).

Table 4 – Interaction between area * time cultivar * spraying solution applications on bioelements content of Sante potato tubers (Kerman, Iran; 2019);): Nitrogen (N), Phosphorus (P), Potassium (K), Iron (Fe), Magnesium (Mg) in g kg⁻¹. Kerman, Iran (2019); p<0.05.

Source of changes	Df	Average of squares				
		K	Na	Ca	P	Fe
Area	1	0.09 ^{ns}	2447/6 ^{ns}	0.000003 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.46 ^{ns}
Original error	4	0.33	6619/4	0.003	0.003	50.42
Time cultivar	1	0.03 ^{ns}	120.05 ^{ns}	0.0002 [*]	0.001 ^{ns}	1.43 ^{ns}
Area * Time cultivar	1	0.001 ^{ns}	220.6 ^{ns}	0.00001 ^{ns}	0.004 ^{ns}	1.64 ^{ns}
Minor error	4	0.02	2970.6	0.0004	0.002	9.36
Spraying solution	8	0.11 ^{**}	1121/1 ^{ns}	0.002 ^{**}	0.005 ^{ns}	68.63 ^{**}
Area * Spraying solution	8	0.01 ^{ns}	1092/7 ^{ns}	0.0001 [*]	0.0007 ^{ns}	9.1 ^{ns}
Time cultivar * Spraying solution	8	0.01 ^{ns}	773.5 ^{ns}	0.0001 [*]	0.001 ^{ns}	19.25 ^{ns}
Area * Time cultivar * Spraying solution	8	0.01 ^{ns}	741.2 ^{ns}	0.00005 ^{ns}	0.003 ^{ns}	6.31 ^{ns}
Minor error error	64	0.03	940.4	0.00005	0.002	9.9
CV%	-	10.01	18.5	8.2	17.4	9.4

* : p<0.05, ** : p<0.01, ns : non-significant

Source: Elaborated by the authors (2021).

Table 5 – Effects of nanoparticles and planting data on chlorophyll index and photosynthetic pigments (mg g⁻¹ fresh leaves) of Sante potato tubers (Kerman, Iran; 2019); p<0.05.

Treatments	Chlorophyll index	Chlorophyll a	Chlorophyll b
Area			
Zeh-e Kalut	42.9 ^a	30.28 ^a	20.4 ^a
Islamabad	40.9 ^a	27.3 ^a	17.85 ^a
Cultivar time			
5 October	42.36 ^a	29.33 ^a	19.79 ^a
25 October	41.44 ^b	28.2 ^b	18.46 ^a
Spraying solution			
Control	35.93 ^g	22.24 ^e	13.42 ^d
1 % Fe	39.4 ^e	25.7 ^d	15 ^d
2 % Fe	41.87 ^d	28.18 ^c	17.64 ^c
1 % Mg	38.04 ^f	24.35 ^d	14.5 ^d
2 % Mg	41.11 ^d	27.61 ^c	17.86 ^c
1 % Fe * 1 % Mg	43.85 ^c	30.35 ^b	20.85 ^b
1 % Fe * 2 % Mg	41.76 ^d	34.1 ^a	26.47 ^a
2 % Fe * 1 % Mg	46.51 ^b	32.66 ^a	23.16 ^b
2 % Fe * 2 % Mg	48.51 ^a	34.08 ^a	23.2 ^b

ns: non-significant; The letters (a-d) show a significant difference between groups

Source: Elaborated by the authors (2021).

Table 6 – Interaction between area * time cultivar * spraying solution application on chlorophyll index and photosynthetic pigments of Sante potato tubers (Kerman, Iran; 2019).

Source of Changes	Df	Average of squares			
		Chlorophyll index	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Carotenoid
Area	1	108.6 ^{**}	234.9 ^{**}	0.78 ^{ns}	176.5 ^{**}
Original error	4	284.84	270.6	4.16	300.5
Time cultivar	1	22.87 ^{**}	29.14 [*]	0.82 ^{ns}	47.9 [*]
Area * Time cultivar	1	1.84 ^{ns}	0.26 ^{ns}	1.04 ^{ns}	0.52 ^{ns}
Minor error	4	2.38	2.17	24.03	6.79
Spraying solution	8	189.42 [*]	221.3 ^{**}	6.73 ^{ns}	246.8 ^{**}
Area* Spraying solution	8	7.89 ^{**}	11.36 [*]	3.47 ^{ns}	9.19 ^{ns}
Time cultivar * Spraying solution	8	10.23 ^{**}	15.24 ^{**}	3.45 ^{ns}	13.68 ^{ns}
Area * Time cultivar * Spraying solution	8	11.72 ^{**}	7.09 ^{ns}	5.48 ^{ns}	6.1 ^{ns}
Minor error	64	2.16	5.08	4.5	8.84
CV%	-	3.51	7.82	21.6	15.54

ns: non-significant; The letters (a-d) show a significant difference between groups.

Source: Elaborated by the authors (2021).

In this study, the dosage of nanofertilizers (0.0 %, 1.0 %, and 2.0 % at flowering and tuber filling stages) used significantly decreased the content of nitrates in potato tubers (TABLES 7 and 8, p<0.05). The highest decrease in nitrate content was obtained at the 2.0 % and 1.0 % nanofertilizers treatments. These groups were divided into a single statistical group and showed difference with

other groups. Increasing nanofertilizers supplementation amplification of pH contents of potato tubers ($p>0.05$). The results indicated that the application of nanofertilizers significantly increased the carotenoid portion of the potato tubers ($p<0.05$).

Table 7 – Effects of nanoparticles and planting data on Fe (mg/kg), nitrogen (%), nitrates (mg/kg) and pH of Sante potato tubers (Kerman, Iran; 2019); $p<0.05$

Treatments	Protein	Nitrogen	Nitrates	pH
Area				
Zeh-e Kalut	210.7 ^a	0.7 ^a	210.7 ^a	4.39 ^a
Islamabad	203.11 ^a	0.67 ^a	203.11 ^a	3.84 ^a
Cultivar time				
5 October	201.96 ^a	0.69 ^a	201.96 ^a	4.15 ^a
25 October	211.85 ^a	0.68 ^a	211.85 ^a	4.07 ^a
Spraying solution				
Control	237.5 ^a	0.55 ^f	237.5 ^a	3.48 ^g
1 % Fe	224.2 ^{ab}	0.61 ^{de}	224.2 ^{ab}	3.83 ^{ef}
2 % Fe	207.3 ^{bcd}	0.66 ^{cd}	207.3 ^{bcd}	4.06 ^{de}
1 % Mg	206.7 ^{bcd}	0.59 ^{ef}	206.7 ^{bcd}	3.69 ^{fg}
2 % Mg	194.9 ^{cd}	0.74 ^b	194.9 ^{cd}	4.43 ^{bc}
1 % Fe * 1 % Mg	204.1 ^{bcd}	0.71 ^{bc}	204.1 ^{bcd}	4.21 ^{cd}
1 % Fe * 2 % Mg	213.7 ^{abc}	0.67 ^{cd}	213.7 ^{abc}	4.07 ^{de}
2 % Fe * 1 % Mg	187.34 ^{cd}	0.84 ^a	187.34 ^{cd}	4.52 ^{ab}
2 % Fe * 2 % Mg	186.3 ^d	0.8 ^a	186.3 ^d	4.72 ^a

ns: non-significant; The letters (a-d) show a significant difference between groups

Source: Elaborated by the authors (2021).

Table 8 – Interaction between area * time cultivar * spraying solution application on nitrogen, nitrates and pH contents of Sante potato tubers (Kerman, Iran; 2019).

Source of Changes	Average of squares				
	Df	Protein	Nitrogen	Nitrates	pH
Area	1	1.06 [*]	0.02 [*]	1557.3 ^{ns}	8.16 ^{**}
Original error	4	2.28	0.05	12631.7	5.66
Time cultivar	1	0.1 ^{ns}	0.001 ^{ns}	2640.4 [*]	0.16 ^{ns}
Area * Time cultivar	1	0.06 ^{ns}	0.001 ^{ns}	3.68 ^{ns}	0.02 ^{ns}
Minor error	4	0.09	0.002	2734.5	0.01
Spraying solution	8	4.35 ^{**}	0.11 ^{**}	3370.1 ^{**}	1.95 ^{**}
Area * Spraying solution	8	0.13 ^{ns}	0.003 ^{ns}	992.9 ^{ns}	0.09 ^{ns}
Time cultivar * Spraying solution	8	0.16 ^{ns}	0.004 ^{ns}	379.22 ^{ns}	0.11 ^{ns}
Area * Time cultivar * Spraying solution	8	0.19 ^{ns}	0.005 ^{ns}	457.9 ^{ns}	0.09 ^{ns}
Minor error	64	0.17	0.004	829.7	0.08
CV%	-	9.62	9.68	13.9	7.26

ns: non-significant; The letters (a-d) show a significant difference between groups.

Source: Elaborated by the authors (2021).

As reported, due to the metabolic processes role of Mg and Fe elements in the synthesis of proteins and activators of important enzymes (MENGEL; KIRKBY, 2001), thus utilization of nanofertilizers containing these elements could increase potato productivity and quality. Our findings are well coordinated by the current literature on nanofertilizers productivity, indicating that these nanofertilizers (Mg and Fe) can cause an improvement of the nutritional values of the Sante cultivar. In this study, the management of nanofertilizers is a critical component of potato tubers production systems as potato has a relatively high Mg and Fe requirement and inefficiently uses soil these elements in the cold desert climate of Iran. It is the main component of chlorophyll and activates metabolic reactions of plants (GERENDAS; FUHRS, 2013). Also, the application of nanofertilizers resulted in higher concentrations of bioelements including N, K, Ca, Na, P, and Fe ions in the harvested potato tubers improving their nutritional values. In this study, the bioelements contents of the potato tubers were appropriate. This improvement was obtained because of the positive effect of nanofertilizers on bioelements compounds and the protein nitrogen and nitrates portions of potato tubers. In agreement with the present result, some authors observed application of micronutrients mixture (like K, Fe, Mg, Cu, Zn) during flowering improved the nutritional values of potato tubers (ZENGIN *et al.*, 2008; AL-JOBORI; AL-HADITHY 2014). The nutritional quality of potato tubers is cultivar-specific and depends on climate-soil conditions and agro-technical practices, as well as the conditions during long-term storage (WSZELACZYNSKA *et al.*, 2020). Kohnaward, Jalilian, and Pirzad (2012) showed that micronutrients increase photosynthesis rate and improve leaf area duration. Also, adequate micronutrients are essential for optimizing tuber yield, solids content, nutritional quality, and resistance to some diseases (ROSEN *et al.* 2014).

Zenggin *et al.* (2008) reported that every two years in all locations effects of fertilizers used on tuber yields, tuber size distribution, dry matter content of tuber and K, Mg, and S contents of leaves were significantly changed depending on the locations. Similarly, based on our results the chemical composition of potato tubers, affecting their quality can be improved by the location (Islamabad and Zeh-e Kalut) both during flowering and tuber filling stages (TABLES 3 and 4).

Results of this research revealed that the highest protein and nitrogen portions of the potato tubers were related to spraying solution of nanofertilizers in Zeh-e Kalut area (October 25, 2019). The rate of crop growth is modified by nitrogen application, and its use may depend to a large extent on the supply of Mg and sulfur to plants (POBEREZNY; WSZELACZYNSKA, 2011). This is slightly different from the results reported by Rogozinska *et al.* (2005), who discovered that, besides nitrogen fertilization, applications of larger quantities of Mg also led to lowered total nitrogen contents in potato tubers. Also, Ciecko, Zolnowski, and Mierzejwska (2010) reported that Mg nutrition, either as foliar or soil treatments, did not have any significant influence on the content of total and protein nitrogen in potato tubers. As reported in the Fertilizer Handbook (EAKIN, 1972), more elements supplied by fertilizers may result in different fertilizer applications on the tuber yield and quality. This diversity may be due to the differences in production systems, potato cultivars, locations, and kinds of mineral fertilization (MENGEL; KIRKBY, 2001).

The results suggested to over-accumulation of nitrates substances in Sante potato tubers is depended on the area conditions and agro-technical practices like spraying solution of nanoparticles including Mg and Fe. Application of nanofertilizers sprayed over leaves tended to lower the concentration of nitrates in potato tubers. Also, the experiment found that the content of nitrates in potato tubers ranged from 237 (control) to 186 mg kg⁻¹ (2.0 % Fe + 2.0 % Mg). Similar results were stated by Ierna (2009) and Rytel (2012), who found that the content of nitrates is especially affected by fertilization of the mineral and cultivar. On contrary, when nanofertilizers were introduced to soil, they raised the content of nitrates in potato tubers (CIECKO; ZOLNOWSKI; MIERZEJWSKA, 2010).

Conclusions

Our analysis corroborated that application nanofertilizers by spraying during flowering and tuber filling stages enhances potato productivity, decreases nitrate contents and quality by improving bioelements or resulting in favorable physiological outcomes, and is recommended to farmers.

Acknowledgments

The authors would like to acknowledge Prof. Dr. Ali Olfati (A.Olfati65@Gmail.Com), for all efforts to improve the English written language of the paper.

Efeitos de Nanofertilizantes (Mg e Fe) e Dados de Plantio na Produtividade e Qualidade de Tubérculos de Batata em Clima de Deserto Frio

Resumo

A interação entre o suprimento de nanofertilizantes e os dados de plantio podem gerar resultados sinérgicos que podem influenciar a eficiência do uso de nutrientes. Para fornecer uma visão sobre este fenômeno, um gráfico de divisão duplo baseado em Delineamento de Blocos Completos Casualizados (RCBD), com 3 repetições, foi estabelecido para avaliar os efeitos da solução de pulverização de nanopartículas de magnésio (Mg) e ferro (Fe); 0,0 %, 1,0 % e 2,0 % nas fases de floração e enchimento de tubérculos e dados de plantio (5 de outubro de 2019 e 25 de outubro de 2019) em bioelementos, nitrogênio proteico e conteúdo de nitratos de tubérculos de batata Sante em um clima desértico frio (Kerman , Irã). Considerando o grupo controle, o uso de diferentes dosagens de nanofertilizantes resultou em aumento significativo nos teores de bioelementos e pH. Além dos efeitos de área e época de plantio, seus dois e três efeitos sobre os teores de clorofila nos tubérculos foram relatados como significativos. A maior porção de proteína e nitrogênio dos tubérculos de batata foi relacionada à pulverização de solução de nanofertilizantes de Mg (1,0 %) + Fe (2,0 %). O aumento da suplementação de nanofertilizantes reduziu o teor de nitrato dos tubérculos de batata. Os resultados indicaram que a aplicação de nanofertilizantes aumentou significativamente a porção carotenóide dos tubérculos de batata. Os efeitos de interação de nanofertilizantes e dados de plantio sobre o índice de clorofila e os níveis de cálcio dos tubérculos de batata foram completamente significativos. Nossa análise corroborou que a aplicação de nanofertilizantes por pulverização durante os estágios de floração e enchimento de tubérculos aumenta a produtividade e a qualidade da batata, melhorando os bioelementos ou resultando em resultados fisiológicos favoráveis, sendo recomendada para agricultores.

Palavras-chave: Bioelementos. Tubérculos de batata Sante. Nanofertilizantes. Nitrato. Dados de plantio. Iran.

References

AL-JOBORI, K. M. M.; AL-HADITHY, S. A. Response of Potato (*Solanum Tuberosum*) to Foliar Application of Iron, Manganese, Copper and Zinc. **Int. J. Agri. Crop. Sci.**, v. 7, n. 7, p. 358-363, 2014.

BIRCH, P. R. J.; BRYAN, G.; FENTON, B.; GILROY, E. M.; HEIN, I.; JONES, J. T.; PRASHAR, A.; TAYLOR, M. A.; TORRANCE, L.; TOTH, I. K. Crops that feed the world 8: potato: are the trends of increased global production sustainable? **Food Security**, v. 4, p. 477–508, 2012.

CIECKO, Z.; ZOLNOWSKI, A. C.; MIERZEJWSKA, A. Effect of Foliar Nitrogen and Magnesium Fertilization on the Total, Protein Nitrogen and Nitrates (V) Content in Potato Tubers. **Ecol. Chem. Eng. A.** v. 17, n. 6, p. 593-600, 2010.

EAKIN, J. F. Food and Fertilizers. In: **The Fertilizer Handbook**, The Fertilizer Inst., Washington DC, USA, 1-21, 1972.

EMAMI, S.; OLFATI, A. Effects of dietary supplementing of *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* microalgae on hematologic parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. Iranian **J. Pediatr. Hematol. Oncol.**, v. 7, n. 3, p. 163-170, 2017.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. OECD-FAO Agricultural Outlook 2015-2030; OECD/Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy, 2015.

GERENDÁS, J.; FÜHRS, H. The significance of magnesium for crop quality. **Plant. Soil.**, v. 368, p. 101-128, 2013.

HMELAK, G.A.; URIH, G.; LANGERHOLC, T.; KRISTIL, J. Nitrate content in potatoes cultivated in contaminated groundwater areas. **J. Food. Res.**, v. 3, p. 18-27, 2014.

IERNA, A. Influence of harvest date on nitrate contents of three potato varieties for o-season production. **J. Food. Compos. Anal.**, v. 22, p. 551-555, 2009.

JEROEN, H. F.; DE BAAIJ, A.; JOOST, G. J.; HOENDEROP, C.; RENÉ, J. M.; BINDELS, K. Magnesium in man: implications for health and disease. **Physiol. Rev.**, v. 95, p. 1-46, 2015.

JONES, J. **Laboratory Guide for Conducting Soil Tests and Plant Analysis**. CRC Press, LLC. USA, 2001.

KOHNAWARD, P.; JALILIAN, J.; PIRZAD, A. Effect of foliar application of Micro-nutrients on yield and yield components of safflower under conventional and ecological cropping systems. **Int. Res. J. Appl. Basic. Sci.**, v. 3, n. 7, p. 1460-1469, 2012.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of Plant Nutrition**. Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, Boston, London, 2001.

NÈJIA, F.; AMINE, E.; WALID, Z.; ABDERRAZAK, S.; CHEDLY, A.; MOKDED, R. Effects of magnesium deficiency on photosynthesis and carbohydrate partitioning. **Acta. Physiol. Plant.**, v. 38, p. 145, 2016.

OSTROWSKA, A.; GAWLIŃSKI, S.; SZCZUBIAKA, Z. **Methods of analysis and assessment of soil and plant properties**, IOOE, Warszawa, 334, 1991 [In Polish].

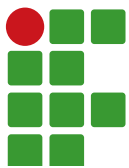
POBEREZNY, J.; WSZELACZYŃSKA E. Effect of bioelements (N, K, Mg) and long-term storage of potato tubers on quantitative and qualitative losses. Part II. Content of dry matter and starch. **J. Elementol.**, v. 16, p. 237-246, 2011.

POBEREZNY, J.; WSZELACZYŃSKA, E.; WICHROWSKA, D.; JASKULSKI, D. Content of nitrates in potato tubers depending on the organic matter, soil fertilizer, cultivation simplifications applied and storage. Chilean. **J. Agri. Res.**, v. 75, n. 1, p. 42-49, 2014.

- ROGOZINSKA, I.; PAWELZIK, E.; POBEREZNY, J.; DELGADO, E. The effect of different factors on the content of nitrate in some potato varieties. **Potato. Res.**, v. 48, p. 167–180, 2005.
- ROSEN, C. J.; KELLING, K. A.; STARK, J. C.; PORTER, G. A. Optimizing Phosphorus Fertilizer Management in Potato Production. **Am. J. Potato. Res.**, v. 2, p. 66-73, 2014.
- RYTEL, E. Changes in the levels of glycoalkaloids and nitrates after the dehydration of cooked potatoes. **Am. J. Potato. Res.**, v. 89, p. 501–507, 2012.
- RYAN, J. R.; STEFAN, G.; RASHID, A. **Soil and Plant Analysis Laboratory Manual** (2nd ed). ICARDA. Aleppo, Syria, 172, 2001.
- SHANG, Y.; HASAN, M. K.; AHAMMED, G. J.; LI, M.; YIN, H.; ZHOU, J. Applications of Nanotechnology in Plant Growth and Crop Protection: A Review. **Molecules.**, v. 24, p. 2558, 2019.
- SPSS Inc. **SPSS Statistics for Windows**, version 17.0. Chicago: SPSS Inc. 2008.
- TABARRAEI, H.; HASSANB, J.; PARVIZA, M. R.; GOLSHAHIC, H.; KESHAVARZ-TARIKHI, H. Evaluation of the acute and sub-acute toxicity of the black caraway seed essential oil in Wistar rats. **Toxicol. Reports.**, v. 6, p. 869-874, 2019.
- WANG, Z.; HASSAN, M. U. I.; NADEEM, F.; WU, L.; ZHANG, F.; LI, X. Magnesium Fertilization Improves Crop Yield in Most Production Systems: A Meta-Analysis. **Syst. Rev.**, v. 10, p. 1027. 2020.
- WESTERMAN, L. Z. **Soil Testing and Plant Analysis**. Soil Sci. Soc. Am. Book Ser. 5. Madison, WI, USA, 1990.
- WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in 638 human diets-iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. **New. Phytol.**, v. 182, p. 49-84, 2009.
- WRONIAK, J. Nutrition qualities of edible potato. **Ziemi Pol.** v. 6, p. 17–20. 2006. (In Polish).
- WSZELACZYŃSKA, E.; POBEREŻNY, J.; KOZERA, W.; KNAPOWSKI, T.; PAWELZIK, E.; SPYCHAJ-FABISIAK, E. Effect of Magnesium Supply and Storage Time on Anti-Nutritive Compounds in Potato Tubers. **Agronomy**, v. 10, p. 339, 2020.
- ZENGIN, M.; GOKMEN, F.; GEZGIN, S.; ÇAKMAK, I. Effects of different fertilizers with potassium and magnesium on the yield and quality of potato. **Asian. J. Chem.**, v. 20, n. 1, p. 663-676, 2008.

Received: October 4, 2020

Accepted: January 29, 2021



Effect of different doses of acid milk serum on growth in rice culture and on soil chemical attributes

Bruno Manoel Rezende de Melo¹

Douglas Goulart Castro²

Tácio Peres da Silva³

Antonio Rosário Neto⁴

Marco Renan Félix⁵

Flávia Barbosa Silva Botelho⁶

Abstract

The culture of rice has great potential to constitute the production systems of annual perennial crops, mainly in small properties. This allows this system to integrate with other activities such as the dairy industry, taking advantage of the milk by-product, reducing the environmental liability for disposal in the environment. Therefore, the objective was to evaluate the growth and productivity of rice grains under different doses of acid milk serum ($0 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, $5 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, $10 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, $20 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, $50 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, $100 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, and $150 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$), in soil applications with monitoring of fertility and electrical conductivity levels. The rice was sown in the UFLA experimental field, using the BRSMG Esmeralda lineage. Seven different doses were used, divided into two applications via soil. No cover fertilization was carried out. Yield and crop growth variables were determined by monitoring the nutrient content in the soil profile and the sodification and salinization capacity of the residue. It was found that the increase in serum doses increased the electrical conductivity and the percentage of exchangeable sodium by 1.75 and 7.75 compared to the control, but did not cause the process of sodification and salinization of the soil. As acid milk serum is a significant source of potassium, its use in the soil did not promote significant grain yield. It was concluded that the acid milk serum in the doses used did not cause sodification or salinization of the soil. This residue is the safe dose that can be used as potassium and nitrogen. The acid milk serum in the tested conditions did not increase the growth of the culture.

Keywords: Fertility. *Oryza sativa*. Organic waste. Salinization. Sodium.

Introduction

The culture of rice shows a great importance in the supply of food consumed by a good part of the world population, besides, it has the potential to constitute the systems of agricultural production, both annual crops and perennial crops in intercropping, mainly in small properties, also integrating other activities such as dairy farming and the dairy industry.

1 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais. Doutor em Fitotecnia/Técnico administrativo. bruno.melo@ifsuldeminas.edu.br

2 Universidade Federal de Uberlândia, Pós-doutorando. douglasgoulartcastro@gmail.com

3 Universidade Federal de Lavras, Doutor em Fitotecnia. tacioagro@gmail.com

4 Universidade Federal de Lavras, Doutorando em Fitotecnia, rosario.agronomia@gmail.com

5 Universidade Federal de Viçosa, Doutorando em Genética e Melhoramento de Plantas, mrenan05@hotmail.com

6 Universidade Federal de Lavras, Professora Adjunta do Departamento de Agricultura. flaviabotelho@dag.ufla.br

To take advantage of the integration of these activities, the use of acid milk serum can be used to stimulate the growth and productivity of the rice culture, thus reducing its disposal and consequently contamination of the environment.

The acid milk serum is a residue from the dairy industry, which depending on the production process can give rise to two by-products: acid milk serum, which comes from the processing of caseins that are coagulated in an acidic medium while sweet is coagulated in an enzymatic medium (ALVES *et al.*, 2014).

In Brazil, in 2017, the production of acid milk serum was estimated at 2.7 million tons (BRASIL, 2017). Due to a large amount of this residue, industries have used acid milk serum in several production processes, such as the production of new food products and medicines (ZAVAREZE; MORAES; SALAS-MELLADO, 2010).

However, this process is hampered by the fact that acid milk serum is a perishable product, limiting its storage for a prolonged period, associated with the fact that, for the construction of these facilities, high investments are necessary, becoming a practice of low viability for small entrepreneurs. Thus, most of the serum is still discarded (SILVA *et al.*, 2018; SIQUEIRA; MACHADO; STAMFORD, 2013).

This residue, depending on the chemical composition with a high concentration of organic matter and nutrients, can be applied as an agricultural fertilizer, which allows farmers to reduce their dependence on external inputs while minimizing production costs (ALENCAR *et al.*, 2012). On the other hand, when applied in higher doses and depending on the sodium content, this residue can be a contaminant of water and soil, which causes a great environmental liability.

To increase the safety of the use of this residue in the soil, monitoring must take place depending on the electrical conductivity and sodium adsorption, since this biofertilizer can cause sodification of the medium and clay dispersion causing the soil to become denser (FRENKEL; GOERTZEN; RHOADES, 1978).

Some authors are already studying the technical feasibility of using acid milk serum in agriculture, given the ability to supply nutrients. Mantovani *et al.* (2015) concluded that the supply of acid milk serum increases the levels of available P and K, increasing the dry matter production of corn plants. It is worth mentioning that doses up to 200 m³ ha⁻¹ should be used in association with mineral fertilization.

Bearing in mind that techniques for improvement and greater productivity reach can be acquired with the application of acid milk serum in agriculture, given the above, the objective was to evaluate the growth and productivity of rice under different doses of acid milk serum, in applications in the soil, monitoring fertility levels, the electrical conductivity of the soil and classifying the serum as to the potential for sodicity and salinity.

Material and methods

The experiment was carried out in the agricultural year 2017/2018, with different doses of acid milk serum, being carried out at the experimental farm of the Center for Scientific, Technological Development in Agriculture at UFLA - Muquém Farm, located at 910 m altitude at 21°15' S latitude, and 45°00' W longitude coordinates, in Red-Yellow Latosol. Soil sampling from the experimental area was carried out to determine the chemical and physical parameters of the soil, and the samples were sent to the UFLA soil analysis laboratory, with analysis carried out according to the method described by Embrapa (1997).

Sowing was carried out in a no-tillage system. The cultivar used was BRS Esmeralda, with a density of 80 linear meter seeds with a distance of 0.35 m between rows.

Planting fertilization was carried out, according to the recommendations of Sousa, Lobato, and Rein (2004) and Villar (2007), for expected productivity of 4 t ha⁻¹, applying 200 kg ha⁻¹ from 04-14-08 on planting, not performing the cover fertilization. Sowing and harvesting took place respectively in November 2017 and April 2018.

The experiment was conducted in a randomized block design (RBD), with plots consisting of three lines three meters long and 0.35 meters between rows, in which the central line was the useful plot. The trial consisted of seven doses of acid milk serum (0 m³ ha⁻¹, 5 m³ ha⁻¹, 10 m³ ha⁻¹, 20 m³ ha⁻¹, 50 m³ ha⁻¹, 100 m³ ha⁻¹, and 150 m³ ha⁻¹) with 4 repetitions with half of these doses applied 20 days and 40 days after emergence, using watering cans. The acid milk serum was provided by the company Verde Campo in the city of Lavras and collected the day before each application. A sample of acid milk serum was sent to the IBRA laboratory to determine the levels of macro and micronutrients, pH, electrical conductivity, and density.

After each application, sprinkler irrigation was performed to prevent the action of the results from reflecting the water present in the residue. For the management of weeds, the herbicides were used: Pendimethalin in pre-emergence and Metsulfuron-methyl in post-emergence, followed by two manual weedings.

In each treatment of acid milk serum, on the day after the crop was harvested, four sub-samples of soil with an auger for the depth of 0 cm to 20 cm were collected, one in each plot, to evaluate the contents of K, Na, sum of bases (SB), cation exchange capacity (T), pH, electrical conductivity (EC), exchangeable sodium percentage (PST) and sodium adsorption ratio (SAR), according to methodologies described by Embrapa (1997): with the concentrations sodium, calcium, and magnesium expressed in cmol_c dm⁻³.

The salinity and sodicity of acid milk serum were classified based on the values of electrical conductivity and SAR, respectively (RICHARDS, 1954).

The chemical parameters of the soil were analyzed by Pearson's linear correlation matrix, aiming to perform simple linear correlations ($p < 0.05$ and $p < 0.01$), through the genes program (CRUZ, 2013) for K⁺ contents, Na⁺, SB, pH, T, EC, SAR, and PST.

The phytotechnical characters evaluated in the useful area were:

- Leaf area of eight plants, measuring the length and largest width of the flag leaf, after complete expansion, multiplied by the correction index of 0.74 calculating the final leaf area in m² $AF = C * L * 0.74$ (TIVET *et al.*, 2001);
- Height of five plants per plot (distance from the soil surface to the apex of the flag leaf) in centimeters;
- Total chlorophyll index: performed at the flowering stage on the flag leaf, in two readings per leaf, using the electronic chlorofiLOG meter, model CFL 1030;
- Severity of diseases: evaluating blast, neck blast, grain stain, scald, brown spot, with the analysis at the flowering stage and one week before harvest, using the International Rice Research Institute scale (IRRI, 1996), in which: note 0 without impact; grade 1 less than 5 % of infected leaves; grade 3 from 5 % to 10 % of infected leaves; grade 5 between 11 % and 25 % of infected leaves; grade 7 between 26 % and 50 % of infected leaves and grade 9 greater than 50 % of infected leaves;
- Grain productivity: data in grams per plot, adjusted for kg ha⁻¹;

- Weight of 1,000 grains: the weight of 100 grains, repeated eight times, with the average obtained multiplied by 10;
- Income: percentage of processed rice (clean), resulting from the processing of paddy rice;
- Yield: percentage of whole grains resulting from the benefit of rice grains;
- Dry weight of the aerial part of all plants in the radius of 0.5 meters / linear.

After data collection, analysis of variance was performed and in the presence of a significant result ($p < 0.05$), the polynomial model was used for the effect of doses of the input. The criterion for choosing the model was the significance by the F test at 5 % probability that it had the highest value of the significant coefficient of determination (r^2). Statistical analysis was performed using the Sisvar software (FERREIRA, 2011). The normality of the data was verified according to the Lilliefors test (CAMPOS, 1983), through the Genes program (CRUZ, 2013). The data that did not present a normal distribution were transformed by the equation $(x + 1)^{0.5}$.

Results and discussion

Nitrogen and potassium are the nutrients in greater quantity in acid milk serum (TABLE 1), so the application recommendation can be made depending on these nutrients. Attention should be paid to the application of this residue mainly to soils with lower cation exchange capacity since there is a risk of leaching potassium (RAIJ, 2011) and nitrogen in the form of nitrate since these are supplied in liquid form.

Table 2 shows the results of the chemical and physical analysis of the soil before the installation of the experiment. It appears that the levels of potassium and phosphorus are above the critical level. However, there is a divergence between the results of the analysis before the experiment and after the experiment. The analysis of Table 2 was carried out in the total area, and in the second analysis (TABLE 3), it was carried out promptly of the plots, and these differences are not only the results of nutrient exports and possible leaching that may have occurred but probably due to the spatial and temporal variability of chemical and physical attributes in the soil.

Table 1 – Chemical and density parameters of acid milk serum, 2020.

N (g)	P (g)	K (g)	Ca (g)	Mg (g)	S (g)	B(mg)	Cu (mg)
3,7	0,8	1,5	0,3	0,1	0,3	0	0
Fe (mg)	Mn (mg)	Na (mg)	Zn (mg)	Mo (mg)	CE dS m-1	pH	ρ*g mL-1
269,00	0	730,15	3,44	260,66	0,16	3,5	1,04

*Especific mass

Source: Elaborated by Bruno Manoel Rezende de Melo (2020).

Table 2 – Chemical and physical analysis of the soil, from Experimental Farm, 2020.

pH	K	P	Na	Ca	Mg	Al	H + Al
	-----mg dm ⁻³ -----			-----cmol _c dm ⁻³ -----		cmol _c dm ⁻³	
5,8	155,62	42,62	-	3,01	0,84	0,11	3,82
SB	t	T	V	m	MO	P-rem	Zn
-----cmol _c dm ⁻³ -----		-----%-----		dag kg ⁻¹		mg L ⁻¹	
4,25	4,36	8,07	52,65	2,52	2,37	28,26	4,88
Fe	Mn	Cu	B	S	Argila	Silte	Areia
-----mg dm ⁻³ -----				-----dag kg ⁻¹ -----			
53,52	14,40	0,25	0,03	7,19	58	5	39

Source: Elaborated by Bruno Manoel Rezende de Melo (2020).

The T and pH values in the soil, after the application of the highest dose of acid milk serum, were lower than the 0 dose of the residue (TABLE 3). Probably, this reduction does not occur linearly in the applied doses, given that these levels before application are not homogeneous in soils, and may present great spatial variability. In pH tests, the increase in soil acidity was already expected, considering that the residue itself is a proton donor (TABLE 3).

Table 3 – Soil contents of potassium, sodium, sum of bases (SB), cation exchange capacity (T), pH, electrical conductivity (EC), percentage of sodium in CTC (PST), and sodium adsorption ratio (SAR), as of acid milk serum doses, Lavras, MG, 2020.

Doses	K	Na	SB	T	pH	EC	PST	SAR
0	75,68	0,007	5,23	8,03	6,3	0,04	0,08	0,004
5	78,64	0,021	5,25	7,76	6,5	0,04	0,27	0,013
10	79,96	0,021	4,28	8,15	5,9	0,04	0,25	0,015
20	91,15	0,021	4,85	7,95	6,1	0,05	0,26	0,014
50	80,06	0,021	4,12	7,94	5,7	0,05	0,26	0,015
100	104,07	0,053	4,40	7,64	6,0	0,06	0,70	0,037

Source: Elaborated by Bruno Manoel Rezende de Melo (2020).

The application of different doses of acid milk serum promoted a significant increase in K, providing a positive linear correlation with EC, PST, and SAR (TABLES 3 and 4). These results provide important technical support since they allow to suggest the application of these residues as a source of the mentioned nutrients. However, this recommendation should be made with caution, considering that this practice can cause an increase in electrical conductivity and sodium levels in the soil.

For the relationship between Na, SB, and T (TABLE 4), even if the correlations were not significant, what is observed is that with the increase in sodium levels there is a reduction in the sum of bases and T (TABLE 3), probably due to the mass-action law displacing the bases of the T, this being a problem of greater magnitude mainly for low soils T. Melo *et al.* (2006) carrying out work with manipueira application simulation warned about the dangers contamination of groundwater by potassium, calcium, sodium, and magnesium by applying this residue to medium to sandy and low T soils.

(Continuation)

Table 4 – Correlation matrix for soil chemical parameters of potassium, sodium, sum of bases (SB), cation exchange capacity (T), pH, electrical conductivity (EC), percentage of sodium in CTC (PST) and sodium adsorption ratio (SAR), and acid milk serum doses, 2020.

	K	Na	SB	T	pH	EC	PST	SAR
Doses	0,92**	0,89**	-0,30	-0,46	-0,17	0,97**	0,88*	0,91
K	-	0,84*	-0,23	-0,43	-0,08	0,94**	0,82**	0,83**
Na	-	-	-0,42	-0,69	-0,20	0,87*	0,99**	0,99**
SB	-	-	-	-0,09	0,94**	-,039	-0,40	-0,47
T	-	-	-	-	-0,26	-0,52	-0,72	-0,66
pH	-	-	-	-	-	-0,28	-0,18	-0,26
CE	-	-	-	-	-	-	0,86*	0,87*
PST	-	-	-	-	-	-	-	0,99**

* significant at 1.0 % and ** 5.0 % respectively.

Source: Elaborated by Bruno Manoel Rezende de Melo (2020).

Even though the methodology used in the present work employs the use of serum in only two applications, the increase in these doses promoted an increase in the levels of EC, PST, and SAR, presenting a positive and significant correlation (TABLE 4); however, it is not enough to cause salinization or soil sodification in any of the doses.

For these problems to occur, the electrical conductivity value must be greater than 4 dS m⁻¹ and PST must be greater than 15 % in the soil (EMBRAPA, 2013), therefore, this content must be monitored to prevent sodification processes and salinization occur.

Considering that these doses used did not provoke a process of salinization or sodification, it is noteworthy that the highest dose of serum raised the levels of K, Na, EC, PST, and SAR respectively by 1.78; 7.0; 1.75; 7.75, and 8.5 times when compared to the control (TABLE 3).

As for the electrical conductivity of the effluent, it found 0.16 dS m⁻¹ and SAR of 2.94 cmol_c dm⁻³, classifying this as C1S4, corresponding to the risk of low salinity, causing no problems for the soil and crops, it can be used in most crops, however, for SAR it finds a very high content which makes its use for irrigation impossible (RICHARDS, 1954). This information imposes restrictive implications on the use of serum, as noted in Tables 3 and 4, as sodium increases, electrical conductivity, SAR, and PST increase, limiting its use in higher doses in fertigation.

Homem *et al.* (2012) observed that the use of effluents from animal farms is not limited in use, however, the entire process must be monitored, as over time there may be an accumulation of compounds in the soil solution, promoting dispersion of the soil. Matos, Almeida Neto and Matos (2014) studying the physical, chemical, and mineralogical characteristics of three soils (Red -Yellow Latosol, Red Latosol, and a Red Argisol), concluded that they can receive waters with SAR and EC in an expressive way without suffering sodification, as long as the EC is not low.

For phytotechnical traits, there was no significant difference between the procedures (TABLE 5). The lack of significance for the increase and the maximum variation may be associated with other factors such as nutritional imbalances since the serum in the highest dose increased the potentiometer and sum of bases in the soil (Table 3), included in the system; the soil at the highest dose of 555 kg ha⁻¹, 225 kg ha⁻¹, 45 kg ha⁻¹, 15 kg ha⁻¹, 45 kg ha⁻¹, respectively, of N, K, Ca, Mg and S.

As the potentiometer content in the soil was above the critical level in the installation of the experiment (TABLE 2), as the applications of these doses are rarely affected in the growth and

reproduction of the culture, because in this condition the increments are decreasing, in addition to the possible imbalance with calcium and magnesium. This can be registered with gain that went from 2881 kg ha⁻¹ in the lowest dose to 3669 kg ha⁻¹ in the highest dose, with a gain of only 788 kg, that is, an application of 225 times the amount of potassium in the largest dose concerning the lowest dose results in a gain of only 1.27 times.

Table 5 – Summary of Analysis of Variance for acid milk serum doses in the 2017/2018 agricultural year, involving leaf area, the weight of 1,000 grains height, chlorophyll index, height, dry weight, income, grain yield, and productivity, Lavras, MG, 2020.

SV	DF ¹	LA ²	W ³	Chlo ⁴	H ⁵	DW ⁶	I ⁷	Y ⁸	Prod ⁹
p < 0,05									
Doses	6	0,15	0,09	0,82	0,22	0,11	0,62	0,99	0,19
Blocks	3	0,47	0,00	0,00	0,46	0,61	0,49	0,92	0,91
CV(%)	-	9,2	4,75	8,97	5,09	30,37	4,87	9,31	29,25

¹ Degree of freedom, ² Leaf area, ³ Weight of 1,000 grains, ⁴ Chlorophyll, ⁵ Height, ⁶ Dry weight, ⁷ Income, ⁸ Yield, ⁹ Productivity.

Source: Elaborated by Bruno Manoel Rezende de Melo (2020).

Therefore, acid milk serum, in all doses evaluated, can be used as a safe source to increase the levels of nutrients without negatively interfering with the chemical and physical components of the soil, as long as the doses to be applied are in line with the levels of the soil and need for culture.

This lack of significant response on productivity and the other variables may have occurred due to the phenological stage used to apply the serum, with similar results being verified in other works with the application of fertilizers. Dias, Silva and Maia (2010) observed in their research that the treatments showed different behaviors, although with significant results only for the nitrogen effect with 105 kg ha⁻¹ applied in isolation, at the beginning of tillering and in floral differentiation, and interactions with doses of NP, NK, PK, and NPK did not influence productivity.

Mantovani *et al.* (2015) found that serum doses of 200 m³ ha⁻¹ were not sufficient to increase the nutritional requirement of corn, which corroborates part of our results, since the highest dose of serum applied in this study was less than that cited by these authors. The authors also point out that this dose of the residue caused limitations in the growth of the crop, not meeting the nutritional needs of corn.

More expressive results with serum were verified by Morrill *et al.* (2012), who developed works with the culture of millet and sorghum without application of fertilizers, using sweet acid milk serum in installment applications. The authors concluded that the largest accumulation of dry matter was with 370 m³ ha⁻¹ of the residue, and from these doses, there was phytotoxicity of the cultures. The application occurred before sowing and 20 days after emergence. These authors point out that the methodology used is more adequate to stabilize organic matter, differing from the methodology proposed in this work.

Conclusions

The acid milk serum whey, in the doses used, did not promote sodification or salinization of the soil.

This residue in the tested doses can be used as a source of K and N, with limitations in higher doses due to the risk of soil sodification.

The acid milk serum, in the conditions of the study, did not increase the growth and productivity of the culture.

Acknowledgments

The authors express their thanks to the Federal Institute of Education, Science and Technology of the South of Minas Gerais (IFSULDEMINAS), for the support granted during the conduct of the work, to the Research Support Foundation of the state of Minas Gerais (FAPEMIG), to National Council of Scientific and Technological Development (CNPq), to Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), for the granting of scientific initiation, masters and doctoral scholarships.

Doses de soro ácido de leite no crescimento na cultura do arroz e seus efeitos nos parâmetros químicos do solo

A cultura do arroz tem grande potencial para constituir os sistemas de produção de lavouras perenes anuais, principalmente em pequenas propriedades. Isso permite que esse sistema se integre a outras atividades como a indústria de laticínios, aproveitando o subproduto do leite, reduzindo o passivo ambiental de descarte no meio ambiente. Portanto, objetivou-se avaliar o crescimento e a produtividade de grãos de arroz sob diferentes doses de soro de leite (0, 5, 10, 20, 50, 100 e 150 m³ ha⁻¹), em aplicações no solo com monitoramento de níveis de fertilidade e condutividade elétrica. O arroz foi semeado no campo experimental da UFLA, utilizando a linhagem BRSMG Esmeralda. Foram utilizadas sete diferentes doses, divididas em duas aplicações via solo. Não foi realizada fertilização de cobertura. As variáveis de rendimento e crescimento da cultura foram determinadas pelo monitoramento do teor de nutrientes no perfil do solo e da capacidade de sodificação e salinização do resíduo. Verificou-se que o aumento das doses de soro aumentou a condutividade elétrica e a porcentagem de sódio trocável em 1,75 e 7,75 em relação à testemunha, mas não ocasionou o processo de sodificação e salinização do solo. Como o soro de leite é uma fonte significativa de potássio, seu uso no solo promoveu aumentos decrescentes na produtividade. Concluiu-se que o soro de leite nas doses utilizadas não causou sodificação ou salinização do solo. Este resíduo na dose segura pode ser utilizado como K e N. O soro de leite nas condições testadas não aumentou o crescimento da cultura.

Palavras-chave: Fertilidade. *Oryza sativa*. Resíduos orgânicos. Salinização. Sódio.

References

ALENCAR, T. A. S.; TAVARES, A. T.; CHAVES, P. P. N.; FERREIRA, T. A.; NASCIMENTO, I. R. Efeito de intervalos de aplicação de urina bovina na produção de alface em cultivo protegido. **Revista Verde**, Mossoró, v. 7, n. 3, p. 53-67, 2012.

ALVES, M. P.; MOREIRA, R. O. M.; RODRIGUES JÚNIOR, R. H.; MARTINS, M. C. F.; PERRONE, I. T.; CARVALHO, A. F. Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 69, p. 212, 2014

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Relatórios de produtos por UF**. Brasília, DF, 2017.

CAMPOS, H. **Estatística experimental não paramétrica**. Piracicaba: Ed. ESALQ, 349 p, 1983.

CRUZ, C. D. GENES: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

DIAS, A. F. S.; SILVA, F. N.; MAIA, S. S. S. Resposta do arroz de sequeiro à adubação com NPK em solos do município de Ji-Paraná/Rondônia. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 5, p. 120-124, 2010.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília, 353 p., 2013.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de Métodos de Análise do Solo**. 2. ed. Rio de Janeiro, 1997. 247 p.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FRENKEL, H.; GOERTZEN, J. O.; RHOADES, J. D. Effects of clay type and content, exchangeable sodium percentage, and electrolyte concentration on clay dispersion and soil hydraulic conductivity. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v. 42, n. 1, p. 32-39, 1978.

HOMEM, B. G. C.; ALMEIDA NETO, O. B. de.; SANTIAGO, A. M. F.; SOUZA, G. H. Dispersão da argila provocada pela fertirrigação com águas residuárias de criatórios de animais. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 2, p. 89-98, 2012.

IRRI - International Rice Research Institute. **Standard evaluation system for rice**. Manila, 52 p., 1996.

MANTOVANI, J. R.; CARRERA, C.; LANDGRAF, P. R. C.; MIRANDA, J. M. Soro ácido de leite como fonte de nutrientes para o milho. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 19, n. 4, p. 324-329, 2015.

MATOS, A. T.; ALMEIDA NETO, O. B.; MATOS, M. P. Saturação do complexo de troca de solos oxidicos com sódio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 5, p. 501-506, 2014.

MELO, R. F.; FERREIRA, P. A.; MATOS, A. T.; RUIZ, H. A.; OLIVEIRA, L. B. Deslocamento miscível de cátions básicos provenientes da água residuária de mandioca em colunas de solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. [online]. v. 10, n. 2, p. 456-465, 2006.

MORRILL, W. B. B.; ROLIM, M. M., BEZERRA NETO, E.; PEDROSA, E. M. R.; OLIVEIRA, V. S.; ALMEIDA, G. L. P. Produção e nutrientes minerais de milho forrageiro e sorgo sudão adubado com soro de leite. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 16, n. 2, p. 182-188, 2012.

RAIJ, B. V. Fertilidade do solo e manejo dos nutrientes. Piracicaba: **International Plant Nutrition Institute**, 2011.

RICHARDS, L. A. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. Washington: **United States Salinity Laboratory**, 160 p, 1954.

SILVA, R. O. P. Aspectos das importações de soro de leite no Brasil: análise e indicadores do agronegócio. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, São Paulo, v. 8, n. 7, p. 1-7, 2018.

SIQUEIRA, A. M. O.; MACHADO, E. C. L.; STAMFORD, T. L. M. Bebidas lácteas com soro de queijo e frutas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 9, p. 1693-1700, 2013.

SOUZA, D. M. G.; LOBATO, E.; REIN, T. A. Adubação com fósforo. In: SOUSA, D. M. G. de; LOBATO, E. (Ed.). **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 147-167, 2004.

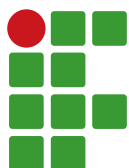
TIVET, F.; PINHEIRO, B. S.; RAÏSSAC, M.; DINGKUHN, M. Leaf blade dimensions of rice (*Oryza sativa* L. and *Oryza glaberrima* Steud.) relationships between tillers and the main stem. **Annals of Botany**, London, v. 88, p. 507-511, 2001.

VILLAR, M. L. P. **Manual de interpretação de análise de plantas e solos e recomendação de adubação**. Cuiabá: EMPAER-MT, 182 p., 2007.

ZAVAREZE, E. R.; MORAES, K. S.; SALAS-MELLADO, M. L. M. Qualidade tecnológica e sensorial de bolos elaborados com soro de leite. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 100-105, 2010.

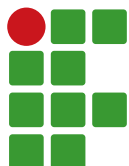
Received: September 27, 2020

Accepted: January 19, 2021



Sumário

Desempenho de híbridos de milho safrinha em função de fontes de ureia na adubação de cobertura	128
Gabriel Wiest, Cassiano Spaziani Pereira, Ivan Vilela Andrade Fiorini, Mateus Emanuel Schoffen, Helcio Duarte Pereira, Adriano Alves da Silva	
Espacialidade do déficit hídrico na cultura da soja nas microrregiões de Jales e Andradina, estado de São Paulo	140
Kamila Cristina de Credo Assis, Maria Clara Lelles Moreira Begueline, João Victor Costa, Fernando Braz Tangerino Hernandez	
Manejo de fungicidas no controle da ferrugem asiática da soja.....	155
Antonio Luiz Viegas Neto, Cristiano Márcio Alves de Souza, Bruno Fernandes Bertocello, Izidro dos Santos de Lima Junior, Lígia Maria Maraschi da Silva Piletti, Márcio Roberto Rigotte	
Farinha de sangue como fonte nitrogenada e seu efeito sobre a severidade de doenças no milho-verde.....	166
Karina de Jesus Egues Martins, Camila Klem Miliati, Antonio Luiz Viegas Neto, Lígia Maria Maraschi da Silva Piletti, Rafael Pelloso de Carvalho, Márcio Roberto Rigotte	
Inibição do fungo <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> na presença de diferentes concentrações de sorbato de potássio	176
Fernanda Engel, Antônio Azeredo Coutinho Neto	
Uso e ocupação das terras na sub-bacia hidrográfica do Córrego Fundaça, Espírito Santo, Brasil	187
Caio Henrique Ungarato Fiorese	



Desempenho de híbridos de milho safrinha em função de fontes de ureia na adubação de cobertura

Gabriel Wiest¹

Cassiano Spaziani Pereira²

Ivan Vilela Andrade Fiorini³

Mateus Emanuel Schoffen⁴

Helcio Duarte Pereira⁵

Adriano Alves da Silva⁶

Resumo

O nitrogênio é o elemento mais demandado pela cultura do milho e também o que sofre as maiores perdas devido a seu manejo inadequado, principalmente quando se utiliza a ureia como fonte do elemento. Objetivou-se com este trabalho avaliar a eficiência de fontes de ureia, com ou sem inibidor de urease, na adubação de cobertura de híbridos comerciais em milho safrinha em Sinop/MT. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial 3 x 5, com três repetições. O primeiro fator consistiu em três adubações de cobertura: testemunha (sem aplicação de adubo); adubação com 250 kg ha⁻¹ de ureia e adubação com 250 kg ha⁻¹ de ureia com a presença do inibidor de urease (UREMAX[®]) NBPT. O segundo fator foram cinco híbridos de milho: 2B433, DKB255, DKB335, NS45 e o SYN522. Avaliaram-se características de desenvolvimento vegetativo e de produtividade. As fontes de nitrogênio não afetam a altura de plantas, diâmetro de colmo e índice de área foliar, apenas o teor de clorofila nas folhas. Para os componentes de produtividade, há efeitos das adubações no número de fileiras de grãos e na produtividade. Os híbridos diferem entre si nas características de desenvolvimento vegetativo e de produtividade. A aplicação em cobertura de nitrogênio, nas condições do estudo e utilizando como fonte ureia com inibidor de urease, aumentou a eficiência da adubação e elevou a produtividade nos híbridos de milho. Os híbridos DKB 255, 2B433 e SYN 522, com o tratamento com UREMAX[®], atingiram as maiores produtividades.

Palavras-chave: *Zea mays* L. Clorofila. Área foliar. Volatilização. Componentes de produtividade.

1 Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Campus Sinop, ICAA-Instituto de Ciências Agrárias e Ambiental. Engenheiro Agrônomo. gabrielwiest@yahoo.com.br. Av. Alexandre Ferronato nº 1200, distrito Industrial. Sinop - MT

2 Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Campus Sinop, ICAA-Instituto de Ciências Agrárias e Ambiental. Professor associado. caspaziani@yahoo.com.br.

3 Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Campus Sinop, ICAA-Instituto de Ciências Agrárias e Ambiental. Pós doutor. ivanvaf@yahoo.com.br

4 Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Campus Sinop, ICAA-Instituto de Ciências Agrárias e Ambiental. Engenheiro Agrônomo. Mateusschoffen2@hotmail.com

5 Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Campus Sinop, ICAA-Instituto de Ciências Agrárias e Ambiental. Doutorado em Genética pela UFV. hhelciopassos@yahoo.com.br.

6 Centro Universitário de Formiga (UNIFOR), Formiga – MG. Professor efetivo. adrianoas@msn.com.

Introdução

O milho segunda safra no estado de Mato Grosso é de suma importância para a produção do grão em todo país. Na safra de 2018/2019, a produção atingiu 29.767 mil toneladas de milho no estado, representando em torno de 50 % da produção em segunda safra do Brasil. Na safra 2019/2020, a participação de Mato Grosso na produção de milho teve um grande incremento, algo estimado em 31.144,50 mil toneladas, aumento de 8 % na área cultivada e de 18,2 % na produtividade, favorecida pela estação chuvosa regular, a qual possibilitou uma janela maior na semeadura e um pleno desenvolvimento da planta (CONAB, 2019).

A época da semeadura do milho em segunda safra ocorre entre os meses de janeiro e março, sendo dependente do planejamento da cultura anterior. Por ser uma espécie C4, o milho é mais eficiente na produção de carboidratos que serão utilizados na produção de grão. Porém alguns fatores influenciam a produtividade, como híbrido, adubação, tipo de solo, fatores climáticos, incidência de pragas e manejo adotado (BERGAMASCHI; MATZENAUER, 2014).

A fertilidade do solo é um fator limitante na produtividade do milho, havendo uma relação linear entre produtividade e extração de elementos. Os nutrientes mais exigidos pelo milho são nitrogênio (N) e potássio (K), seguido do cálcio (Ca), magnésio (Mg) e fósforo (P) (COELHO; RESENDE, 2008).

Na fase inicial de desenvolvimento do milho, ocorre cerca de 20 % a 30 % da extração total dos nutrientes, com uma evolução gradual até o estágio de pendramento, que delimita o fim de absorção para N, P, K e Mg. Para haver resposta na produtividade, é necessário adubar o milho nos primeiros 30 dias após a germinação, quando, além de ser a época correta para a planta, há mais facilidade na operação do maquinário entre as linhas da cultura (RESENDE *et al.*, 2018).

O principal nutriente na composição do milho é o N, cuja principal fonte de fertilizante é a ureia. De todo N absorvido pelo milho, cerca de 75 % é translocado para o grão, portanto envolvido diretamente com o peso de grão. A falta do nutriente afeta o número de grãos e o tamanho da espiga (IFA, 2016).

As formas estáveis de N no solo e absorvidas pelas plantas são o amônio (NH_4^+) e o nitrato (NO_3^-). A ureia, ao entrar em contato com a enzima urease, sofre a quebra de moléculas, transformando o N em amônia, composto volátil, possibilitando a ocorrência de perda por volatilização, ocasionando perdas de até 22 % de todo o N aplicado ao solo na cultura do arroz (SCIVITTARO *et al.*, 2010).

No sistema de plantio direto, a perda da ureia é maior, pois nesse sistema existe maior quantidade da enzima urease e o contato do fertilizante diretamente com o solo é menor, diminuindo a absorção de amônio. Com o intuito de evitar as perdas por volatilização, tem-se buscado alternativas, entre elas a aplicação de ureia protegida com polímeros, outras fontes de N como sulfato de amônio e ureia com inibidor da urease (NBPT). Esses adubos podem ser utilizados na mistura de formulados, estabelecendo ao final do processo de formulação a composição de “ureia + sulfato de amônio + ureia de protegida”, formando uma quantidade adequada de N, com diferentes períodos de liberação do nutriente, amenizando as perdas (TASCA *et al.*, 2011).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de fontes de ureia, com ou sem inibidor de urease, na fertilização em cobertura de híbridos comerciais de milho na segunda safra em Sinop/MT.

Material e métodos

O experimento foi conduzido no período de fevereiro a junho de 2019, em área comercial de coordenadas (11°37'38" S e 55°26'38" W) próximo a BR-163, na região da gleba “Mercedes”, no

município de Sinop/MT. A altitude do local é de 380 metros e o clima da região, segundo classificação de Koppen, é do tipo Am, com pluviosidade média anual de 2.000 mm e temperatura média anual de 25 °C, tendo duas estações bem definidas, sendo chuvosa de outubro a abril e seca de maio a setembro (SOUZA *et al.*, 2013).

Antes de realizar o preparo da área e semeadura, realizou-se uma amostragem de solo na profundidade de 0-20 cm, coletando-se cinco amostras simples, que constituíram uma amostra composta. Após a coleta, a amostra foi enviada para um laboratório de análise de solo credenciado para realização de análises químicas e físicas do solo, foram obtidos os seguintes resultados: pH (H₂O): 5,8; pH (CaCl₂): 5,1; P: 32,82 mg dm⁻³; K: 68 mg/dm³; K: 0,07 cmol dm³; Ca: 4,10 cmol dm³; Mg: 0,6 cmol dm³; Al: 0 cmol dm³; H: 4,13 cmol dm³; H+Al: 4,13 cmol dm³; M.O.: 21,74 g dm⁻³, Soma de Bases: 4,77 cmol dm³; CTC a pH 7,0: 8,9 cmol dm³; V%: 53,63; Ca Mg: 6,87; Ca K: 58, 63; Mg K: 8,53; Ca+Mg/K: 67,16; Areia: 729 g dm³; Silte: 32 gm dm³; Argila: 239 gm dm³. Com base nesses resultados, o solo apresenta textura média, teor alto de P e teores adequados de K, Ca e Mg (SOUSA; LOBATO, 2004). O solo é classificado como Latossolo Amarelo distrófico (SANTOS *et al.*, 2013).

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial 3 x 5, com 3 repetições, totalizando 15 tratamentos e 45 unidades experimentais. O primeiro fator, com três níveis de adubações de cobertura, foi: testemunha (sem a aplicação de adubo); adubação com 250 kg ha⁻¹ do formulado 25-00-18, sem a presença de inibidor de urease; adubação de cobertura com 250 kg ha⁻¹ do formulado 25-00-18, com o uso do inibidor de urease [N-(nbutil) triamida tiofosfórica – NBPT)], nome comercial UREMAX®. A adubação potássica foi uniformizada em todas as parcelas. O segundo fator foram os cinco híbridos de milho, sendo: 2B433, DKB255, DKB335, NS45 e o SYN522.

As parcelas foram constituídas por cinco linhas de semeadura, de cinco metros de comprimento, totalizando 12,5 m². A área útil da parcela foi constituída pelos quatro metros centrais das linhas, excluindo-se 0,5 m das extremidades de três linhas centrais, uma vez que as duas linhas laterais foram consideradas bordadura, totalizando 8 m² de parcela útil.

A área do experimento foi aberta há mais de dez anos e vem passando pela sucessão soja/milho desde então, no sistema de cultivo mínimo, uma vez que o produtor não realiza nenhum tipo de movimentação do solo. A semeadura do experimento foi realizada no dia 8 de fevereiro de 2019, semeando uma população final com intuito de obter 60.000 plantas ha⁻¹ com espaçamento de 0,5 m entre linhas. Na semeadura foi realizada uma adubação com 200 kg ha⁻¹ do formulado 20-00-20, correspondendo a 40 kg de N e 40 kg de K₂O. A aplicação da adubação de cobertura foi feita utilizando o formulado 25-00-18, composto por 282 kg de sulfato de amônio, 418 kg de ureia e 300 kg de K em 1.000 kg de formulado e o formulado 25-00-18 MAIZ® composto por 278 kg de sulfato de amônio, 420 kg de ureia, 300 kg de K e 2 kg de UREMAX®. A adubação potássica foi corrigida em todos os tratamentos com KCl. Toda adubação de cobertura foi aplicada no estágio vegetativo V4 (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003).

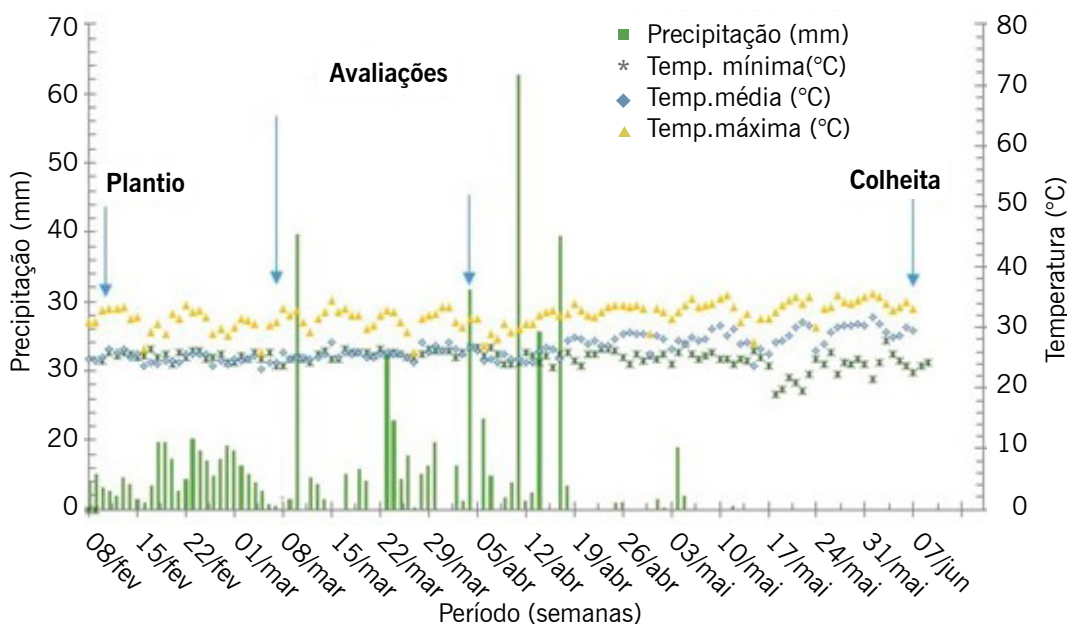
No dia da semeadura, realizou-se uma aplicação do herbicida glifosato, usando o produto Roundup WG® na dose de 1,5 kg ha⁻¹ e uma aplicação de fungicida à base de epoxiconazol 160 g L⁻¹ e piraclostrobina 260 g L⁻¹, na dose de 0,250 L ha⁻¹.

Os dados meteorológicos referentes à precipitação, temperatura média, temperatura máxima e temperatura mínima foram obtidos por meio da estação da UFMT de Sinop, no período compreendido entre 8 de fevereiro até o dia 7 de junho de 2019, período em que os híbridos permaneceram em campo (FIGURA 1).

As primeiras avaliações realizadas no experimento foram no início do período reprodutivo, no estágio reprodutivo R2 (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003), no dia 1º de abril de 2019 em seis

plantas representativas das parcelas. Determinou-se a altura das plantas (ALT) em metros com o auxílio de uma trena graduada, obtendo-se as medidas a partir do colo da planta, do solo até a folha bandeira. O diâmetro de colmo (DC) foi obtido com auxílio de um paquímetro, medindo o diâmetro em milímetros das plantas 5 cm acima do solo. Para a obtenção do índice de área foliar (IAF) em metros quadrados, foram retiradas, o mais próximo do solo possível, 4 plantas por parcela. Após a retirada, as plantas foram levadas ao Viveiro da UFMT e com o auxílio de um integrador de área foliar LICOR® modelo LI-3010, determinou-se o índice de área foliar. Para a avaliação do índice de clorofila total das folhas (CLO), coletaram-se os valores, com o auxílio de um clorofilômetro manual ClorofiLOG® (modelo CFL-1030) da empresa Falker, que estima o teor de clorofila de forma indireta, por meio da leitura de unidades Soil Plant Analysis Development (SPAD), tomando-se os dados da folha oposta e abaixo da espiga superior. As leituras SPAD efetuadas pelos clorofilômetros indicam valores proporcionais de clorofila na folha e são calculadas com base na quantidade de luz transmitida e absorvida por meio da folha em dois comprimentos de ondas com distintas absorbâncias de clorofila (ARGENTA *et al.*, 2001).

Figura 1 – Dados de temperatura e precipitação durante o período do experimento de 08 fevereiro a 07 de junho de 2019. Dados obtidos da estação meteorológica UFMT Sinop/MT.



Fonte: Elaborado pelos autores (2019).

A colheita foi realizada manualmente, no dia 7 de junho de 2019, quando os grãos estavam com aproximadamente 160 g kg^{-1} de umidade e as espigas encontravam-se no estágio reprodutivo R6 (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003). Como caráter morfológico para a colheita, observou-se a formação da camada negra. A debulha dos grãos ocorreu em uma debulhadeira manual de milho marca Bottini®. Após a debulha, para padronizar as determinações de produtividade, os grãos de milho tiveram a umidade corrigida para 130 g kg^{-1} de água e o teor de água inicial dos grãos determinado pelo método direto, em estufa com circulação forçada de ar, na temperatura de $105 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Após a debulha, com os grãos de todas as espigas, determinou-se a produtividade de grãos em kg parcela^{-1} em balança Filizolla®, posteriormente convertida em kg ha^{-1} . Para os componentes de produtividade avaliados neste trabalho foram utilizadas 6 espigas representativas de cada parcela, antes da debulha, das quais avaliaram-se: número de fileiras de grãos (NFG) e número de grãos por fileira (NGF) mediante

contagem. Posteriormente as parcelas foram debulhadas com auxílio de um debulhador manual com posterior contagem e obtenção da massa de mil grãos (M1000).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste F, com o auxílio do software SISVAR® (FERREIRA, 2011). Após o teste F ($p > 0,05$) da análise de variância, as médias foram comparadas pelo teste de Scott Knott (SCOTT; KNOTT, 1974).

Resultados e discussão

A precipitação ocorrida no intervalo de 120 dias em que a cultura esteve em campo foi de 495,8 mm de chuva, divididos nos meses de: fevereiro 112,2 mm, março 170,8 mm, abril 199,6 mm e maio 13,2 mm, não havendo precipitação no final de maio e início de junho (FIGURA 1). As precipitações e as temperaturas ocorridas durante o ciclo da cultura favoreceram altas produtividades, não havendo stress hídrico e não sendo um fator limitante para produtividade. De acordo com Ritchie, Hanway e Benson (2003), no momento da definição do número de óvulos e do tamanho da espiga (estádio V12), as deficiências de umidade e nutrientes podem reduzir seriamente o número potencial de sementes e o tamanho das espigas, conseqüentemente, a produtividade de grãos. Segundo Albuquerque e Resende (2010), híbridos de ciclo médio, com objetivo de produção de grãos, consomem de 380 mm a 550 mm de água durante seu ciclo.

As características do crescimento e desenvolvimento do milho, como a altura de plantas, área foliar, diâmetro de colmo e clorofila, apresentaram diferenças entre os híbridos (TABELA 1).

Tabela 1 – Médias das variáveis altura de plantas (ALT) em metros, índice de clorofila total Falker® (CLO), diâmetro de colmo (DC) em milímetros e índice de área foliar (IAF) em metros quadrados dos híbridos de milho.

Híbridos	Variáveis analisadas			
	ALT (m)	CLO (Falker®)	DC (mm)	IAF (m ²)
Syn 522	1,76 b	55,52 a	21,26 a	0,9610 a
NS45	1,97 a	54,64 a	22,08 a	1,1200 a
2B433	1,90 a	53,76 a	21,53 a	0,9981 a
DKB 255	1,99 a	52,58 a	20,81 a	1,0026 a
DKB 335	1,83 b	47,35 b	19,44 b	0,8395 b
C.V.(%)	5,35	4,07	5,35	10,36

*As médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste de Scott-Knott (1974).

Fonte: Elaborado pelos autores (2019).

Para a altura de plantas, os híbridos NS 45, 2B433 e DKB 255 alcançaram os maiores valores em relação aos demais, independentemente das adubações. Segundo Lucas (2016), a altura de planta está diretamente ligada ao rendimento de grão, indicando que quanto maior a altura da planta, maior a produtividade de grãos, corroborando o resultado dos híbridos NS 45 e DKB 255, que apresentaram maior altura e elevada produtividade.

Os índices de clorofila total no estágio de florescimento obtidos neste estudo variaram de 47,35 a 55,52 entre os híbridos, em que o híbrido DKB 335 apresentou o menor valor em relação aos demais. O valor médio do índice de clorofila total ClorofiLOG® foi de 53 unidades SPAD, semelhante ao obtido por outros autores no estágio de florescimento R2 da cultura do milho (ARGENTA *et al.*, 2001; AMARAL FILHO *et al.*, 2005; FIORINI *et al.*, 2017). Os clorofilômetros fornecem uma medida rápida

e prática para monitorar com eficiência o teor de N nos tecidos foliares, sendo eficiente parâmetro para se inferir sobre o status nutricional das culturas (ARGENTA *et al.*, 2001).

O diâmetro de colmo variou de 19,84 mm a 22,08 mm, em que o híbrido DKB 335 apresentou o menor valor em relação aos demais. O diâmetro de colmo é de suma importância para o milho, pois é onde ficam acumulados os açúcares que no período reprodutivo são translocados para os órgãos reprodutivos e posteriormente para o enchimento de grãos da espiga (MAGALHÃES *et al.*, 2002). O índice de área foliar variou de 0,8395 m² a 1,1200 m², em que o híbrido DKB 335 apresentou o menor valor em relação aos demais híbridos.

As características altura de plantas, diâmetro de colmo e área foliar não apresentaram diferenças quando analisadas as fontes de adubações de cobertura, somente o índice de clorofila total mostrou diferenças significativas (TABELA 2). Esses resultados colaboram com Civardi *et al.* (2011), que verificaram que esses fatores não tiveram influência com a aplicação de ureia. Adição de N em cobertura com ureia ou uremax aumentou os teores do índice de clorofila total. Rodrigues *et al.* (2018) também verificaram diferença em plantas de tratamento com e sem aplicação de ureia, confirmando o preceito de que a aplicação de N em cobertura é essencial, independentemente da fonte. Ainda segundo os autores, apesar de os valores serem maiores com aplicação de inibidores de urease, não houve diferença significativa, resultado distinto do encontrado no presente trabalho, que os teores de clorofila foram de maiores valores com a aplicação de Uremax®.

As médias dos componentes da produtividade como o número de grãos por fileira, número de fileiras de grãos, massa de mil grãos e produtividade de grãos diferenciaram-se entre os híbridos de milho (TABELA 3).

Tabela 2 – Médias das variáveis altura de plantas (ALT) em metros, índice de clorofila total Falker® (CLO), diâmetro de colmo (DC) em milímetros e área foliar (AF) em metros quadrados em função de fontes de aplicação de N em cobertura no milho.

Fontes de N	Variáveis analisadas			
	ALT (m)	CLO (Falker®)	DC (mm)	IAF (m ²)
Sem N	1,84 a	49,54 c	20,64 a	0,9319 a
Ureia	1,91 a	53,46 b	20,97 a	1,0043 a
Uremax®	1,92 a	55,30 a	21,45 a	1,0165 a
C.V.(%)	5,35	4,07	7,36	10,36

*As médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Scott-Knott (1974).

Fonte: Elaborado pelos autores (2019).

Tabela 3 – Médias das variáveis número de grãos por fileira (NGF), número de fileiras de grãos (NFG), massa de mil grãos (M1000) e produtividade de grãos (PROD) nos híbridos de milho.

Híbridos	Variáveis analisadas			
	NGF	NFG	M1000 (g)	PROD (kg ha ⁻¹)
2B433	32,83 c	16,24 a	334,65 b	7.211,35 b
DKB255	29,58 d	16,20 a	363,55 a	8.583,61 a
DKB335	32,10 c	15,44 b	325,53 b	7.881,79 a
NS45	36,51 a	15,24 b	332,90 b	8.011,31 a
SYN522	34,28 b	15,11 b	322,45 b	6.843,55 b

*As médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Scott-Knott (1974).

Fonte: Elaborado pelos autores (2019).

O número de grãos por fileira variou de 32,83 a 36,51 e o híbrido NS45 apresentou o maior valor em relação aos demais híbridos, estando este resultado intimamente relacionado com a maior quantidade de grãos na espiga. Verifica-se que os híbridos DKB 255 e 2B433 atingiram os maiores valores de número de fileiras de grãos, levando a entender que o aproveitamento de N nesses híbridos foi mais eficiente com relação aos outros. Quando ocorre suprimento insuficiente de N durante o estágio de diferenciação floral, pode ocorrer redução no número de óvulos nos primórdios da espiga e diminuição da quantidade de grãos formados, além disso, uma deficiência dos nutrientes boro e cálcio pode ocasionar perdas na polinização, pois são os elementos fundamentais na composição do estilo estigma (ERNANI *et al.*, 2005).

Para a massa de mil grãos, o híbrido DKB 255 foi superior aos demais com 363,55 g, bem como elevadas médias para a produtividade de grãos com 8.583,61 kg ha⁻¹ (139,99 sacas ha⁻¹). Em virtude disso, é provável que o DKB 255 possui maior extração e aproveitamento de N. A massa de mil grãos é importante por ser um fator direto para indicar e explicar a produtividade, demonstrando qual tratamento teve maior relevância para enchimento de grão, pois cerca de 75 % do N absorvido é translocado para o grão (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003), mas esse fator é dependente da extração e exportação para o grão. As produtividades de grãos dos híbridos de milho foram superiores para os híbridos DKB255, NS 45 e o DKB335 em relação aos demais com médias de 8.583,61; 8.011,31 e 7.881,79, respectivamente.

Em relação às fontes de N em cobertura, houve diferenças significativas para o número de fileiras de grãos e para a produtividade de grãos, em que a fonte Uremax® foi superior à ureia convencional e ao controle sem N em cobertura com 338 g e 8424,35 kg ha⁻¹, respectivamente. Para o número de grãos por fileira e massa de mil grãos, não houve diferenças significativas entre as fontes de N na cobertura (TABELA 4).

Tabela 4 – Médias das variáveis número de grãos por fileira (NGF), número de fileiras de grãos (NFG), massa de mil grãos (M1000) e produtividade de grãos (PROD) dos híbridos de milho.

Fontes de N	Variáveis analisadas			
	NGF	NFG	M1000 (g)	PROD (kg ha ⁻¹)
Uremax®	32,68 a	16,05 a	338,82 a	8.424,35 a
Ureia	33,58 a	15,58 b	337,59 a	7.703,55 b
Sem N	32,92 a	15,30 b	331,05 a	6.991,07 c
C.V.(%)	5,60	4,42	4,62	11,68

*As médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Scott-Knott (1974).

Fonte: Elaborado pelos autores (2019).

Segundo Sousa *et al.* (2017), a aplicação de ureia revestida propicia aumento no número de fileiras por espiga na ordem de 1,9 % em relação ao uso de ureia convencional, dados que corroboram o presente trabalho. Essa característica é definida no estágio V8 e evidencia uma possível diminuição na perda de N, disponibilizando esse elemento, o que resulta no incremento no número de fileiras (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003; CARMO *et al.*, 2012). Como neste experimento a aplicação de N ocorreu em V8, possivelmente, por este motivo a formação do número de grãos por fileira não foi influenciada. Para produtividade as diferenças entre híbridos ocorreram pois existe diferença na necessidade de teores de N foliares entre eles, justificando a diferença entre os híbridos (FORNASIERE FILHO, 2007).

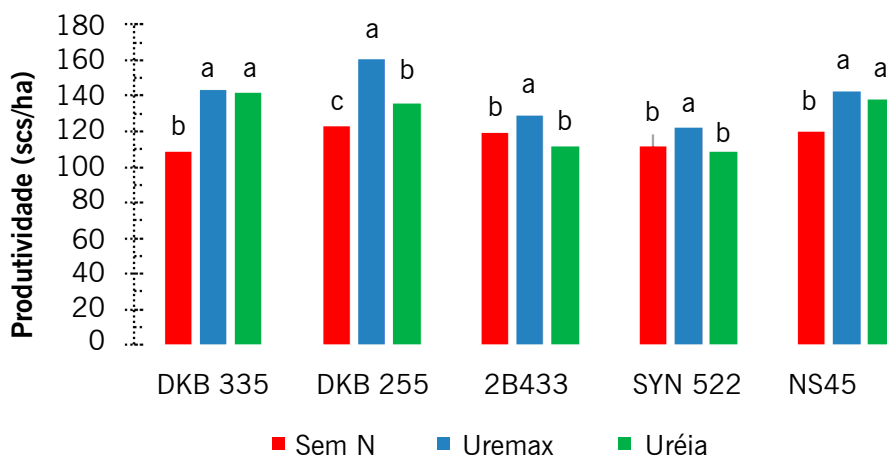
Kappes e Silva (2016) obtiveram valores de incremento médio de 7,6 % na produtividade de grãos com a aplicação de N, em relação ao tratamento sem aplicação de N em cobertura, da ureia utilizada. Kappes *et al.* (2009) observaram aumento significativo na produtividade do milho com aplicação de 70 kg ha⁻¹ de N, independentemente da fonte utilizada.

Rodrigues *et al.* (2018) verificaram que a aplicação de ureia é benéfica para a cultura do milho mesmo em anos de condições climáticas favoráveis, gerando ganhos de 31 % na produtividade de grãos no tratamento com ureia e inibidor da urease, Super N®. Assim como as condições climáticas citadas anteriormente favoreceram o desenvolvimento do milho no presente experimento, é perceptível também a alta produtividade da testemunha, devendo-se ressaltar que foi aplicado 40 kg ha⁻¹ de N na semeadura apesar de não ter realizado a cobertura, sendo que sua produção está dentro dos valores médios com aplicação de N em cobertura (RESENDE *et al.*, 2018).

Analisando os desdobramentos das interações significativas, verifica-se que híbridos responderam de forma diferente a aplicação de inibidor de urease, mas todos tiveram ganhos de produtividade em comparação com o tratamento sem adubação de cobertura. A ureia proporcionou valores semelhantes à ureia tratada nos tratamentos com os híbridos NS 45 e DKB 335. Mota *et al.* (2015) relataram que as diferentes fontes de ureia não interferiram estatisticamente no rendimento de grãos, mas os dois híbridos citados obtiveram uma grande produtividade final, demonstrando-se altamente responsivos à adubação de cobertura, independentemente da fonte.

Frazão *et al.* (2014) constataram que a utilização de ureia tratada com aditivo NBPT alcançou um incremento de grãos de 13 sacas ha⁻¹ quando comparado à ureia comum, e uma elevação de 23 sacas ha⁻¹ em relação à testemunha, relatando a ocorrência de uma possível diminuição na perda de N por volatilização e uma consequente elevação dos teores de N disponíveis para as plantas. No presente trabalho, o híbrido DKB 255 atingiu os maiores valores de produtividade, na aplicação de ureia tratada com NBPT. O ganho em relação à ureia comum foi de 24 sacas ha⁻¹ e de 37 sacas ha⁻¹ comparado à testemunha (FIGURA 2).

Figura 2 – Médias dos híbridos para a variável produtividade em sacos ha⁻¹ em função da aplicação de fontes de N. Dentro de cada híbrido, as fontes seguidas da mesma letra não diferem entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Scott-Knott (1974).



Fonte: Elaborado pelos autores (2019).

O híbrido de maior destaque em produtividade foi o DKB 255, que atingiu 160 sacas ha^{-1} (9.600 kg ha^{-1}) com adubação de cobertura na presença de UREMAX®, cerca de 31 % maior do que o tratamento sem ureia em cobertura e com ganhos de 18 % em relação à ureia (FIGURA 2). Essa diferença de produtividade ocorreu devido à provável redução nas taxas de volatilização da ureia, conforme Guelfi (2017), que verificou uma redução de 79 % na volatilização da ureia, quando tratada com o inibidor da urease. Deve-se atentar que dois dias após a realização das adubações em cobertura, 8 de março de 2019, ocorreu uma precipitação de 40 mm, facilitando a incorporação dos fertilizantes no solo e contribuindo para reduzir suas perdas.

Conclusões

A aplicação em cobertura de N nas condições do estudo, utilizando como fonte ureia com inibidor de urease, aumentou a eficiência da adubação e elevou a produtividade nos híbridos de milho no ano de 2019.

Os híbridos DKB 255, 2B433 e SYN 522, com o tratamento com Uremax® atingiram melhores resultados quando comparados com a aplicação de apenas ureia. O híbrido DKB 255 se destacou, atingindo maior média de produtividade.

Single-cross performance in off-season in function of urea sources on side-dressing fertilization

Abstract

Nitrogen is the most required element by the maize crop and suffers the greatest losses due to its inappropriate management, mainly when the urea is used as a source of nitrogen. The objective of this work was to evaluate the efficiency of urea sources, with or without urease inhibitor, in side-dress fertilization of commercial single-cross in off-season in Sinop/MT. The experimental design was completely randomized blocks, in factorial scheme 3×5 , with 3 replications. The first factor was three side-dress fertilization: witness (without fertilizer); fertilization with 250 kg ha^{-1} of urea and fertilization with 250 kg ha^{-1} of urea in the presence of urease inhibitor (UREMAX®) NBPT. The second factor was five single-crosses: 2B433, DKB255, DKB335, NS45, and SYN522. Vegetative development and yield characteristics were evaluated. The Nitrogen sources did not affect the plant height, stem diameter, and foliar area index, only the chlorophyll content in the leaves. For the yield components, there is an effect of fertilization on the number of grain rows and grain yield. The single-crosses differ among them in vegetative development and yield characteristics. The Nitrogen in side-dress, in the conditions of this study, using the urea with urease inhibitor, increased the fertilization efficiency and raised the grain yield. The single-crosses DKB 255, 2B433, and SYN 522, with the treatment based on UREMAX®, reached the highest yield.

Keywords: *Zea mays* L. Chlorophyll. Foliar area. Volatilization. Yield components.

Referências

- ALBUQUERQUE, P. E. P.; RESENDE, M. **Cultivo do milho: manejo de irrigação**. 2010. Disponível em: <https://goo.gl/tn2uNQ>. Acesso em: 15 jun. 2019.
- AMARAL FILHO, J. P. R.; FORNASIERI FILHO, D.; FARINELLI, R.; BARBOSA, J. C. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 29, n. 1, p. 467-473, 2005.
- ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F.; BORTOLINI, C. G.; FORSTHOFER, E. L.; STRIEDER, M. L. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 2, p. 158-167, 2001.
- BERGAMASCHI, H.; MATZENAUER, R. **O milho e o clima**. Porto Alegre: Emater/RS-Ascar, p. 11, 2014.
- CARMO, M. S.; CRUZ, S. C. S.; SOUZA, E. J. de; CAMPOS, L. F. C.; MACHADO, C. G. Doses e fontes de nitrogênio no desenvolvimento e produtividade da cultura de milho doce. **Bioscience Journal**, v. 28, p. 223-231, 2012.
- CIVARDI, E. A.; SILVEIRA NETO, A. N. D.; RAGAGNIN, V. A.; GODOY, E. R.; BROD, E. Uréia de liberação lenta aplicada superficialmente e ureia comum incorporada ao solo no rendimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 1, p. 52-59, 2011.
- COELHO, A. M.; RESENDE, Á. V. **Exigências nutricionais e adubação do milho safrinha**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira de grãos: Oitavo levantamento**. 8 ed. Brasília, 2019.
- ERNANI, P. R.; SANGOI, L.; LECH, V. A.; RAMPAZZO, C. A forma de aplicação da uréia e dos resíduos vegetais afeta a disponibilidade de nitrogênio. **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 360-365, 2005.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cagro/v35n6/a01v35n6.pdf>. Acesso em: 18 jul. 2019.
- FIORINI, I. V. A.; VON PINHO, R. G.; PEREIRA, H. D.; PIRES, L. P. M.; FIORINI, F. V. A. E RESENDE, E. L. Dry matter accumulation, chlorophyll and sulfur leaf in corn fertilized with different sulfur sources. **Journal Bioenergy and Food Science**, v. 4, n. 1, p. 1-11, 2017.
- FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. Jaboticabal: Funep, 2007. 576 p.
- FRAZÃO, J. J.; SILVA, Á. R. D.; SILVA, V. L. D.; OLIVEIRA, V. A.; CORRÊA, R. S. Fertilizantes nitrogenados de eficiência aumentada e ureia na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 12, p. 1262-1267, 2014.

GUELF, D. Fertilizantes nitrogenados estabilizados, de liberação lenta ou controlada. **Informações agronômicas IPNI**, v. 157, n. 19, p. 1–32, 2017.

IFA - International Fertilizer Industry Association. **Nutrient Management Handbook**, 2016. Disponível em: <http://www.fertilizer.org/>. Acesso em: 20 maio 2019.

KAPPES, C.; CARVALHO, M. A. C. de; YAMASHITA, O. M.; SILVA, J. A. N. da. Influência do nitrogênio no desempenho produtivo do milho cultivado na segunda safra em sucessão à soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, n. 3, p. 251-259, 2009.

KAPPES, C.; SILVA, R. G. Fontes e doses de nitrogênio no cultivo do milho safrinha em sucessão à soja. **Enciclopédia Biosfera**, v. 13, n. 23, p. 646–659, 2016.

LUCAS, F. T. **Efeitos da ureia com inibidores de nitrificação e urease na cultura do milho**. 2016. 60 f. Tese (Doutor em Agronomia – Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista – UNESP *Campus* de Jaboticabal, 2016.

MAGALHAES, P. C.; DURAES, F. O.; CARNEIRO, N. P.; PAIVA, E. **Fisiologia do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, Circular Técnica, 22. 23 p. 2002.

MOTA, M. R.; SANGOI, L.; SCHENATTO, D. E.; GIORDANI, W.; BONIATTI, C. M.; DALL'IGNA, L. Fontes estabilizadas de nitrogênio como alternativa para aumentar o rendimento de grãos e a eficiência de uso do nitrogênio pelo milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 2, p. 512–522, 2015.

RESENDE, A. V.; BORGHI, E.; GONTIJO NETO, M. M.; ABREU, S. C.; SANTOS, F. C. dos; COELHO, A. M. Manejo de nutrientes no cultivo de milho segunda safra na região do cerrado. **Revista Plantio Direto**, v. 166, 2018.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Como a planta de milho se desenvolve. **Informações agronômicas**, v. 103, p. 1-19, 2003.

RODRIGUES, F. J.; BARCAROL, M. A.; ADAMS, C. R.; KLEIN, C.; BERWANGER, A. L. Eficiência agrônômica da cultura do milho sob diferentes fontes de nitrogênio em cobertura. **Uniciências**, v. 22, n. 2, p. 66, 2018.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA V. A. de; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A. de; CUNHA, T. J. F.; OLIVEIRA, J. B. de. **Sistema brasileiro de classificação dos solos**. 3 ed. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 353 p.

SCIVITTARO, B. W.; GONÇALVES, D. R. N.; VALE, M. L. C do; RICORDI, V. G. Perdas de nitrogênio por volatilização de amônia e resposta do arroz irrigado à aplicação de ureia tratada com o inibidor de urease NBPT. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 6, p. 1283-1289, jun., 2010.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, p. 507-512, 1974.

SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E., eds. **Cerrado: Correção do solo e adubação**. Planaltina, Embrapa Cerrados, 2004.

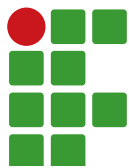
SOUZA, A. P.; MOTA, L. L.; ZAMADEI, T.; MARTIN, C. C.; ALMEIDA, F. T., PAULINO, J. Classificação climática e balanço hídrico climatológico no estado de Mato Grosso. **Nativa**, v. 1, p. 34-43, 2013.

SOUZA, D. S.; LIMA, S. F.; CADORE, E.; DAVID, C. H. O.; SANTOS, O. F. Aplicação de ureia revestida e produtos foliares no milho safrinha. **Nucleus**, v. 14, n. 1, 2017.

TASCA, F. A.; ERNANI, P. R.; ROGERI, D. A.; GATIBONI, L. C.; CASSOL, P. C. Volatilização de amônia do solo após a aplicação de ureia convencional ou com inibidor de urease. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 2, 2011.

Submetido: 16/03/2020

Aceito: 09/07/2020



Espacialidade do déficit hídrico na cultura da soja nas microrregiões de Jales e Andradina, estado de São Paulo

Kamila Cristina de Credo Assis¹

Maria Clara Lelles Moreira Begueline²

João Victor Costa³

Fernando Braz Tangerino Hernandez⁴

Resumo

O conhecimento da disponibilidade da água no solo é a base para executar e planejar o uso racional. Assim, objetivou-se com o presente estudo a realização da espacialidade da precipitação, evapotranspiração da cultura e da necessidade de suplementação hídrica no cultivo da soja nas microrregiões de Jales/SP e Andradina/SP para a safra de verão. O balanço hídrico foi determinado a partir do método de Thornthwaite e Mather (1955) com dados disponibilizados pela Rede de Estações Agrometeorológicas operada pela Área de Hidráulica e Irrigação da UNESP Ilha Solteira. Foi considerada uma Capacidade de Água Disponível (CAD) de 40 mm. O estudo deu-se a partir da simulação da condição hídrica de uma lavoura de soja semeada no dia 4 de novembro de 2020. Na condição de déficit hídrico, a Evapotranspiração Real (ETR) foi considerada nula na condição de 20 % de déficit e os demais valores seguiram a mesma proporção matemática. A precipitação média do período, a evapotranspiração da cultura e o déficit hídrico de cada estação meteorológica foram interpolados utilizando o software ArcGIS 10.7 por meio de krigagem ordinária de modelo circular. O déficit hídrico na cultura da soja na região Noroeste Paulista está relacionado à má distribuição da precipitação ao longo do ciclo e à grande recorrência de veranicos por toda a região. Para seguridade do produtor, o investimento em sistemas de irrigação prevendo essa má distribuição é justificado. O déficit hídrico na região é variável podendo chegar a valores nulos em anos com boa distribuição da precipitação e a valores superiores a 180 mm em anos com má distribuição.

Palavras-chave: Balanço Hídrico. Irrigação. Krigagem. Noroeste Paulista.

Introdução

A soja (*Glycine max* L.) é a principal cultura do agronegócio brasileiro, com uma área cultivada de aproximadamente 35,8 milhões de hectares com uma produção estimada em 115 milhões de toneladas. No estado de São Paulo, a produção do grão chega a 10 milhões de toneladas (CONAB, 2020).

A disponibilidade hídrica é o principal fator limitante ao rendimento da soja. No entanto, a maioria dos cultivos de soja no mundo são realizados sob o sistema de sequeiro. Devido à expansão da fronteira agrícola brasileira nos últimos anos, o cultivo da oleaginosa também ocorre em regiões

1 Universidade de São Paulo (USP). Doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Sistemas Agrícolas. kamila.assis@usp.br

2 Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP). Doutorando no Programa de Pós-Graduação em Irrigação e Drenagem. mariaclara_begueline@hotmail.com

3 UNESP. Doutorando no Programa de Pós-Graduação em Irrigação e Drenagem. jv.costa@unesp.br

4 UNESP – Campus Ilha Solteira. Professor Titular da Área de Hidráulica e Irrigação. fernando.braz@unesp.br

com limitações pluviométricas por meio da suplementação hídrica realizada via sistema de irrigação (MONTROYA; PINTOS; OTERO, 2017).

Toda água que é infiltrada por um solo vegetado é sujeita à evapotranspiração, que é o somatório da água perdida por evaporação e perdida na forma de transpiração das plantas. A perda de água para a atmosfera por transpiração parece ser uma consequência inevitável da realização da fotossíntese em ambiente terrestre. A absorção de gás carbônico (CO_2) está acoplada à perda de água por meio de uma rota difusional comum: à medida que o CO_2 se difunde para dentro das folhas, o vapor de água difunde-se para fora (TAIZ *et al.*, 2017).

Estimativas precisas da evapotranspiração de culturas (ETc), que quantificam a água total usada por uma cultura, são necessárias para otimizar a programação de irrigação para culturas hortícolas e minimizar a degradação da água (VENTURA *et al.*, 2000). A irrigação deficitária ou em excesso pode comprometer a produção e interferir negativamente na utilização da técnica agrícola de fornecer água aos cultivos quando eles não possuem condições de extrair o recurso da água disponível real do solo (ADR) (SANTOS, HERNANDEZ; ROSSETTI, 2010; CARVALHO *et al.*, 2015).

A evapotranspiração de referência (ETo) é conhecida como a taxa com que a água seria removida da superfície do solo e de uma planta específica, bem nutrida, saudável e sem falta de água (JENSEN; BURMAN; ALLEN, 1990). O conceito de ETo foi desenvolvido para estudar o poder evaporativo da atmosfera independentemente do tipo de cultura e manejo. O modelo mais aceito pela literatura e recomendado é o Penman-Monteith FAO (ALLEN *et al.*, 1998; BARROS *et al.*, 2009).

A partir da ETo, é possível calcular a demanda hídrica dos cultivos por meio da multiplicação dos seus valores pelo coeficiente de cultivo (Kc) da cultura em questão. O Kc é a razão entre a evapotranspiração potencial da cultura e a evapotranspiração de referência (ETc/ETo) e varia de acordo com as condições climáticas e fisiológicas da planta, sendo, desta forma, variável no tempo e no espaço (ALLEN; PEREIRA, 2009).

O Noroeste Paulista é a região com a maior evapotranspiração de referência no estado de São Paulo. A precipitação na região ocorre entre os meses de novembro e março, há déficit hídrico nos outros sete meses (HERNANDEZ *et al.*, 2003; SANTOS, HERNANDEZ; ROSSETTI, 2010). Segundo Avilez *et al.* (2018), a irregularidade na distribuição sequencial das precipitações, devido a veranicos, tem sido um dos fatores limitantes ao maior desenvolvimento e à estabilização da produção agrícola na região.

Com o avanço da tecnologia da informação e o advento das geotecnologias, quanto maior o número de informações meteorológicas globais, regionais e locais, maior é a possibilidade de sucesso do planejamento agrícola. As geotecnologias possibilitaram associar qualquer tipo de informação, mas principalmente as agrometeorológicas, ao espaço geográfico por meio de imagens de satélite e fotografias aéreas, como o Global Positioning System (GPS) e os Sistemas de Informações Geográficas (SIGs) (VOLPATO; ALVES; VIEIRA, 2008).

Neste sentido, no presente trabalho, objetivou-se a realização da espacialidade da precipitação, evapotranspiração da cultura e da necessidade de suplementação hídrica no cultivo da soja nas microrregiões de Jales/SP e Andradina/SP para a safra de verão.

Material e métodos

Para obtenção da precipitação, demanda hídrica da cultura e necessidade de suplementação com irrigação, foram utilizados dados de 8 estações climatológicas pertencentes à Rede Agrometeorológica do Noroeste Paulista monitoradas pela Área de Hidráulica e Irrigação da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) Campus de Ilha Solteira. A seleção das estações foi baseada na

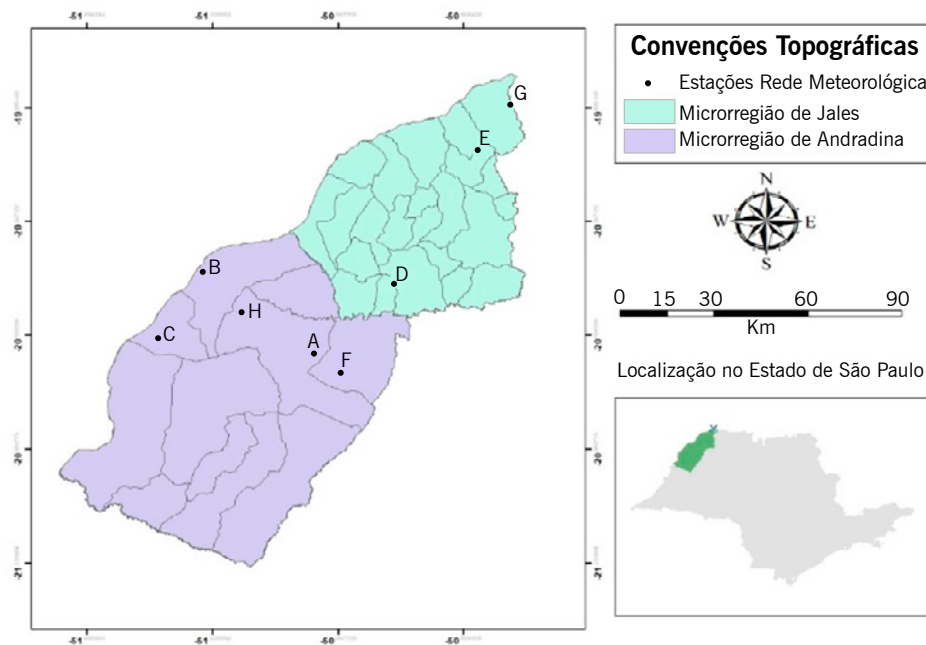
disponibilidade de dados climáticos diários e na sua distribuição espacial, sendo adotadas séries históricas com dados diários cujo período-base variou de 2012 a 2019. Na Tabela 1, apresentam-se as estações utilizadas e, na Figura 1, visualiza-se a distribuição espacial das estações.

Tabela 1 – Rede Agrometeorológica do Noroeste de São Paulo monitoradas pela Área de Hidráulica e Irrigação da UNESP *Campus* de Ilha Solteira. Ilha Solteira, 2019.

Estações	Município	Latitude°	Longitude°	Altitude (m)
A. Bonança	Pereira Barreto	-20,6731	-51,0339	357
B. Ilha Solteira	Ilha Solteira	-20,4234	-51,3536	337
C. Itapura	Itapura	-20,6411	-51,4750	335
D. Marinópolis	Marinópolis	-20,4465	-50,8073	370
E. Paranapuã	Paranapuã	-20,0246	-50,5659	436
F. Santa Adélia Pioneiros	Sud Mennucci	-20,7283	-50,9597	350
G. Populina	Populina	-19,8796	-50,4704	394
H. Santa Adélia	Pereira Barreto	-20,5283	-51,2494	426

Fonte: UNESP (2019).

Figura 1 – Distribuição Espacial das estações meteorológicas da Rede Agrometeorológica do Noroeste de São Paulo monitoradas pela Área de Hidráulica e Irrigação da UNESP *Campus* de Ilha Solteira nas microrregiões de Andradina/SP e Jales/SP. Ilha Solteira, 2019.



Fonte: Elaborada pelos autores (2020).

O clima da região do estudo foi classificado, segundo Köppen, como do tipo Aw, apresentando temperatura média anual de 24,5 °C, precipitação pluvial anual média de 1.232 mm e umidade relativa do ar média de 64,8 % (HERNANDEZ *et al.*, 1995).

O estudo deu-se a partir da simulação da condição hídrica de uma lavoura de soja semeada no dia 4 de novembro de 2020 nas coordenadas destacadas na Tabela 1. A escolha da data de plantio levou em consideração a média histórica de precipitação, visto que o solo durante os meses anteriores apresenta

elevado déficit hídrico, impossibilitando o estabelecimento da cultura em sequeiro. A cultivar utilizada foi a AS 3610 que apresenta ciclo na região de 121 dias, segundo o fabricante Agroeste® (2017).

A ETo foi obtida utilizando-se da equação de Penman-Monteith (Eq. 1) parametrizada pela FAO (ALLEN *et al.*, 1998), cujos dados de entrada advieram das estações meteorológicas descritas anteriormente.

$$ETo = \frac{0,408\Delta(Rn - G) + \gamma \frac{900}{T + 273} U_2 (e_s - e_a)}{\Delta + \gamma (1 + 0,34U_2)} \quad (1)$$

Em que:

- ETo - Evapotranspiração de referência (mm dia⁻¹);
- Rn - Radiação neta na superfície do cultivo (MJ m⁻² dia⁻¹);
- G - Fluxo de calor no solo (MJ m⁻² dia⁻¹);
- T - Temperatura média do ar a 2 m de altura (°C);
- U₂ - Velocidade do vento a 2 m de altura (m s⁻¹);
- e_s - Pressão do vapor de saturação (kPa);
- e_a - Pressão real do vapor (kPa);
- e_s - e_a - Déficit da pressão de vapor (kPa);
- Δ - Pêndente da curva de pressão de vapor (kPa °C⁻¹);
- γ - constante psicrométrica (kPa °C⁻¹).

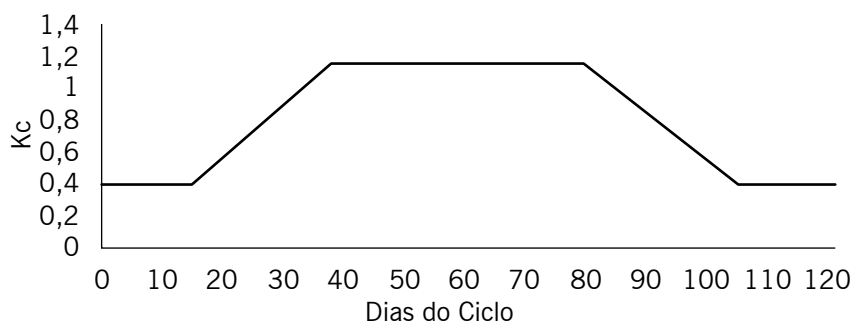
O balanço hídrico diário foi realizado segundo metodologia adaptada de Thorthwaite e Mather (1955), considerando ciclo total da cultura, capacidade de água disponível (CAD) de 40 mm (1,0 mm cm⁻¹ e 0,4 m de profundidade efetiva do sistema radicular) - predominante em Argissolos na região, a chuva média histórica para cada dia e a evapotranspiração da cultura (ETC) estimada pelo produto entre a ETo e o Kc, conforme Eq 2. Os coeficientes de cultura (Kc) da soja utilizados no cálculo da evapotranspiração da cultura (ETC) foram os indicados pelo Boletim FAO 56 para os trópicos (FIGURA 2) (ALLEN *et al.*, 1998).

$$ETc = ETo * Kc \quad (2)$$

Em que:

- ETc = Evapotranspiração da cultura;
- ETo = Evapotranspiração de referência;
- Kc = Coeficiente de cultura.

Figura 2 – Coeficiente de cultivo (Kc) indicado para o cálculo da evapotranspiração da cultura da soja nos trópicos.



Fonte: Adaptado de ALLEN *et al.* (1998).

Foi considerado ainda na CAD um coeficiente de 20 % de incremento resultante da água gravitacional que pode ser infiltrada e evapotranspirada quando a precipitação for superior à capacidade de retenção do solo. A água disponível real (ADR) adotada foi o intervalo entre a capacidade de campo e 50 % da CAD, ou seja, 20 mm.

A Evapotranspiração Real (ETR) foi considerada nula na condição de 20 % de déficit hídrico e quando o déficit foi menor que 20 %, calculou-se a ETR pela proporcionalidade matemática. A necessidade de suplementação hídrica foi determinada como a diferença entre a evapotranspiração real total da evapotranspiração potencial da cultura (Eq. 3).

$$\text{DEF} = \text{ETC} - \text{ETR} \quad (3)$$

Em que:

DEF = Déficit Hídrico;

ETC = Evapotranspiração da cultura;

ETR = Evapotranspiração real da cultura.

A precipitação média do período, a evapotranspiração da cultura e a necessidade de suplementação hídrica obtidas por meio do balanço hídrico diário de cada estação meteorológica foram interpoladas utilizando o software ArcGIS 10.7 (ESRI, 2019) por meio de krigagem ordinária de modelo circular.

Resultados e discussão

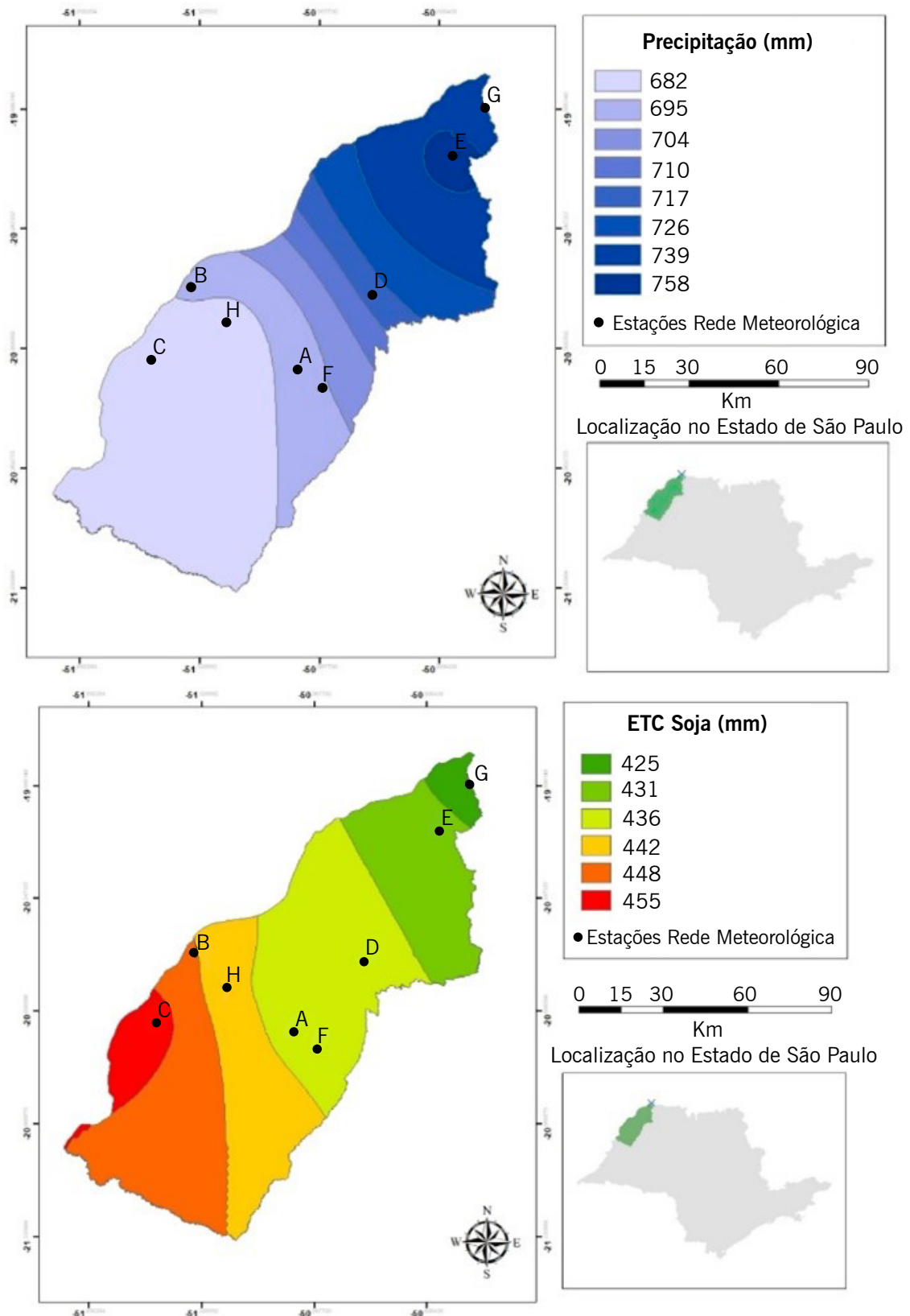
Na Figura 3, apresenta-se a interpolação da precipitação média e evapotranspiração da cultura durante todo o ciclo da soja de acordo com todas as estações meteorológicas com os dados médios (2012-2019).

A diferença entre a precipitação da porção com a maior faixa e menor faixa de precipitação foi de 76,2 mm. A região compreendida pelas estações de Populina/SP e Paranapuã/SP, a norte da microrregião de Jales/SP, apresentaram as maiores médias e a região de Itapura/SP, localizada na porção central da microrregião de Andradina/SP, as menores médias. Resultado semelhante foi obtido por Silva *et al.* (2012) que, avaliando a precipitação durante o ano de 2011 no Noroeste Paulista, encontraram as maiores médias na região de Populina/SP e Paranapuã/SP e as menores médias para a região de Pereira Barreto/SP e Itapura/SP.

A diferença entre a evapotranspiração da porção com maior faixa e menor faixa de precipitação foi de 29,3 mm. A região de maior evapotranspiração da cultura compreendeu a região de Itapura/SP. A região com o valor mais baixo foi a localizada a norte na microrregião de Jales/SP a cerca do município de Populina/SP. Resultados semelhantes foram encontrados por Americo *et al.* (2014) que, avaliando a Eto média das microrregiões durante os anos de 2012 e 2013, também encontraram os maiores valores em Itapura/SP e os menores na região de Populina/SP.

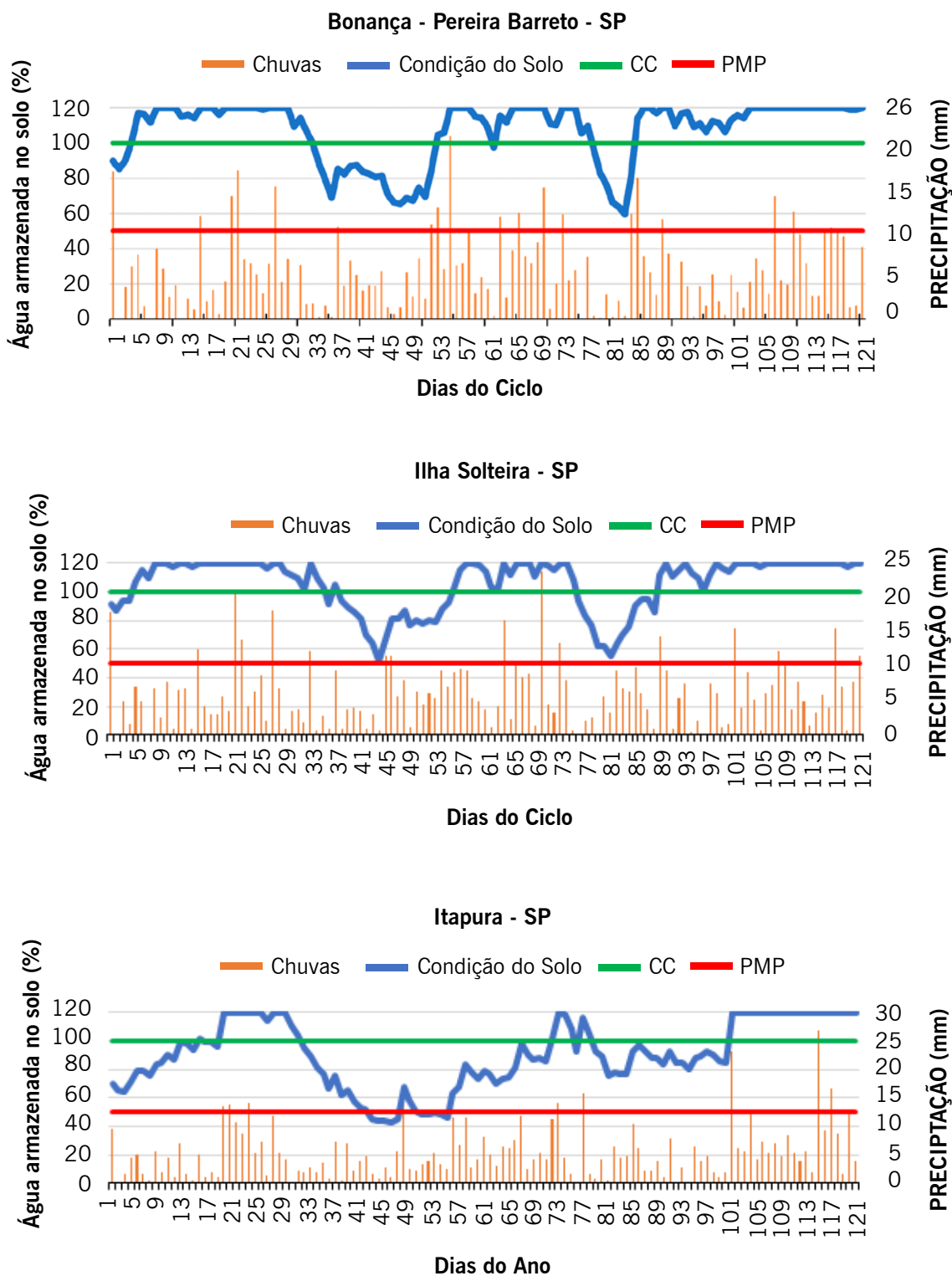
A precipitação em toda a região analisada foi superior à demanda de evapotranspiração. Neste caso, corriqueiramente, poderíamos inferir que não ocorre déficit hídrico. No entanto, apesar de o montante total de água ser superior à demanda, a precipitação pode não ocorrer no momento adequado em que a cultura necessita. Quando se é realizado o balanço hídrico diário, podemos observar que ocorrem déficits mesmo quando a precipitação ultrapassa a evapotranspiração da cultura. Na Figura 4, apresenta-se a previsão da água armazenada no solo durante o cultivo de soja obtida por meio do balanço hídrico.

Figura 3 – Precipitação e evapotranspiração da cultura durante o cultivo de soja (04/11 a 03/03) para as microrregiões de Jales/SP e Andradina/SP (2012-2019).



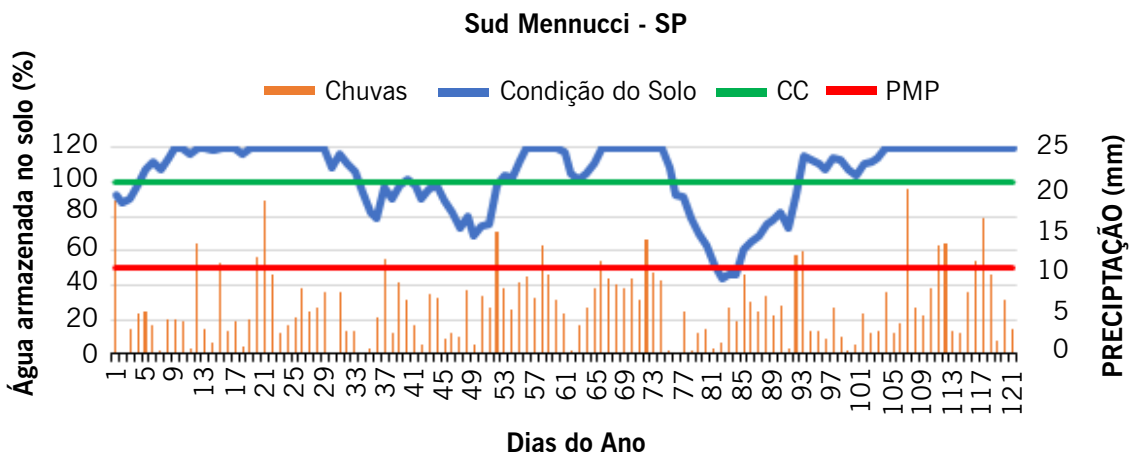
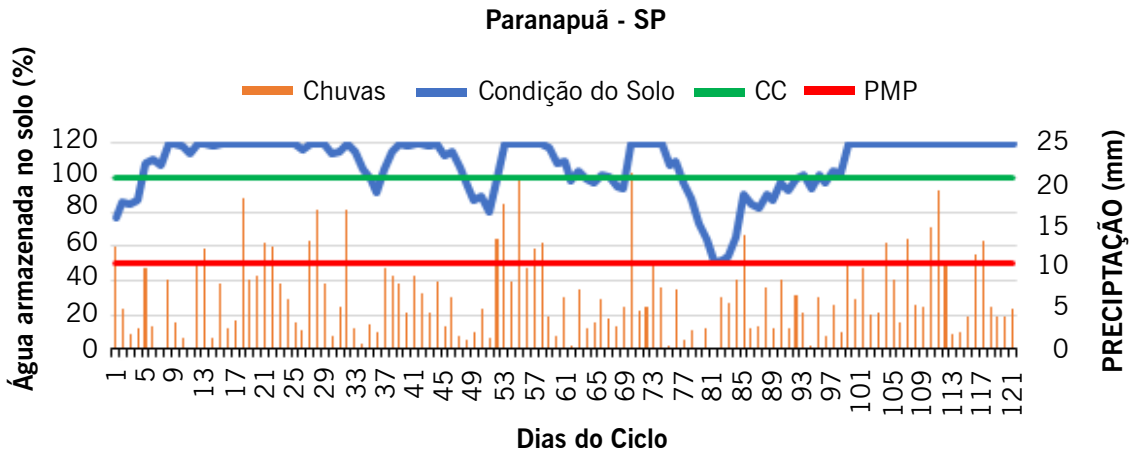
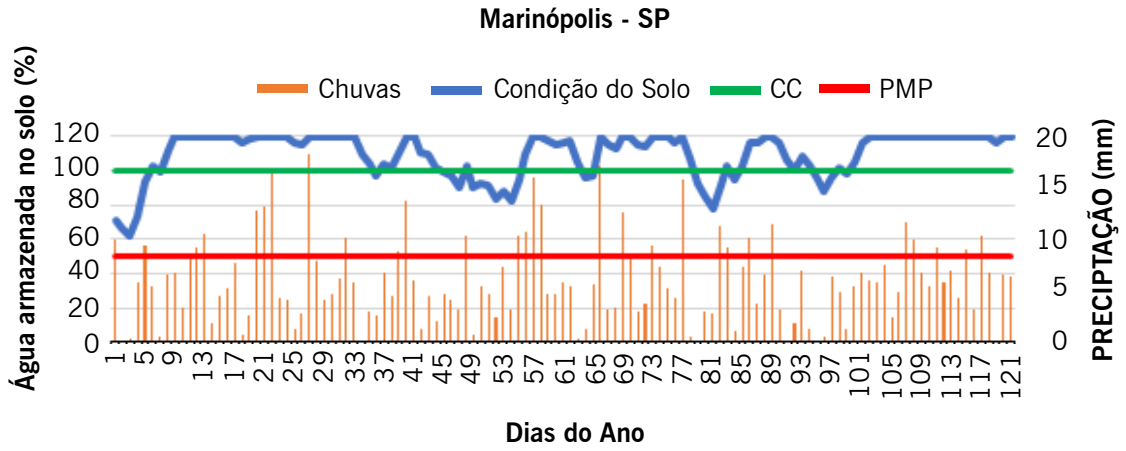
Fonte: Elaboração dos autores (2020).

Figura 4 – Balanço Hídrico diário (2012-2019) durante o cultivo de soja de acordo com as estações meteorológicas da Rede Agrometeorológica do Noroeste Paulista.



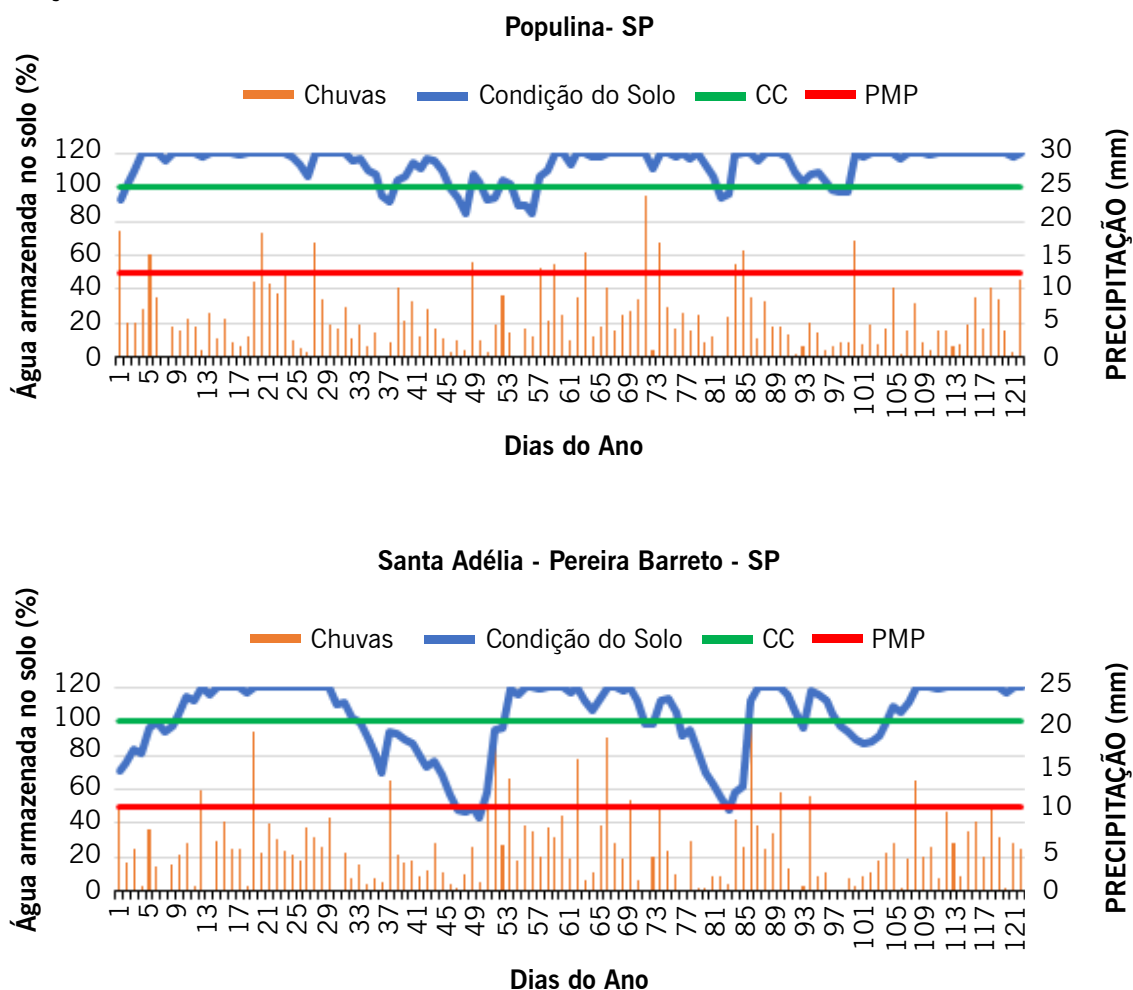
(continua...)

(Continuação)



(continua...)

(Continuação)



Fonte: Elaboração dos autores (2020).

Em Ilha Solteira/SP e Marinópolis/SP, não ocorre nenhum dia de déficit hídrico para a cultura da soja. Resultado semelhante ao encontrado por Damião *et al.* (2010) que, realizando o balanço hídrico entre os anos de 2000-2010 para Ilha Solteira/SP com CAD de 40 mm, não encontraram déficit hídrico na região entre os meses de novembro e março. No entanto, vale ressaltar o grande decréscimo na Água Disponível Real durante o mês de janeiro para esses municípios provavelmente decorrente a veranicos frequentes na região. Segundo Silva *et al.* (2012), a irregularidade na distribuição sequencial das precipitações, devido a veranicos, tem sido um dos fatores limitantes ao maior desenvolvimento e à estabilização da produção agrícola na região.

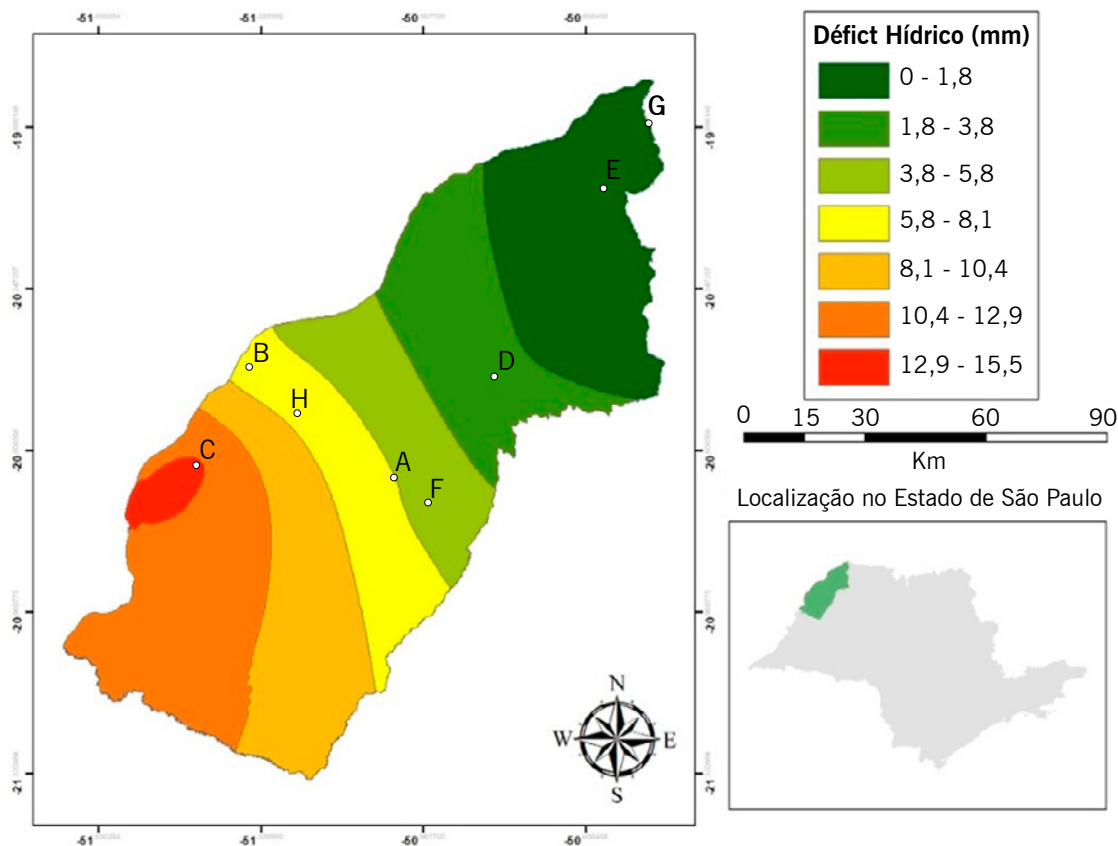
Nas estações meteorológicas de Paranapuã/SP e Populina/SP, a cultura não sofreu nenhum estresse hídrico e a água disponível real esteve em valores próximos à capacidade de campo. Considerando que a região possuía o maior índice de precipitação e o menor índice de evapotranspiração da região, considera-se que a região possivelmente não sofra estresse hídrico durante a safra de verão.

Para Itapura/SP, o déficit hídrico ocorreu durante dois períodos. Em Santa Adélia/SP (H) e Pereira Barreto/SP e Sud Mennucci, o déficit foi isolado em um período que variou entre os meses de dezembro e janeiro. Segundo Pereira (2017), dos elementos do clima, o que se apresenta como mais limitante ao cultivo da soja atualmente é a água. A variabilidade na disponibilidade hídrica durante o

período de desenvolvimento da cultura é a principal limitação à expressão do potencial de rendimento da soja, independentemente do ciclo da cultivar, da época de semeadura e do local. O déficit hídrico durante o fim do mês de dezembro e início de janeiro pode gerar grandes perdas em produtividade da soja, pois geralmente é nesse mês que ocorrem os estádios fenológicos mais críticos das culturas de verão, justificando tecnicamente o uso da irrigação, em caráter complementar, na região.

A espacialização do déficit hídrico é apresentada na Figura 5.

Figura 5 – Necessidade de suplementação hídrica (2012-2019) durante o cultivo de soja para as microrregiões de Jales/SP e Andradina/SP.



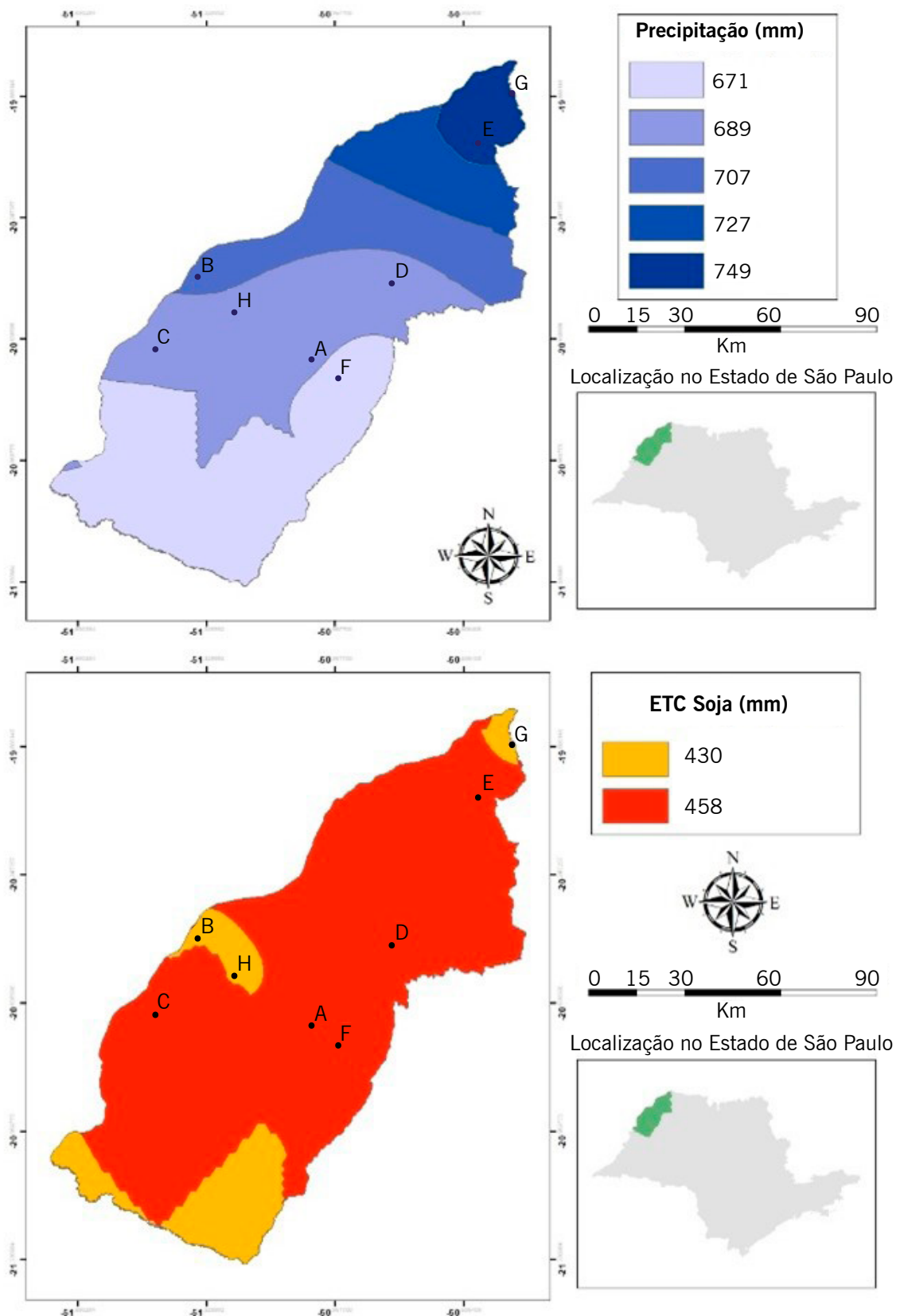
Fonte: Elaboração dos autores (2020).

A região de Itapura/SP apresenta o maior déficit hídrico, a microrregião de Jales/SP apresentou a menor. Esse déficit está principalmente associado a pequenos veranicos durante o verão que podem limitar a produtividade de muitos agricultores de sequeiro. À medida que se avança ao Sudeste, há aumento significativo do déficit hídrico. Esse déficit hídrico encontrado pela média dos últimos 7 anos é insuficiente para justificar o investimento em um sistema de irrigação.

No entanto, quando avaliamos isoladamente o ano agrícola 2018-2019 (FIGURA 6), encontramos uma condição muito mais crítica que a evidenciada com a série 2012-2019.

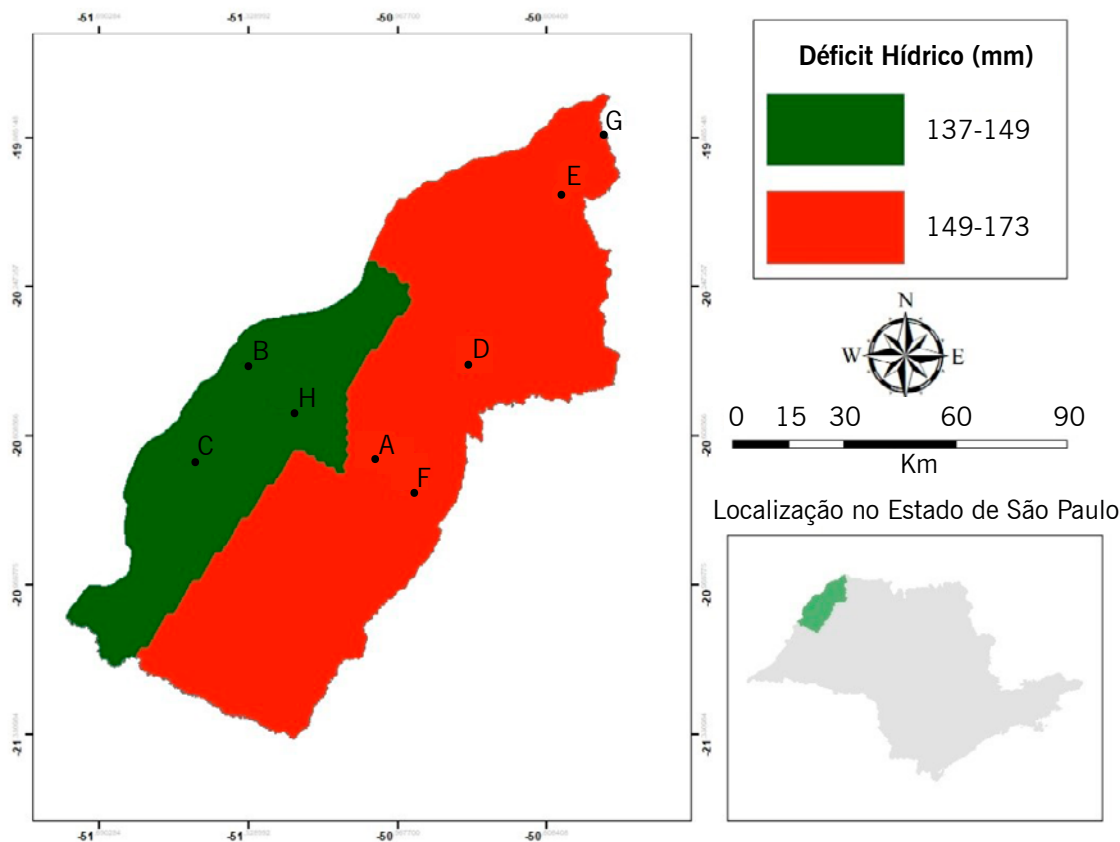
Não houve diferença significativa para a evapotranspiração e para a precipitação total ao longo do ciclo entre a última safra e os dados médios dos últimos 7 anos. Os déficits na região ocorreram ao longo dos dias, sendo necessário realizar o balanço hídrico diário para encontrar o déficit que a cultura apresenta durante o ciclo. Para a interpolação do mapa de déficit hídrico do cultivo 2018-2019, foram interpolados os dados diários de déficit.

Figura 6 – Precipitação, Evapotranspiração da cultura e déficit hídrico durante o cultivo de soja para as microrregiões de Jales/SP e Andradina/SP (2018-2019).



(continua...)

(Continuação)



Fonte: Elaboração dos autores (2020).

Notou-se o aparecimento de valores muito elevados na última safra quando comparados com as médias dos últimos anos. O déficit hídrico apresentou-se de tal forma na última safra que seria impossível não ocorrerem perdas de produtividade em toda a região. A região de Ilha Solteira/SP, Itapura/SP e Santa Adélia/SP apresentaram os menores déficits (137 a 149) e o restante da região se comportou de maneira uniforme dentro do intervalo entre 149 mm e 173 mm. Segundo Schutze *et al.* (2012), o déficit hídrico pode ser observado no Noroeste Paulista tanto na época de chuva quanto no período de estiagem devido à grande taxa de evapotranspiração na região e regime pluviométrico bem irregular. Essa irregularidade está relacionada à distribuição e não à quantidade de chuva. Essas irregularidades resultam em aumento do risco para o cultivo, devido à distribuição das chuvas durante o ciclo das culturas serem limitantes à produção, quando em valores insatisfatórios (MARINI *et al.*, 2012).

Devido a essa variação anual na distribuição da precipitação e consequentemente ao aumento do risco climático da atividade agrícola, a prática da irrigação como suplementação hídrica torna-se bastante necessária, visto que não se pode mais depender de um regime pluviométrico muito variável para a obtenção de uma safra produtiva. A implementação da irrigação, além de diminuir os riscos na safra de verão possibilita a adoção de 2,5 safras ao ano, aumenta a produtividade por ciclo e aumenta a qualidade do grão produzido.

As microrregiões de Jales e Andradina se comportam de maneiras distintas. No entanto, existe homogeneidade entre os resultados, a utilização de dados meteorológicos e o Sistema de Informações Geográficas (SIG) possibilitam ao produtor a tomada de decisão pautada nas verdadeiras condições climáticas que a lavoura de soja apresentará durante o ciclo.

Conclusões

O déficit hídrico na cultura da soja na região Noroeste Paulista está relacionado à má distribuição da precipitação ao longo do ciclo e à grande recorrência de veranicos por toda a região. Para seguridade do produtor, o investimento em sistemas de irrigação prevendo essa má distribuição é justificado.

O déficit hídrico na região é variável, podendo em anos com boa distribuição da precipitação chegar a valores nulos e em anos com má distribuição da precipitação chegar a valores superiores a 180 mm.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pela concessão da Bolsa de Mestrado concedida ao primeiro autor e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro na implantação da Rede Agrometeorológica do Noroeste Paulista (Processo 2009/52467-4).

The spatiality of the soybean crop water deficit in Jales and Andradina microregions, state of São Paulo

Abstract

Knowledge about soil water availability for future planning is the basis for carrying out its rational use. This work aimed to study the spatiality of water precipitation, crop evapotranspiration, and the need for water supplementation in soybean cultivation in the microregions of Jales-SP and Andradina-SP for the summer harvest. The water balance was determined by the Thornthwaite and Mather (1955) method, with data made available by the Agrometeorological Stations Network operated by the Hydraulics and Irrigation area of UNESP Ilha Solteira. We considered an available water capacity (AWC) of 40 mm. The study took place from the simulation of the water condition of a soybean crop sown on November 4, 2020. In the water deficit condition, the actual evapotranspiration (ETa) was considered null at a 20 % deficit, and the other values followed the same mathematical proportion. The mean rainfall of the period, crop evapotranspiration, and water deficit of each weather station were interpolated through ordinary circular kriging in ArcGIS 10.7 software. The water deficit in the soybean crop in the northwest region of São Paulo is related to the poor distribution of precipitation during the cycle and the significant recurrence of Indian summers all through the area. For the producers' safety, investment in irrigation systems anticipating this poor distribution is justified. The water deficit in the region is variable. In years with good rainfall distribution, it can reach zero values, and in years with poor distribution, it can reach values greater than 180 mm.

Keywords: Water Balance. Irrigation. Kriging. Northwest of the state of São Paulo.

Referências

AGROESTE. **Variedade de soja AS 3610 IPRO**. 2017. Página Inicial. Disponível em: <http://www.agroeste.com.br/variedades-de-soja/4/variedades-de-soja/51/as-3610-ipro>. Acesso em: 20 out. 2019.

ALLEN, R. G.; PEREIRA, L. S.; RAES, D., SMITH, M. **Crop evapotranspiration: guidelines for computing crop water requirements**. Rome: FAO, 1998. 300p. Irrigation and Drainage Paper, 56

ALLEN, R. G. PEREIRA, L. S. Estimating crop coefficients from fraction of ground cover and height. **Irrigation Science**, v. 28, n. 1, p. 17-34. 2009.

AMERICO, I. B.; HERNANDEZ, F. B. T.; SILVA, Y. F.; TEIXEIRA, A. H. C. Precipitação e evapotranspiração de referência no noroeste paulista. IN: XXIV CONIRD - Congresso Nacional de Irrigação e Drenagem. 2014, **Anais...** Brasília, CONIRD, 2014. 6p.

AVILEZ, A. M. A.; HERNANDEZ, F. B. T.; BISPO, R. C.; GIOVANELLI, L. B. Necessidade hídrica da cana-de-açúcar no Noroeste Paulista. **Irriga**, Botucatu, v. 1, n. 1, p. 171-188, 2018.

BARROS, V. R.; SOUZA, A. P.; FONSECA, D. C.; SILVA, L. B. D. Avaliação da evapotranspiração de referência na Região de Seropédica, Rio de Janeiro, utilizando lisímetro de pesagem e modelos matemáticos **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 4, n. 2, p.198-203, 2009.

CARVALHO, D. F.; ROCHA, H. S.; BONOMO, R.; SOUZA, A. P. Estimativa da evapotranspiração de referência a partir de dados meteorológicos limitados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, n. 1, p. 1-11, 2015.

CONAB- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acomp. safra bras. grãos**, v. 7 - Safra 2019/20 - n. 6 - Sexto levantamento, Brasília, p. 1-31 março, 2020.

DAMIÃO, J. O.; HERNANDEZ, F. B. T.; SANTOS, G. O.; ZOCOLER, J. L. Balanço hídrico na região de Ilha Solteira, noroeste paulista. In: XX Congresso Nacional de Irrigação e Drenagem. 2010. **Anais ...** Uberaba - MG, CONIRD, 2010.

ESRI. Environmental Systems Research Institute. **Interpolate shape**. Software 10.7. 2019. Disponível em: <http://desktop.arcgis.com/en/arcmap/latest/get-started/setup/arcgis-desktop-quick-startguide.html>. Acesso: 28 out. 2019.

HERNANDEZ, F. B. T.; LEMOS FILHO, M. A. F.; BUZETTI, S. **Software HIDRISA e o balanço hídrico de Ilha Solteira**. Ilha Solteira: Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP - Área de Hidráulica e Irrigação, 1995. 45p.

HERNANDEZ, F. B. T.; SOUZA, S. A. V.; ZOCOLER, J. L.; FRIZZONE, J.A. Simulação e efeito de veranicos em culturas desenvolvidas na região de Palmeira d'oeste, estado de São Paulo. **Engenharia Agrícola**, v. 23, n. 1, p. 21-30, 2003.

JENSEN, M. E.; BURMAN, R. D.; ALLEN, R. G. **Evapotranspiration and irrigation water requirements**. New York: ASCE, 1990, 332p

MARINI, P.; MORAES, C. L.; MARINI, N.; MUNT DE MORAES, D.; AMARANTE, L. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de arroz submetidas ao estresse térmico. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 4, p. 722-730, 2012.

MONTOYA, F. C; PINTOS, F; OTERO, A. Effects of irrigation regime on the growth and yield of irrigated soybean in temperate humid climatic conditions. **Agricultural Water Management**, v. 193, p. 30-45, 2017.

PEREIRA, L. C. **O uso da água em Goiás, potencialidade, demanda para irrigação por pivôs centrais e perspectivas**. 2017. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.

SANTOS, G. O.; HERNANDEZ, F. B. T.; ROSSETTI, J. C. Balanço hídrico como ferramenta ao planejamento agropecuário para a região de Marinópolis, noroeste do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 4, n. 3, p. 142-149, 2010.

SILVA, Y. F.; HERNANDEZ, F. B. T.; FEITOSA, D. G.; TEIXEIRA, A. H. C.; BRUNINI, O. Análise das chuvas no noroeste paulista. IN: XXII CONIRD - Congresso Nacional de Irrigação e Drenagem. 2012, **Anais...** Cascavel, CONIRD, 2012. 6p.

SCHUTZE, I.; HERNANDEZ, F. B. T.; TEIXEIRA, A. H. C.; FEITOSA, D. G. CHUVA E EVAPOTRANSPIRAÇÃO NO NOROESTE PAULISTA EM 2012. IN: XXII CONIRD - Congresso Nacional de Irrigação e Drenagem. 2012, **Anais...** Cascavel, CONIRD, 2012. 6p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, M. I.; MURPHY, A. **Fisiologia Vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858p.

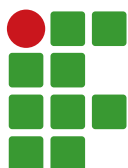
THORNTHWAITE, C. W.; MATHER, J. R. **The water balance**. Centerton, NJ: Drexel Institute of Technology - Laboratory of Climatology, 1955. 104p. (Publications in Climatology, vol. VIII, n.1).

VENTURA, F.; FABER, B. A.; BALI, M. K.; SNYDER, R.; SPANO, D.; DUCE, P.; SCHULBACK, K. F. Model for Estimating Evaporation and Transpiration from Row Crops. **Journal of Irrigation and Drainage Engineering**, v. 127, n. 6, 2001.

VOLPATO, M. M. L.; ALVES, H. M. R.; VIERIA, T. G. C. Geotecnologias aplicadas a meteorologia. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 29, n. 249, p. 1-10, 2008.

Submetido: 18/04/2020

Aceito: 04/08/2020



Manejo de fungicidas no controle da ferrugem asiática da soja

Antonio Luiz Viegas Neto¹

Cristiano Márcio Alves de Souza²

Bruno Fernandes Bertoncetto³

Izidro dos Santos de Lima Junior⁴

Lígia Maria Maraschi da Silva Piletti⁵

Márcio Roberto Rigotte⁶

Resumo

A ferrugem asiática da soja é a principal doença da cultura, e o manejo no uso de fungicidas é importante para se ter um controle eficiente. O objetivo do trabalho foi avaliar o manejo de fungicidas com aplicações sequenciais para o controle da ferrugem asiática da soja. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso com quatro repetições e oito tratamentos com diferentes combinações de fungicidas dos grupos químicos: triazol, estrobilurina, carboxamida e ditiocarbamato. As aplicações foram realizadas com um equipamento de pulverização costal à pressão constante (CO₂) e volume de calda de 200 L ha⁻¹. Foram avaliadas a severidade da ferrugem, área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), eficiência do controle, massa de 1.000 grãos e produtividade. O fungicida protetor mancozebe em misturas com fungicidas sistêmicos foram mais eficazes para o controle da ferrugem asiática da soja do que fungicidas sistêmicos aplicados sem o fungicida protetor.

Palavras-chave: Tecnologia de aplicação. *Phakopsora pachyrhizi*. Mancozebe.

Introdução

A principal doença da cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é a ferrugem asiática causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow & Sydow, na qual os primeiros sintomas da doença são pequenas lesões foliares com coloração castanha a marrom-escura na parte abaxial da folha (GODOY *et al.*, 2018). No campo, o fungo infecta o tecido foliar de uma ampla gama de hospedeiros, seus uredósporos são liberados por um ostíolo na urédia (GOELLNER *et al.*, 2010).

A ferrugem asiática em condições climáticas favoráveis pode causar danos que podem variar de 10 % a 90 % da produção (HARTMAN *et al.*, 2015). As condições climáticas favoráveis para *P. pachyrhizi* são temperaturas de 15 °C a 25 °C e o mínimo de seis horas de molhamento foliar (NASCIMENTO *et al.*, 2018; EMBRAPA, 2011).

1 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul (IFMS). Professor EBTT. antonio.viegas@ifms.edu.br.

2 Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Professor associado. csouza@ufgd.edu.br.

3 IFMS. Engenheiro Agrônomo. brunobertoncello@gmail.com.

4 IFMS. Professor EBTT. izidro.lima@ifms.edu.br.

5 IFMS. Professor EBTT. ligia.piletti@ifms.edu.br.

6 IFMS. Professor EBTT. marcio.rigotte@ifms.edu.br.

Segundo Weirich *et al.* (2013), a resistência genética é a maneira mais eficaz e econômica de evitar danos causados por doenças em plantas cultivadas. Por não haver cultivares de soja resistentes à ferrugem asiática devido à grande variabilidade do patógeno, há dificuldade no controle da doença (NEVES; BLUM, 2013).

O uso de fungicida torna-se uma alternativa eficiente para o controle da doença (GODOY *et al.*, 2018). A aplicação de mais de um grupo de fungicida, com diferentes modos de ação, melhora o controle da doença e prolonga a vida útil dos fungicidas (NASCIMENTO *et al.*, 2018). O uso de fungicidas com o mesmo modo de ação gera um grande risco de seleção de populações resistentes do patógeno (FRAC, 2010).

A dificuldade em controlar a ferrugem da soja com fungicidas está se tornando cada vez mais evidente, comprovada a alta capacidade de adaptação e variabilidade do fungo (SCHMITZ *et al.*, 2014). A resistência, menor sensibilidade do fungo *P. pachyrhizi* a fungicidas do grupo dos inibidores da desmetilação (IDM), inibidores da quinona externa (IQe) e inibidores da succinato desidrogenase (ISDH) já foi confirmada no Brasil (SCHMITZ *et al.*, 2014; KLOSOWSKI *et al.*, 2016; SIMÕES *et al.*, 2018).

A adaptação de *P. pachyrhizi* a fungicidas e sua capacidade de superar genes de resistência mostram que nenhuma solução única será capaz de manter a sustentabilidade da cultura (GODOY *et al.*, 2016). É necessário desenvolver estratégias para garantir o controle econômico da doença, para se ter um máximo de produtividade e rentabilidade.

O uso de fungicidas com ação multissítio é uma estratégia importante que pode contribuir para reverter a diminuição da sensibilidade a fungicidas sistêmicos. Fungicidas com maior espectro de ação, como mancozebe, podem ser aliados no controle da ferrugem da soja (GULLINO *et al.*, 2010). São encontrados relatos do uso desse ativo para aumentar o espectro de ação de programas de controle contendo fungicidas sítio-específico (GODOY *et al.*, 2018).

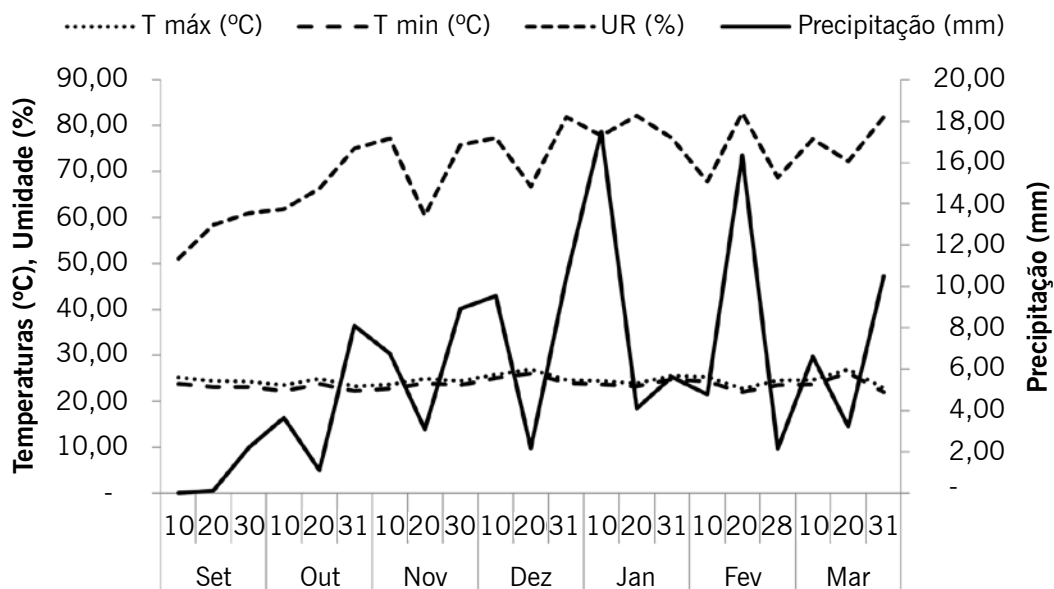
Diante desse contexto, objetivou-se avaliar o manejo de fungicidas com aplicações sequenciais para o controle da ferrugem asiática da soja.

Material e métodos

O trabalho foi desenvolvido na safra 2018/2019 no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul, *Campus* Ponta Porã/MS, localizada na Rodovia BR 463, km 14,755 m de altitude, as condições climáticas do período estão apresentadas na Figura 1. A área experimental foi preparada de maneira a adequar-se às condições físicas, químicas e biológicas do solo à cultura da soja, sendo que as adubações de base foram feitas de acordo com a análise de solo e as recomendações da cultura para a região. O espaçamento entrelinhas utilizado foi de 0,45 m, cultivar de soja M6410, estande de 13 plantas por metro e população final de 290.000 plantas por hectare.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso com quatro repetições, sete tratamentos com aplicações de fungicidas + 1 testemunha sem aplicação (TABELA 1). As parcelas tinham 8 linhas de semeadura com 5 metros de comprimento, sendo a área útil de 5,4 m². As aplicações foram realizadas com um equipamento de pulverização costal à pressão constante (CO₂) dotado de uma barra porta-bicos de 3 metros, com pontas de pulverização AIXR 110015, pressão na barra regulada a 350 kPa e volume de calda de 200 L ha⁻¹.

Figura 1 – Precipitação, temperaturas máxima e mínima e umidade relativa do ar durante o ciclo da cultura da soja, na safra 2018/2019 em Ponta Porã/MS.



Fonte: INMET (2019).

Tabela 1 – Épocas de aplicação pela escala de Fehr e Caviness (1977) e tratamentos utilizados. Ponta Porã/MS, 2021.

Tratamentos	Época de aplicação		
	V8	R1	R4
T1	Testemunha	-	-
T2	trifloxistrobina + protioconazol ²	azoxistrobina + benzovindiflupir ¹	azoxistrobina + ciproconazol ¹
T3	-	azoxistrobina + benzovindiflupir ¹	azoxistrobina + ciproconazol ¹
T4	-	picoxistrobina + ciproconazol ¹	picoxistrobina + ciproconazol ¹
T5	azoxistrobina + ciproconazol ¹ + mancozebe	azoxistrobina + benzovindiflupir ¹	picoxistrobina + ciproconazol ¹
T6	trifloxistrobina + protioconazol ²	azoxistrobina + benzovindiflupir ¹ + mancozebe	picoxistrobina + ciproconazol ¹ + mancozebe
T7	trifloxistrobina + protioconazol ² + mancozeb	azoxistrobina + benzovindiflupir ¹ + mancozebe	picoxistrobina + ciproconazol ¹ + mancozebe
T8	-	azoxistrobina + benzovindiflupir ¹ + mancozebe	azoxistrobina + ciproconazol ¹ + mancozebe

¹Adicionado Nimbus 0,5 L ha⁻¹; ²adicionado Aureo 0,5 L ha⁻¹.

Fonte: Elaborada pelos autores (2021).

Foi realizado um monitoramento semanal para detecção da ferrugem asiática da soja por meio de coletas de 30 trifólios do terço inferior e médio da cultura. A primeira aplicação foi realizada no dia 20/12/2017, estágio fenológico V8, de maneira preventiva, sem a detecção da doença. A segunda aplicação foi realizada em 04/01/2018, estágio fenológico R1, em que surgiram os primeiros sinais da doença e a terceira aplicação foi realizada em 20/01/2018, estágio fenológico R4. A partir da primeira aplicação do fungicida, foram realizadas coletas semanais de 10 trifólios removidos dos terços inferior e médio das plantas de cada parcela. Avaliou-se a severidade da doença, a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), a massa de 1.000 grãos e a produtividade (kg ha^{-1}).

A severidade de ferrugem asiática foi avaliada mediante determinação do percentual de área foliar com sintomas da doença, utilizando-se da escala proposta por Godoy *et al.* (2006). As avaliações foram realizadas aos 0, 7, 14, 21, 28 e 35 dias após a primeira aplicação do fungicida. Com os dados de severidade da última avaliação, foi determinada a eficiência de controle (%) dos fungicidas, conforme Godoy *et al.* (2018).

A partir dos dados da severidade da doença, foi construída a curva de progresso e a determinação da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) calculada a partir da metodologia proposta por Campbell e Madden (1990), sendo:

$$\text{AACPD} = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) \cdot (t_{i+1} - t_i) \quad (1)$$

Em que:

AACPD - área abaixo da curva de progresso da doença;

y_i - proporção da doença na i -ésima observação;

t_i - tempo em dias na i -ésima observação;

n - número total de observações.

A colheita dos grãos de soja foi realizada pela remoção manual de todas as plantas presentes em uma área de 5,4 m^2 e em seguida realizada a trilha. Após a trilha, os grãos foram acondicionados em sacos de papel, sendo devidamente identificados e armazenados para posterior limpeza manual e determinação da umidade. As amostras foram pesadas e o valor convertido para 13 % de umidade, sendo os resultados expressos em kg ha^{-1} . A massa de 1.000 grãos foi obtida a partir de três amostras aleatórias dos grãos de cada parcela experimental.

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade, por meio do teste de Ryan-Joiner, a 1 % de probabilidade. Foi feita análise de variância comparadas pelo teste F a 5 % de probabilidade. As comparações entre médias foram realizadas pelo teste Tukey, a 5 % de probabilidade.

Aplicou-se a análise de agrupamento utilizando o método de Ward com a medida de similaridade dada pela distância euclidiana, com o objetivo de agrupar os tratamentos com aplicações de fungicidas, definindo a distância de corte igual a 50 % da distância euclidiana máxima.

Resultados e discussão

A ferrugem da soja foi detectada pela primeira vez na área experimental no dia 04/01/2018, estágio fenológico R1. A condição climática é um fator determinante para o aparecimento da ferrugem da soja, a sobrevivência dos uredósporos é bastante afetada pela temperatura e umidade relativa, uredósporos expostos a temperaturas acima de 40 °C e umidade relativa entre 12 % a 20 % mostraram-se inviáveis

após 4h a 6h (NASCIMENTO *et al.*, 2018). Em trabalho realizado por Twizeyimana e Hartman (2010), esporos em folhas mantidas a 25 °C, com 34 % de umidade relativa sobreviveram por apenas 15h. Na Tabela 2, apresenta-se o resumo da análise de variância. Houve efeito significativo dos tratamentos para AACPD, massa de 1.000 grãos e produtividade.

Os resultados de severidade, porcentagem de controle e AACPD são mostrados na Tabela 3.

Tabela 2 – Resumo das análises de variâncias da porcentagem de severidade % (SEV), da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), da massa de 1000 grãos g (M1000) e da produtividade de grãos kg ha⁻¹ (PROD) na cultura da soja, safra 2018/2019. Ponta Porã/MS, 2021.

FV	Sev	AACPD	M1000	Prod (kg ha ⁻¹)
Bloco	0,92	21,0	45,2	649.782,9*
Trat	0,99	46,7**	216,4*	750.720,2**
Resíduo	0,72	11,4	63,3	163.914,3

^{ns} não significativo, **, * Significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste F, respectivamente.

Fonte: Elaborada pelos autores (2021).

Tabela 3 – Severidade da doença, eficiência no controle (%) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para cada tratamento com fungicida na cultura da soja, safra 2018/2019. Ponta Porã/MS, 2021.

Tratamentos	Severidade	Controle	AACPD
T1	1,8 A	-	14,5 A
T2	0,7 A	63,9	5,2 B
T3	0,9 A	49,9	8,9 AB
T4	1,3 A	29,7	7,9 AB
T5	0,5 A	70,6	5,2 B
T6	0,4 A	79,6	4,6 B
T7	0,5 A	75,6	3,8 B
T8	0,9 A	49,6	7,5 AB
CV (%)	76,1	-	36,5

* Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.

T1 – testemunha sem fungicida;

T2 – trifloxistrobina + protioconazol em V8, azoxistrobina + benzovindiflupir em R1, azoxistrobina + ciproconazol em R4;

T3 – azoxistrobina + benzovindiflupir em R1, azoxistrobina + ciproconazol em R4;

T4 – picoxistrobina + ciproconazol em R1, picoxistrobina + ciproconazol em R4;

T5 – azoxistrobina + ciproconazol + mancozebe em V8, azoxistrobina + benzovindiflupir em R1, azoxistrobina + ciproconazol em R4;

T6 – trifloxistrobina + protioconazol em V8, azoxistrobina + benzovindiflupir + mancozebe em R1, picoxistrobina + ciproconazol + mancozebe em R4;

T7 – trifloxistrobina + protioconazol + mancozebe em V8, azoxistrobina + benzovindiflupir + mancozebe em R1, picoxistrobina + ciproconazol + mancozebe em R4;

T8 – azoxistrobina + benzovindiflupir + mancozebe em R1, azoxistrobina + ciproconazol + mancozebe em R4;

Fonte: Elaborada pelos autores (2021).

Nos tratamentos T2, T5, T6 e T7, a AACPD foram menores significativamente que a testemunha. Nesses tratamentos, a aplicação de fungicida começou de maneira preventiva no estágio V8 e nos tratamentos T3, T4 e T8 as aplicações começaram com o aparecimento dos primeiros sintomas da doença, estágio R1. Fungicidas aplicados de forma preventiva são recomendados como estratégia

mais eficaz no controle da doença (NAVARINI *et al.*, 2007). Reis (2013) ressaltou recomendações a sojicultores para aplicação no final do estágio vegetativo, no fechamento das entrelinhas, que melhoram a deposição do fungicida na camada inferior do dossel da lavoura. Os tratamentos T5, T6 e T7 foram os que apresentaram eficiência no controle acima de 70 %.

Aplicações de fungicidas preventivas ou mais próximos da detecção de ferrugem em soja proporcionam maior controle da doença do que aquelas efetuadas tardiamente (NASCIMENTO *et al.*, 2018). Rios *et al.* (2010), ao inocularem artificialmente plantas de soja com uredósporo de *P. pachyrhizi*, observaram reduções nos efeitos protetor e curativo de fungicidas à medida que as aplicações foram feitas mais distantes da inoculação.

Alves e Juliatti (2018), em trabalho com aplicação de mancozebe e fungicidas sistêmicos, concluíram que o efeito da adição dos fungicidas protetores com fungicidas sistêmicos variou em função da interação dessas moléculas. Entretanto as aplicações de Alves e Juliatti (2018) se iniciaram quando as plantas estavam no estágio R1, sendo que, de maneira geral, as aplicações preventivas dos fungicidas são mais eficientes no controle da ferrugem em relação a aplicações erradicantes (AUGUSTI *et al.*, 2014), e os fungicidas protetores, quando aplicados em condições ideais, permanecem sobre as folhas e inibem a germinação de esporos em uma gama de hospedeiros e de forma não específica, atuando em diversos sítios das células fúngicas (REIS, 2014; ZAMBOLIM *et al.*, 2008), sendo portanto mais eficientes aplicados preventivamente.

A massa de 1.000 grãos e a produtividade estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Massa de 1.000 grãos (g) e produtividade (kg ha⁻¹) da soja para cada tratamento com fungicida, safra 2018/2019. Ponta Porã/MS, 2021.

Tratamentos	Massa 1.000 grãos	Produtividade (kg ha ⁻¹)
Testemunha	121,7 B	2.130,2 B
T2	136,0 AB	2.722,9 AB
T3	127,1 AB	3.047,7 AB
T4	134,8 AB	2.966,7 AB
T5	136,5 AB	3.307,7 A
T6	143,6 A	3.393,6 A
T7	142,8 A	3.265,3 A
T8	135,7 AB	3.405,3 A
CV (%)	5,9	5,9

* Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

T1 – Testemunha sem fungicida;

T2 – trifloxistrobina + protioconazol em V8, azoxistrobina + benzovindiflupir em R1, azoxistrobina + ciproconazol em R4;

T3 – azoxistrobina + benzovindiflupir em R1, azoxistrobina + ciproconazol em R4;

T4 – picoxistrobina + ciproconazol em R1, picoxistrobina + ciproconazol em R4;

T5 – azoxistrobina + ciproconazol + mancozebe em V8, azoxistrobina + benzovindiflupir em R1, azoxistrobina + ciproconazol em R4;

T6 – trifloxistrobina + protioconazol em V8, azoxistrobina + benzovindiflupir + mancozebe em R1, picoxistrobina + ciproconazol + mancozebe em R4;

T7 – trifloxistrobina + protioconazol + mancozebe em V8, azoxistrobina + benzovindiflupir + mancozebe em R1, picoxistrobina + ciproconazol + mancozebe em R4;

T8 – azoxistrobina + benzovindiflupir + mancozebe em R1, azoxistrobina + ciproconazol + mancozebe em R4;

Fonte: Elaborada pelos autores (2021).

Os tratamentos T6 e T7 foram estatisticamente superiores à testemunha para massa de 1.000 grãos e os tratamentos T5, T6, T7 e T8 foram superiores à testemunha para a produtividade. Nesses tratamentos houve a adição do fungicida protetor mancozebe.

O mancozeb é um dos fungicidas não sistêmicos mais extensivamente utilizados no mundo, com mecanismo de ação multissítio (GULLINO *et al.*, 2010). Fungicidas protetores, como o mancozeb, vêm sendo utilizados no manejo antirresistência da ferrugem asiática da soja (GODOY *et al.*, 2018). No experimento, a aplicação de mancozeb de maneira preventiva ou na detecção na doença, em misturas com fungicidas sistêmicos, apresentou menor redução na produtividade.

Na Tabela 5 apresentam-se as distâncias euclidianas entre os sete tratamentos que tiveram aplicações de fungicidas para o controle da ferrugem da soja.

Tabela 5 – Distância euclidiana entre os sete tratamentos com aplicações de fungicidas para o controle da ferrugem da soja. Ponta Porã/MS, 2021.

	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
T2	0	325	244	585	671	542	682
T3		0	81	260	346	218	358
T4			0	341	427	299	439
T5				0	86	43	98
T6					0	128	14
T7						0	140
T8							0

T1 – Testemunha sem fungicida;

T2 – trifloxistrobina + protioconazol em V8, azoxistrobina + benzovindiflupir em R1, azoxistrobina + ciproconazol em R4;

T3 – azoxistrobina + benzovindiflupir em R1, azoxistrobina + ciproconazol em R4;

T4 – picoxistrobina + ciproconazol em R1, picoxistrobina + ciproconazol em R4;

T5 – azoxistrobina + ciproconazol + mancozebe em V8, azoxistrobina + benzovindiflupir em R1, azoxistrobina + ciproconazol em R4;

T6 – trifloxistrobina + protioconazol em V8, azoxistrobina + benzovindiflupir + mancozebe em R1, picoxistrobina + ciproconazol + mancozebe em R4;

T7 – trifloxistrobina + protioconazol + mancozebe em V8, azoxistrobina + benzovindiflupir + mancozebe em R1, picoxistrobina + ciproconazol + mancozebe em R4;

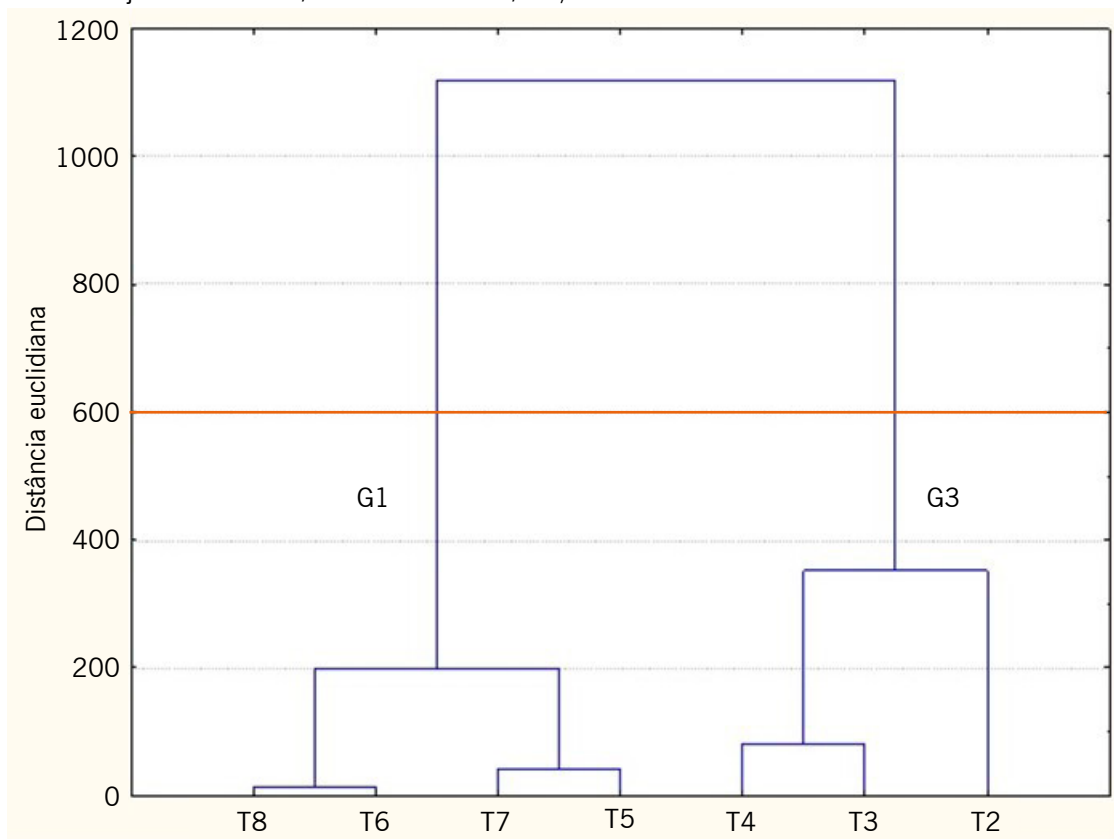
T8 – azoxistrobina + benzovindiflupir + mancozebe em R1, azoxistrobina + ciproconazol + mancozebe em R4;

Fonte: Elaborada pelos autores (2021).

Na Figura 2, pode-se verificar a análise de agrupamento utilizando o método de Ward com a medida de similaridade dada pela distância euclidiana. Os tratamentos T5, T6, T7 e T8 formaram o grupo 1 (G1), enquanto os tratamentos T2, T3 e T4 formaram o grupo 2 (G2).

Os tratamentos do grupo 1 obtiveram os melhores resultados e foram os tratamentos que tiveram acrescido o fungicida protetor mancozeb, mesmo o tratamento T8 em que a aplicação começou em R1 após a identificação da doença (FIGURA 2). A associação de mancozebe com fungicidas triazóis e estrobilurinas apresentam ação sinérgica ou aditiva (MARQUES, 2017).

Figura 2 – Dendrograma mostrando a hierarquia de grupos de sete tratamentos com aplicações de fungicidas na cultura da soja – safra 2018/2019. Ponta Porã/MS, 2021.



Fonte: Elaborada pelos autores (2021).

Conclusões

O fungicida protetor mancozebe, em misturas com fungicidas sistêmicos, foi mais eficaz para o controle da ferrugem asiática da soja do que aplicações somente de fungicidas sistêmicos.

Fungicide management in the Asian soybean rust

Abstract

Asian soybean rust is the major crop disease and the management of the use of the fungicide is important for effective control. The objective of this work was to evaluate the management of fungicides with sequential applications to control Asian soybean rust. The experimental design used was a randomized block with four replications and eight treatments with different combinations of fungicides from the following chemical groups: triazole, strobilurin, carboxamide, and dithiocarbamate. The applications were carried out with backpack spray equipment at constant pressure (CO₂) and a spray rate of 200 L ha⁻¹. The severity of rust, the area under the disease progress curve, control efficiency, mass of 1,000 grains, and productivity were evaluated. The protective fungicide mancozeb, in mixtures

with systemic fungicides, were more effective for the control of Asian soybean rust than the systemic fungicides applied without the protective fungicide.

Keywords: Application technology. *Phakopsora pachyrhizi*. Mancozeb.

Referências

ALVES, V. M.; JULIATTI, F. C. Fungicidas no manejo da ferrugem da soja, processos fisiológicos e produtividade da cultura. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 44, n. 3, p. 245-251, 2018.

AUGUSTI, G. R.; SARI, B. G.; COSTA, I. F. D.; RODRIGUES, J. S.; GUERRA, R. C. Aplicações preventivas e erradicantes de fungicidas no controle da ferrugem asiática da soja. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 40, n. 3, p. 288-289, 2014.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley & Sons, 1990. 655 p.

EMBRAPA, Tecnologias de produção de soja - Região central do Brasil 2012 e 2013. **Londrina: Embrapa Soja** (Sistema de produção 15), 261 p., 2011.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stage of soybeans development**. Ames: Iowa State University, 1977. 12p. (Special Report, 80.)

FRAC. **FRAC recommendations for fungicide mixtures designed to delay resistance evolution**. Jan. 2010. 7p. Disponível em: <https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-recommendations-for-fungicide-mixtures/frac-recommendations-for-fungicide-mixtures---january-2010.pdf>. Acesso em: 13 jan. 2021.

GODOY, C. V.; KOGA, L. J.; CANTERI, M. G. Diagrammatic Scale for Assessment of Soybean Rust Severity. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1, 2006.

GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; SOARES, R. M.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; MEYER, M. C.; COSTAMILAN, L. M. Asian soybean rust in Brazil: past, present, and future. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 51, n. 5, p. 407-421, 2016.

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; LOPES, I. O. N.; DIAS, A. R.; DEUNER, C. C.; PIMENTA, C. B.; JACCOUD FILHO, D. S.; MOREIRA, E. N.; BORGES, E. P.; ANDRADE JUNIOR, E. R.; SIQUERI, F. V.; JULIATTI, F. C.; JULIATTI, F. C.; FAVERO, F.; FEKSA, H. R.; ARAÚJO JÚNIOR, I. P.; GRIGOLLI, J. F. J.; NUNES JUNIOR, J.; BELUFI, L. M. R.; CARNEIRO, L. C.; CARREGAL, L. H.; SATO, L. N.; CANTERI, M. G.; VOLF, M. R.; GOUSSAIN, M.; DIAS, M. D.; DEBORTOLI, M. P.; MARTINS, M. C.; BALARDIN, R. S.; FURLAN, S. H.; MADALOSSO, T.; CARLIN, V. J.; VENANCIO, W. S. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2017/2018: Resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: Embrapa Soja. 2018. 8p (Circular Técnica, 138).

GOELLNER, K.; LOEHRER, M.; LANGENBACH, C.; CONRATH, E.K.; SCAFFRATH, U. *Phakopsora pachyrhizi*, the causal agent of Asian soybean rust. **Molecular Plant Pathology**, Malden, v. 11, n. 2, p. 169-177. 2010.

GULLINO, M. L.; TINIVELLA, F.; GARIBALDI, A.; KEMMITT, G. M.; BACCI, L.; SHEPPARD, B. Mancozeb, past, present and future. **Plant Disease**, v. 94, n. 9, p. 1076-1087, 2010.

HARTMAN, G. L.; SIKORA, E. J.; RUPE, J. C. Rust. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E. J.; DOMIER, L. L.; DAVIS, J. A.; STEFFEY, K. L. (Ed.). **Compendium of soybean diseases and pests**. 5. ed. Saint Paul: APS Press, 2015. p. 56-59.

KLOSOWSKI, A. C.; MAY DE MIO, L. L.; MIESSNER, S.; RODRIGUES, R.; STAMMLER, G. Detection of the F129L mutation in the cytochrome b gene in *Phakopsora pachyrhizi*. **Pest Management Science**, Durham, North Carolina, EUA, v. 72, p. 1211-1215, 2016.

MARQUES, L. N. **Mancozebe associado ao patossistema *Phakopsora pachyrhizi* × *Glycine max***: respostas fisiológicas das plantas. 2017. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de Santa Maria, Santa Maria, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/11631/Marques%2c%20Leandro%20Nascimento.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 04 ago. 2020.

NASCIMENTO, J. M.; GAVASSONI, W. L.; BACCHI, L. M. A.; OLIVEIRA, J. L.; LABORDE, M. C.; PONTIM, B. C. A.; MENDES, M. P. Manejo da ferrugem asiática da soja com aplicações de fungicidas iniciadas na detecção do patógeno ou posteriores. **Agrarian**, Dourados, v. 11, n. 39, p. 42-49, 2018.

NAVARINI, L. DALLAGNOL, L. J.; BALARDIN, R. S.; MOREIRA, M. T.; MENEGHETTI, R. C.; MADALOSSO, M. G. Controle Químico da Ferrugem Asiática (*Phakopsora pachyrhizi* Sidow) na cultura da soja. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 2, p. 182-186, 2007.

NEVES, J. S.; BLUM, L. E. B. Influência de fungicidas e fosfito de potássio no controle da ferrugem asiática e na produtividade da soja. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 2, n. 1, p. 75-82, 2013.

REIS, E. M. Redução da sensibilidade de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas e estratégia para retomar eficiência de controle. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, v. 21, n. 141, p. 21-27, 2014.

REIS, E. M. Critério preventivo. In: REIS, E. M. **Indicadores do momento para a aplicação de fungicidas visando ao controle de doenças nas culturas da soja e do trigo**. Berthier: Passo Fundo, p. 67-76, 2013.

RIOS, J. A.; ZAMBORLIM, L.; DUARTE, H. S. S.; LOPES, J. P.; NOGUEIRA JUNIOR, A. F. Efeito protetor e curativo do epoxiconazole mais piraclostrobina no controle da ferrugem asiática da soja. **Revista Tropica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 2, p. 3-7, 2010.

SCHMITZ, H. K.; MEDEIROS, A. C.; CRAIG, I. R.; STAMMLER, G. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone-outsideinhibitors and demethylation-inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. **Pest Management Science**, v. 7, p. 378-88, 2014.

SIMÕES, K.; HAWLIK, A.; REHFUS, A.; GAVA, F.; STAMMLER, G. First detection of a SDH variant with reduced SDHI sensitivity in *Phakopsora pachyrhizi*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Berlin, v. 125, p. 21-26, 2018.

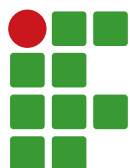
TWIZEYIMANA, M.; HARTMAN, G.L. Culturing *Phakopsora pachyrhizi* on detached leaves and urediniospore survival at different temperatures and relative humidities. **Plant Disease**, St Paul, v. 94, n. 12, p. 1453-1460, 2010.

ZAMBOLIM, L.; PICANÇO, M. C.; SILVA, A. A.; FERREIRA, L. R.; FERREIRA, F. A.; JESUS, J. W. C. **Produtos fitossanitários** (fungicidas, inseticidas, acaricidas e herbicidas). Viçosa: UFV, 2008. 652p.

WEIRICH, P. H. W.; FORNARI, A. J.; BAUER, F. C.; JUSTINO, A.; GARCIA, L. C. Aplicação de fungicidas em soja com barra de arrasto. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 33, n. 4, p. 876-882, 2013.

Submetido: 07/04/2020

Aceito: 05/08/2020



Farinha de sangue como fonte nitrogenada e seu efeito sobre a severidade de doenças no milho-verde

Karina de Jesus Egues Martins¹

Camila Klem Miliati²

Antonio Luiz Viegas Neto³

Lígia Maria Maraschi da Silva Piletti⁴

Rafael Peloso de Carvalho⁵

Márcio Roberto Rigotte⁶

Resumo

A farinha de sangue é um subproduto de frigoríficos e pode ser utilizada como adubo nitrogenado devido ao seu teor mínimo de 10 % de nitrogênio. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de doses de farinha de sangue, como adubo nitrogenado em cobertura, sobre os componentes de produção e a severidade de doenças no milho-verde. O experimento foi desenvolvido no IFMS, *Campus* Ponta Porã, num Neossolo Quartzarênico. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com cinco tratamentos de doses de farinha de sangue de (0 kg ha⁻¹; 48 kg ha⁻¹; 96 kg ha⁻¹; 120 kg ha⁻¹ e 144 kg ha⁻¹) e um tratamento utilizando ureia para adubação em cobertura com 120 kg ha⁻¹ de N. Foram analisadas a severidade de mancha branca nos estádios de pendramento e grão leitoso, a avaliação dos componentes de produção: altura de planta, altura da inserção da primeira espiga, diâmetro do colmo, comprimento das espigas comerciais despalhadas, diâmetro de espigas comerciais despalhadas, número de fileiras de grãos, peso de espigas comerciais empalhadas, peso de espigas comerciais despalhadas e produtividade em kg ha⁻¹. A utilização da farinha de sangue se mostrou tão eficiente quanto o uso da ureia como adubo nitrogenado para as doses a partir de 48 kg ha⁻¹, a produtividade máxima foi obtida quando utilizada a dose de 112 kg ha⁻¹ de N de farinha de sangue em cobertura. A severidade da mancha branca não progrediu em tratamentos contendo a adubação nitrogenada em cobertura.

Palavras-chave: *Zea mays*. Adubo nitrogenado. Componentes de produção. Mancha branca.

Introdução

No Brasil, cultivam-se cerca de 36 mil hectares de milho-verde (*Zea mays* L.), grande parte da produção é destinada para consumo humano. Sua produção se destaca em pequenos e médio produtores, o que contribui para geração de emprego regional, melhoria da logística e distribuição de alimentos (SANTOS *et al.*, 2011).

Para obtenção de elevadas produtividades na cultura do milho é necessário o manejo adequado da adubação, principalmente quanto ao fornecimento de nitrogênio, o nutriente mais absorvido e

1 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul (IFMS). Engenheira Agrônoma. karina_jem@hotmail.com.

2 IFMS. Engenheira Agrônoma. camila.miliati@hotmail.com.

3 IFMS. Professor EBTT. antonio.viegas@ifms.edu.br.

4 IFMS. Professor EBTT. ligia.piletti@ifms.edu.br.

5 IFMS. Professor EBTT. rafael.carvalho@ifms.edu.br.

6 IFMS. Professor EBTT. marcio.rigotte@ifms.edu.br.

exportado pela cultura (SORATTO *et al.*, 2010). O nitrogênio contribui para a produção do milho, uma vez que este elemento participa da função estrutural e ativador de diversas enzimas, estas contribuições proporcionam uma vegetação verde e abundante, elevada folhagem e teores de proteínas (MALAVOLTA, 2006).

Como fonte de adubo nitrogenado tem-se a farinha de sangue, que é um subproduto gerado em frigoríficos bovinos, possui alto teor de nitrogênio (N) quando comparado aos demais adubos orgânicos, com teor mínimo de 10 % de N (RIBEIRO; GUIMARÃES; ALVAREZ, 1999). Informações da utilização deste produto como adubo nitrogenado são escassas, a farinha de sangue possui grande importância na produção de ração para animais, principalmente para piscicultura, devido a seu resíduo de alto valor agregado, sobretudo a quantidade de proteínas, com aminoácidos essenciais, vitaminas e sais minerais e do seu alto coeficiente de digestibilidade (RENUNCIO, 1997).

A forma em que são conduzidos os manejos culturais de uma planta pode influenciar na sua produtividade, destacando entre estes a adubação nitrogenada, que pode determinar também uma maior ou menor predisposição às doenças (CARVALHO *et al.*, 2013). A adubação equilibrada, além de favorecer a produção, pode fazer com que a planta fique menos susceptível a doenças, podendo inclusive reduzir sua severidade (HUBER; THOMPSON, 2007). Segundo Miguel *et al.* (2015), além de poder proporcionar um acréscimo na produtividade, a adubação nitrogenada consiste em um dos tratamentos culturais que podem minimizar os efeitos das principais doenças foliares nas plantas. A mancha branca causada pelo fungo *Phaeosphaeria maydis* é um dos patógenos mais importantes no país, devido à grande amplitude geográfica em que se encontra (MANFROI *et al.*, 2016). Em condições favoráveis, a doença pode provocar a redução da taxa fotossintética da planta causando sua seca antecipada, ocasionando a diminuição do período de enchimento dos grãos, tamanho de espiga, peso de grãos e conseqüentemente a produtividade do milho (MENDES; TEBALDI, 2011).

Por fim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de doses de farinha de sangue, como adubo nitrogenado, sobre os componentes de produção e a severidade da mancha branca no milho-verde.

Material e métodos

O trabalho foi desenvolvido no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul, *Campus* Ponta Porã/MS, localizado na Rodovia BR 463, km 14, 755 m de altitude. O solo da área foi classificado como Neossolo Quartzarênico (EMBRAPA, 2006), com textura areia franca contendo 11,7 % de argila, 3,7 % de silte e 84,6 % de areia. O clima, segundo classificação de Köppen-Geiger, é do tipo Aw, com estação chuvosa no verão e seca no inverno (PEEL; FINLAYSON; MCMAHON, 2007). A média mensal de precipitação durante o ciclo do milho-verde foi de 187,03 mm.

A adubação utilizada para o plantio deu-se de acordo com a interpretação da análise de solo (TABELA 1), segundo Ribeiro, Guimarães e Alvarez (1999), determinando uma adubação de 555 kg ha⁻¹ de Super Fosfato Simples, 100 kg ha⁻¹ de Cloreto de Potássio e 66 kg ha⁻¹ de Ureia. O sistema de plantio utilizado foi o convencional, realizando-se uma gradagem pesada seguida de uma gradagem para nivelamento. A cultivar de milho usada foi o híbrido duplo AG 1051 da Agrocere, desenvolvido para a produção de milho-verde e silagem, o qual é recomendado para a época do plantio e para as regiões produtoras de Mato Grosso do Sul.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com 4 repetições, os tratamentos foram definidos após realizada a análise química da farinha de sangue (TABELA 2).

Tabela 1 – Análise química do solo da área do experimento, na camada de 0-20 cm antes da instalação dos tratamentos e plantio do milho, Ponta Porã, MS, 2021.

pH CaCl ₂	M.O g/dm ³	P	K	Al ³⁺	Ca	Mg	H+Al	CTC _{Ph7}	V %
		mg/dm ³			cmolc/dm ³				
5,6	13,5	3,2	44	0,0	2,2	0,8	1,2	4,2	73
Areia			Silte			Argila			
Textura g dm³									
847			37			117			

Fonte: Elaboração dos autores (2021).

Tabela 2 – Caracterização de macronutrientes, relação carbono nitrogênio, pH e micronutrientes da farinha de sangue, Ponta Porã, MS, 2021.

Macronutrientes						C.O/N	pH
N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Ca	Mg	S		
%							
12,57	0,14	0,78	0,07	0,01	0,5	3,12	6,7
Micronutrientes							
B	Cu	Fe	Mn	Mo	Na	Ni	Zn
mg/dm ³							
N.D	273,4	2346	4,59	N.D	8146	15,6	286,5

Fonte: Elaboração dos autores (2021).

Foram utilizadas cinco diferentes doses de farinha de sangue, correspondendo a 0 %, 40 %, 80 %, 100 % e 120 % referente à quantidade total de nitrogênio necessária para a adubação de cobertura equivalente a 120 kg ha⁻¹ de nitrogênio, quantitativamente essas doses equivalem a 0 kg ha⁻¹, 381,90 kg ha⁻¹, 763,72 kg ha⁻¹, 954,66 kg ha⁻¹ e 1145,58 kg ha⁻¹ de farinha de sangue, contendo 0 kg ha⁻¹, 48 kg ha⁻¹, 96 kg ha⁻¹, 120 kg ha⁻¹ e 144 kg ha⁻¹ de N respectivamente e um tratamento utilizando ureia como adubo nitrogenado de cobertura padrão no qual se utilizou 100% da quantidade necessária de nitrogênio, totalizando 6 tratamentos. As parcelas experimentais foram constituídas de 4 fileiras de 6 metros, com espaçamento de 0,9 m entre fileiras, considerando como área útil apenas as 2 linhas centrais para coleta de dados, a população de plantas utilizada foi de 55 mil ha⁻¹.

Para análise dos componentes de produção do milho-verde, foram mensuradas 10 plantas da área útil, no estágio de grão leitoso (R3) à grão pastoso (R4) (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 1993), sendo que as características de altura da planta (AP), altura do colo da planta até a folha bandeira, altura da inserção da primeira espiga (AIE) foram realizadas com auxílio de régua, o diâmetro do colmo (DC) do segundo entrenó a partir da raiz utilizando paquímetro digital. Para verificação das características das espigas, foram colhidas manualmente 10 espigas da área útil da parcela, após isso, foram determinadas as variáveis de comprimento das espigas comerciais despalhadas (CEC), medindo com auxílio de uma trena a base da espiga até sua extremidade, diâmetro de espigas comerciais despalhadas (DEC) utilizando paquímetro digital, número de fileiras de grãos (FIL) a partir da contagem visual e com auxílio de uma balança obteve-se o peso de espigas comerciais empalhadas (PECE) e peso de espigas comerciais despalhadas (PECD), sendo consideradas comerciais aquelas

que possuíam comprimento maior que 15 cm e 3 cm de diâmetro, a partir destes, obteve-se a produtividade (PROD) em kg ha⁻¹ de espigas despalhadas.

As avaliações de severidade de doenças foliares foram realizadas nos estádios VT, que consistem no pendoamento, e R3, que consiste ao estágio de grão leitoso. Para essas avaliações as folhas foram selecionadas aleatoriamente dentro da parcela útil, observando uma folha na altura da inserção da espiga para a análise visual a partir da escala diagramática para avaliação da severidade da mancha branca em porcentagem da área foliar lesionada, apresentada por Sachs *et al.* (2011) e, posteriormente, efetivaram-se as avaliações da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).

Os dados dos componentes de produção, da severidade e da AACPD foram submetidos à análise de variância e, quando significativos, realizou-se análise de regressão e Teste Dunnett a 5 % de probabilidade para comparar com a dose padrão de ureia.

Resultados e discussão

Analisando os dados de altura de planta, altura de inserção de espiga, diâmetro do colmo e diâmetro da espiga comercial, não houve diferença significativa pelo Teste Dunnett a 5 % de probabilidade (TABELA 3) quando comparada com o tratamento controle utilizando a ureia como adubo nitrogenado em cobertura, ou seja, independentemente da dose de nitrogênio utilizada via farinha de sangue, o tratamento não afetou esses componentes de produção.

Tabela 3 – Médias dos componentes de produção do milho-verde em função de doses de farinha de sangue (FS) para as características de altura da planta (AP), altura de inserção da primeira espiga (AE) e diâmetro do colmo (DC). Ponta Porã, MS, 2021.

Doses de FS (kg ha ⁻¹ de N)	AP (m)	AE (m)	DC (mm)
0	1,49 ^{ns}	0,78 ^{ns}	20,42 ^{ns}
48	1,66 ^{ns}	0,92 ^{ns}	23,73 ^{ns}
96	1,65 ^{ns}	0,93 ^{ns}	24,21 ^{ns}
120	1,67 ^{ns}	0,96 ^{ns}	24,40 ^{ns}
144	1,61 ^{ns}	0,94 ^{ns}	23,66 ^{ns}
Ureia 120	1,66	0,94	24,94

^{ns} não diferem do controle pelo Teste de Dunnett a 5 % de probabilidade.

Fonte: Elaboração dos autores (2021).

Para o comprimento de espiga comercial, peso da espiga empalhada e despalhada e número de fileiras de grãos (TABELA 4), verificou-se que todas as doses de farinha de sangue não tiveram diferença com relação à adubação com ureia, indicando que independentemente da utilização das demais doses de farinha de sangue, estas tiveram resultados tão eficientes quanto a utilização da ureia, demonstrando a eficiência do emprego desta adubação.

Comparando as doses de N de farinha de sangue, observou-se o efeito significativo para o comprimento de espiga comercial, peso da espiga empalhada e despalhada e número de fileiras de grãos. Para os demais componentes de produção não houve efeito significativo (FIGURA 1).

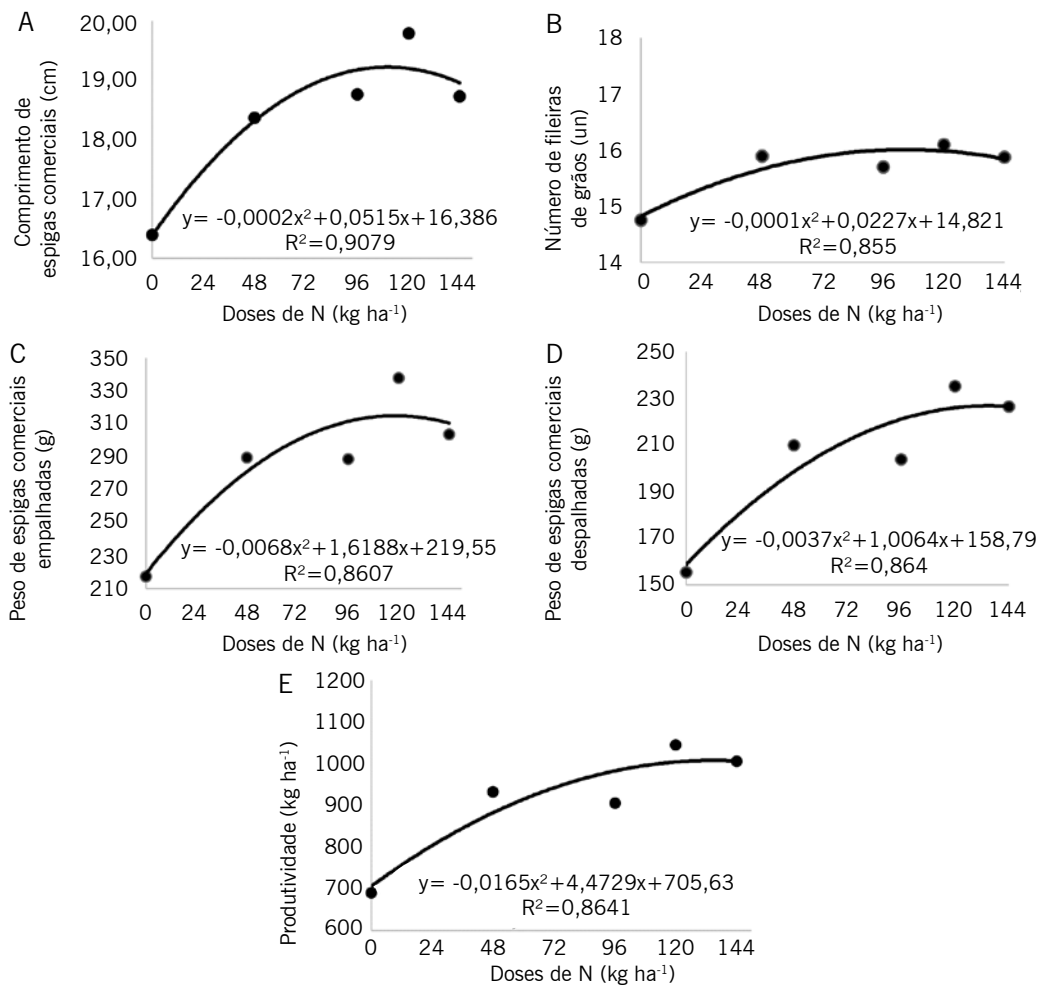
Tabela 4 – Médias dos componentes de produção do milho-verde em função de doses de farinha de sangue (FS) para as características de produtividade (PROD), comprimento da espiga comercial (CEC), diâmetro da espiga (DEC), peso da espiga comercial empalhada (PECE), peso da espiga comercial despalhada (PECD) e número de fileiras de grãos (FIL). Ponta Porã, MS, 2021.

Doses de FS (kg ha ⁻¹ de N)	PROD (kg ha ⁻¹)	CEC (cm)	DEC (mm)	PECE (g)	PECD (g)	FIL (un)
0	690,5 *	16,40*	42,63 ^{ns}	217,4*	155,4*	14,75*
48	932,8 ^{ns}	18,36 ^{ns}	45,76 ^{ns}	289,6 ^{ns}	209,9 ^{ns}	15,89 ^{ns}
96	906,1 ^{ns}	18,72 ^{ns}	44,51 ^{ns}	288,8 ^{ns}	203,9 ^{ns}	15,70 ^{ns}
120	1045,6 ^{ns}	19,78 ^{ns}	47,03 ^{ns}	338,0 ^{ns}	235,3 ^{ns}	16,10 ^{ns}
144	1006,3 ^{ns}	18,73 ^{ns}	46,73 ^{ns}	303,7 ^{ns}	226,4 ^{ns}	15,87 ^{ns}
Ureia 120	978,9	19,22	45,89	320,6	220,3	15,90

Médias seguidas de (*) diferem do controle pelo Teste de Dunnet a 5 % de probabilidade. Médias seguidas de (^{ns}) não diferem do controle pelo Teste de Dunnett a 5 % de probabilidade.

Fonte: Elaboração dos autores (2021).

Figura 1 – Regressão dos valores médios do (A) comprimento de espigas comerciais, (B) número de fileiras de grãos, (C) peso de espigas comerciais empalhadas, (D) peso de espigas despalhadas e (E) produtividade em função das doses de N, utilizando a farinha de sangue como adubo nitrogenado, Ponta Porã-MS, 2019.



*: equação significativa a 5% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaboração dos autores (2021).

O valor máximo para o comprimento de espigas comerciais foi de 19,7 cm com uma dose de 128 kg ha⁻¹ de N. Segundo Kappes *et al.* (2009), o comprimento médio de espiga, apesar de ser uma característica de alta herdabilidade e menor dependência do ambiente, é um dos componentes de produção que pode interferir diretamente no número de grãos por fileira e conseqüentemente na produtividade do milho.

Pereira Filho e Cruz (2002) afirmaram que o comprimento de espiga ideal para atender tanto aos interesses da indústria de envasamento quanto à produção para o uso “in natura” situa-se próximo a 20 cm, valor muito próximo do comprimento máximo a ser obtido com a adubação de 128 kg ha⁻¹ de N de farinha de sangue.

O maior número de fileira de grãos foi obtido de uma adubação de cobertura contendo 113 kg ha⁻¹ de N de farinha de sangue, com espigas contendo 16 fileiras de grãos. De acordo com Fancelli e Dourado Neto (2000), o número de fileiras de grãos define-se no estágio V8, fase em que a disponibilidade de nutrientes, especialmente de N, é muito importante, uma vez que este momento exige maior demanda desse nutriente pela planta, enfatizando a importância do manejo correto da adubação nitrogenada e a eficiência da utilização da farinha de sangue.

O peso máximo de espiga comercial empalhada e despalhada foi de 315,9 g e 227,2 g obtida com a aplicação de 119 kg ha⁻¹ e 136 kg ha⁻¹ de N de farinha de sangue, respectivamente. Os acréscimos médios do peso de espiga devido à aplicação de N foram de 45,2 % em espigas empalhadas e de 46,3 % para espigas despalhadas, quando comparadas à dose de 0 kg ha⁻¹ de N. Freire *et al.* (2010) também observaram também esse comportamento, em que verificaram a tendência no aumento do peso de espiga empalhada de acordo com o incremento de N, no qual maiores doses de nitrogênio proporcionaram maior volume de palha, devido ao fato de esse nutriente estar ligado diretamente ao crescimento e desenvolvimento vegetativo, o que também irá afetar a produção de espigas de milho-verde dado aos incrementos nos pesos médios das espigas. Segundo Damasceno *et al.* (2010), o peso de espigas empalhadas é muito importante para a comercialização do milho-verde, o qual é comercializado com palha por causa do seu uso culinário, o consumidor tende a escolher as espigas maiores e mais pesadas, tanto para o consumo “in natura” quanto para a indústria.

As doses de N influenciaram significativamente o aumento da produtividade, seu ponto de máxima produção foi de 1027 kg ha⁻¹ de espigas despalhadas com a dose de 113 kg ha⁻¹ (FIGURA 1). Dessa forma, a utilização da farinha de sangue foi tão eficiente quanto o uso da ureia como fonte nitrogenada. Freire *et al.* (2010) citaram que devido às particularidades do N, as recomendações das doses para os cultivos são baseadas em curvas de resposta obtidas localmente, em função da taxa de mineralização, do teor de matéria orgânica e da lixiviação do nitrato no solo e, em especial, pelo valor da precipitação pluvial no período de sua condução.

Para a análise de AACPD, não houve diferença entre as doses de nitrogênio quando comparada com o tratamento de testemunha utilizando a ureia como fonte de nitrogênio em cobertura (TABELA 5).

Tabela 5 – Médias das severidades e AACPD analisadas no milho-verde em função de doses de farinha de sangue (FS) e de ureia. Ponta Porã-MS, 2019.

Doses de FS (kg ha ⁻¹ de N)	Severidade em estádio VT (%)	Severidade em estádio R3 (%)	AACPD (%)
0	1,00 ^{ns}	2,05*	50,4 ^{ns}
48	0,9 ^{ns}	1,725 ^{ns}	47,1 ^{ns}
96	0,9 ^{ns}	1,675 ^{ns}	44,2 ^{ns}
120	0,9 ^{ns}	1,25 ^{ns}	35,6 ^{ns}
144	0,9 ^{ns}	1,25 ^{ns}	39,6 ^{ns}
Ureia 120	0,9	1,15	28,8

Médias seguidas de (*) diferem do controle pelo Teste de Dunnet a 5 % de probabilidade.

Médias seguidas de (^{ns}) não significativo.

Fonte: Elaboração dos autores (2021).

Segundo Silva (2002), o estabelecimento da doença sobre a planta após ter alcançado o estágio de maturação não acarreta danos expressivos, de tal modo o efeito da doença na produção varia de acordo com a época em que a planta foi infectada. Godoy *et al.* (2001) observaram no caso da mancha branca que a simples quantificação visual da severidade da doença não apresenta uma indicação exata do efeito do patógeno sobre o teor fotossintético do hospedeiro, uma vez que ocorre redução da eficácia fitossanitária não apenas no tecido lesionado, mas também em partes do tecido verde remanescente da folha infectada.

Para a severidade da doença, houve diferença significativa no tratamento testemunha em estágio de R3 (TABELA 5), na qual não foi realizada a adubação nitrogenada em cobertura, o que acarretou aumento na severidade da mancha branca. Segundo Durães *et al.* (2004), o uso de elevadas concentrações de adubação, como 200 kg ha⁻¹ de nitrogênio, diminuiu a incidência da doença, o que é também confirmado com o trabalho de Corrêa *et al.* (2007), que ressaltaram que o N interfere na severidade da mancha branca.

Conclusão

A utilização da farinha de sangue em cobertura na cultura do milho-verde é capaz de obter resultados similares à ureia a partir da dose de 48 kg ha⁻¹ de N. O máximo de produtividade foi obtido quando utilizada a dose de 112 kg ha⁻¹ de N de farinha de sangue em cobertura.

A cultura do milho responde positivamente ao aumento da dose de N utilizando a farinha de sangue para comprimento de espiga, peso de espiga empalhada, despalhada, fileiras de grãos de espigas comerciais e produtividade.

Não houve influência da farinha de sangue para a área abaixo da curva de progresso da doença da mancha branca na cultura do milho.

Blood meal as nitrogen source and its effect on disease severity on sweet corn

Abstract

A blood meal is a by-product of the meat processing industry and can be used as nitrogen fertilizer due to its minimum content of 10 % Nitrogen. The objective of this work was to evaluate the effect of doses of blood meal, such as nitrogen fertilizer in topdressing, on the production components and the severity of diseases in sweet corn. The experiment was developed at the Federal Institute of Education, Science and Technology of Mato Grosso do Sul (IFMS), Ponta Porã campus, in a Quartzarenic Neosol. The experimental design used was randomized blocks with five treatments of blood meal doses of (0 kg ha⁻¹; 48 kg ha⁻¹; 96 kg ha⁻¹; 120 kg ha⁻¹ and 144 kg ha⁻¹) and one treatment using urea for topdressing fertilization with 120 kg ha⁻¹ of N. The experiment analyzed the severity of white spot on the tasseling and milk grain stages and also the production components: plant height, insertion height of the first ear, stalk diameter, length of the unhusked commercial ears, diameter of unhusked commercial ears, number of grain row, weight of husked commercial ears, weight of unhusked commercial ears and productivity in kg ha⁻¹. The use of blood meal was as efficient as the use of urea as a nitrogen fertilizer for doses starting from 48 kg ha⁻¹, the maximum productivity was obtained when the dose of 112 kg ha⁻¹ of N blood meal was used. The severity of the white spot did not progress in treatments containing nitrogen fertilization in topdressing.

Keywords: Nitrogen fertilizer. Production components. White spot. *Zea mays*.

Referências

CARVALHO, D. O.; POZZA, E. A.; CASELA, C. R.; COSTA, R. V.; POZZA, A. A. A.; CARVALHO, C. O. Adubação nitrogenada e potássica na severidade da antracnose em dois cultivares de milho. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 3, p. 380-387, 2013. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-737X2013000300011. Acesso em: 29 jun. 2020.

DAMASCENO, T. M.; WINDER, A. R. da S.; NOGUEIRA, J. C. M.; DAMASCENO, M. M.; MENDES, J. C. da F.; DALLAPORTA, L. N. Influência do espaçamento de plantio de milho na produtividade de silagem. **XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo**, Goiânia, Goiás, 2010.

DURÃES, F. O. M.; MAGALHÃES, P. C.; MARRIEL, I. E.; GAMA, E. G.; CASELA, C. R.; OLIVEIRA, A. C.; CANTÃO, F. R. O. Caracterização de genótipos para uso e eficiência em de nitrogênio em milho e influência da adubação nitrogenada sobre a incidência e severidade de da mancha foliar de *maydis*. Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, p.8, 2004.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETTO, D. Produção de milho. **Guaíba: Agropecuária**, p. 320, 2000.

FREIRE, F. M.; VIANA, M. C. M.; MASCARENHAS, M. H. T.; PEDROSA, M. W.; COELHO, A. M.; ANDRADE, C. L. T. de. Produtividade econômica e componentes da produção de espigas verdes de milho em função da adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 9, n. 3, p. 213-222, 2010.

GODOY, C. V.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Alterações na fotossíntese e na transpiração de folhas de milho infectadas por *Phaeosphaeria maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 209-215, 2001

HUBER, D. M., THOMPSON, A. Nitrogen and plant disease. In: Nutrition mineral and plant disease. **The American Phytopathological Society**. Saint Paul. v. 1, p. 31-44, 2007. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/284757533_Nitrogen_and_plant_disease_In_Mineral_nutrition_and_plant_disease_Eds_LE_Datnoff_WH_Elmer_DM_Huber_The_American_Phytopathological_Society_St_Paul_Minnesota. Acesso em: 29 jun. 2020.

KAPPES, C.; CARVALHO, M. A. C. de.; YAMASHITA, O. M.; SILVA, J. A. N. da. KWIATKOWSKI, A.; CLEMENTE, E. Características do milho doce (*Zea mays* L.) para industrialização. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, 2007.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Editora Ceres, 2006. 631p.

MANFROI, E.; LANGHINOTTI, C.; DANELLI, A.; PARIZE, G. Controle químico de doenças foliares e rendimento de grãos na cultura do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 15, n. 2, p. 357-365, 2016. Disponível em: http://rbms.cnpms.embrapa.br/index.php/ojs/article/view/511/pdf_472. Acesso em: 29 jun. 2020.

MENDES, L. S.; TEBALDI, N. D. *Pantoea ananatis*: importância, isolamento, cultivo em meio de cultura, inoculação, sobrevivência, disseminação, penetração, colonização e controle para cultura do milho (*Zea mays* L.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 19, p. 386-399, 2011.

MIGUEL, T. A.; TAKAHASHI, H. W.; BERND, L. P.; MONTAGNER, T.; BORDINI, J. G.; OMORI, A. M.; HIROOKA, E. Y.; ONO, E. Y. S. Efeitos da fertilização nitrogenada na contaminação de milho por fungos e fumonisinas. **Biosaúde**, Londrina, v. 17, n. 1, 2015.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and earth system sciences discussions**, v. 4, n. 2, p. 439-473, 2007. Disponível em: <https://www.hydrol-earth-syst-sci.net/11/1633/2007/>. Acesso em: 29 jun. 2020.

PEREIRA FILHO, I. A.; CRUZ, J. C. Cultivares de milho para o consumo verde. Sete Lagoas: **Embrapa CNPMS**. Circular técnica n. 15, 2002.

RENUNCIO, A. **Avaliação de métodos de coleta de sangue em pequenos abatedouros do estado de Santa Catarina visando sua valorização para o consumo humano**. 1997. 45 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ, V. H. *Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais*: 5. Aproximação. Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. **How a Corn Plant Develops**. Special Report 48. Ames, IA Iowa State University. 21 p., 1993.

SACHS, P. J. D.; NEVES, C. C. S. V. J.; CANTERI, M. G.; SACHS, L. G. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha branca em milho. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 4, p. 202-204, 2011.

SANTOS, M. R.; SEDIYAMA, M. A. N.; SANTOS, I. C.; SALGADO, L. T.; SANZIO, S. M. Produção de milho-verde em resposta ao efeito residual da adubação orgânica do quiabeiro em cultivo subsequente. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n. 1, p. 77-83, 2011. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0034737X2011000100012&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 29 jun. 2020.

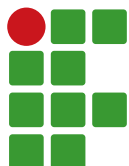
SILVA, H. P. Genética da resistência a *Phaeosphaerium maydis* em milho. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista. Tese (Doutorado). **Universidade Estadual Paulista**, Jaboticabal, 105f, 2002.

SORATTO, R. P.; PEREIRA, M.; COSTA, M. T.; LAMPERT, V. N. Fontes alternativas e doses de nitrogênio no milho safrinha em sucessão à soja. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 4, p. 511-5518, 2010. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-66902010000400002. Acesso em: 29 jun. 2020.

VELOSO, M. E. C.; DUARTE, S. N.; DOURADO NETO, D.; MIRANDA, J. H.; SILVA, E. C.; SOUZA, V. F. Doses de nitrogênio na cultura do milho, em solos de várzea, sob sistema de drenagem subterrânea. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 5, n. 3, p. 382-394, 2006. Disponível em: <http://rbms.cnpms.embrapa.br/index.php/ojs/article/view/200/200>. Acesso em: 29 jun. 2020.

Submetido: 29/06/2020

Aceito: 17/09/2020



Inibição do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* na presença de diferentes concentrações de sorbato de potássio

Fernanda Engel¹

Antônio Azeredo Coutinho Neto²

Resumo

Um dos grandes problemas do cultivo vegetal *in vitro* é causado por contaminações como as fúngicas, que representam grandes perdas para os laboratórios de cultivo vegetal. Diante da problemática acerca das contaminações e das lacunas em protocolos eficientes de desinfecção, o presente estudo teve como objetivo avaliar a inibição do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* na presença do conservante alimentar Sorbato de Potássio em diferentes concentrações (T1: controle, T2: 0,076 g L⁻¹; T3: 0,15 g L⁻¹; T4: 0,30 g L⁻¹; T5: 0,45 g L⁻¹; T6: 0,60 g L⁻¹ e T7: 0,75 g L⁻¹). Quantificaram-se as análises da Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial (PIC) e o crescimento em 24 e 72 horas em diferentes concentrações. Observou-se que o Sorbato de Potássio foi efetivo na análise de PIC nas diferentes concentrações com relação ao controle, com maior efetividade para o T4 a T7. As maiores porcentagens de inibição (T5 a T7) tiveram uma taxa de inibição média de 17,5 % em relação ao controle para o período de 72 h, indicando, portanto, que com mais estudos este conservante pode ser utilizado no combate a microrganismos fúngicos no cultivo *in vitro*.

Palavras-chave: Inibição de microrganismos. Contaminação *in vitro*. Inibição fúngica. Crescimento micelial. Conservante alimentar.

Introdução

O desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas de manipulação vegetal *in vitro* contribuem com a produção de espécies vegetais em larga escala e em todas as épocas do ano (LEIFERT; CASSELS, 2003). Estas técnicas consistem na produção de clones de uma planta a partir de um explante, sendo que a completa regeneração de um fragmento a uma planta completa está fundamentada no princípio da totipotência celular e ao final se obterá uma planta que apresentará a mesma constituição genotípica daquela que lhe deu origem (TORRES *et al.*, 2000).

Apesar de inúmeras vantagens encontradas na produção *in vitro* em larga escala, alguns problemas ainda não foram totalmente ou seguramente resolvidos, como é o caso das contaminações, que ocasionam grandes perdas de material vegetal e que constituem possivelmente o principal problema encontrado na cultura de tecidos (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; LEIFERT; MORRIS; WAITES, 1994; CASSELS, 2000b). As contaminações podem ocorrer por fungos, leveduras, bactérias, vírus e ainda por parte do operador que manipula o material vegetal (GEORGE, 1993; CASSELS, 2000a). Deste modo, para inibir ou minimizar o problema advindo das contaminações, inúmeros procedimentos e protocolos de

1 Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI). Estudante de Pós Graduação (Doutorado em Ciência e Tecnologia Ambiental). fernanda_engel@hotmail.com.

2 Universidade de São Paulo (USP). Estudante de Pós Graduação (Mestrado em Ciências Biológicas). antonioacneto@biologo.bio.br.

desinfecção são utilizados nos laboratórios de micropropagação *in vitro* (YEPES; ALDWINCKLE, 1994; PIERIK, 1997; VIANA *et al.*, 1997; PASQUAL, 2001; HIRATA; MANCINI-FILHO, 2002; COLOMBO *et al.*, 2004; EMMANUEL *et al.*, 2004).

Uma possibilidade diante da problemática das contaminações é o uso de conservantes alimentares, como é o caso do Sorbato de Potássio ($C_6H_7O_2K$), adicionados ao meio de cultura, tendo em vista que este já é utilizado largamente em diversos alimentos, cosméticos e farmacêuticos para a contenção de microrganismos deteriorantes tais como fungos e seus esporos, bactérias e leveduras (OLIVIER *et al.*, 1998; SUHR; NIELSEN, 2004; GUYNOT *et al.*, 2005; BRASIL, 1999; ESFANDIARI *et al.*, 2013), sendo considerado um produto com ação dose dependente (OLIVIER *et al.*, 1998; FAGUNDES *et al.*, 2013). Possui uma temperatura de decomposição acima de 270 °C, o que favorece o seu uso em meios de cultivo em virtude de sua prévia esterilização (SOFOS, 1995). Sua ação inibitória tem sido atribuída à inibição de enzimas, podendo a substância se acumular na membrana citoplasmática dos microrganismos, interferindo no transporte de substratos e na forforilação oxidativa, resultando no não crescimento micelial e sua esporulação (FREESE; SHEU; GALLIERS, 1973; SOFOS, 1995; FALLIK *et al.*, 1997; PALMER; HORST; LANGHANS, 1997; HEYDARYINIA; VEISSI; SADADI, 2011). Alguns estudos tem demonstrado sua eficácia em plantações, ou seja, na condição *in vivo* (DELIOPOULOS; KETTLEWELL; HARE, 2010; MECTEAU; ARUL; TWEDDELL, 2002), e estudos que utilizam o Sorbato de Potássio ou seus derivados como inibidores de microrganismos *in vitro* são escassos. Em virtude desta lacuna, este artigo teve como objetivo avaliar a inibição de um fungo (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Briosi & Cavara 1889 em presença de diferentes concentrações de sorbato de potássio, com vistas no seu uso no cultivo vegetal *in vitro*.

Material e métodos

Escolha do conservante alimentar Sorbato de Potássio

A escolha deste conservante alimentar foi devido ao fato do mesmo já ser utilizado na área alimentícia, cosmética e farmacêutica, possuir fácil obtenção, ter um custo acessível e possuir temperatura de decomposição acima de 270°C e desta forma, se manter estável durante o processo de autoclavagem, bem como apresentar uma versatilidade quanto ao largo espectro de microrganismos cujo crescimento é inibido (BRASIL, 1999; GUYNOT *et al.*, 2005; ESFANDIARI *et al.*, 2013), tendo em vista a gama de microrganismos que ocorrem *in vitro* e, ainda, por apresentar baixos níveis de toxicidade humana, apresentando dose letal mediana de 500g em um adulto (OLIVIER *et al.*, 1998).

Isolamento, escolha e meio de cultura do fungo *C. lindemuthianum*

O fungo fitopatogênico *C. lindemuthianum* foi isolado de lesões existentes no feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Pequenos fragmentos esterilizados das lesões foram coletados e inoculados no centro de placas com meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA), 20 mL e mantidos no escuro a 25 ± 2 °C por 72 horas. Após o isolamento e crescimento nas placas, o fungo foi utilizado nos tratamentos.

A escolha do presente fungo foi pela sua facilidade de isolamento e cultivo, bem como pela literatura mostrar que fungos do gênero *Colletotrichum* infectam várias culturas e algumas são causadoras da doença Antracnose (MUNCH *et al.*, 2008; DAMM *et al.*, 2010). Além das infecções que podem ser observadas na condição *ex vivo*, tais fungos também podem infectar explantes quando inoculados *in vitro* nas mais diferentes espécies de plantas, tornando este fungo bastante recorrente no cultivo *in vitro* (HORNER; AUGUSTIN; FORCELINI, 2001; MARTIN *et al.*, 2003), aproveitando-se do meio nutritivo para seu desenvolvimento (KRISHNA; SINGH, 2007; ANDRADE *et al.*, 2008).

Concentrações de Sorbato de Potássio

Foram feitos meios de cultivo com 6 diferentes concentrações de Sorbato de Potássio da marca Adicel, além do controle. Assim obtiveram-se os seguintes tratamentos: T1: controle; T2: 0,076 g. L⁻¹; T3: 0,15 g. L⁻¹; T4: 0,30 g. L⁻¹; T5: 0,45 g. L⁻¹; T6: 0,60 g. L⁻¹ e T7: 0,75 g. L⁻¹. Estas concentrações basearam-se em trabalhos próprios anteriores que utilizaram o mesmo conservante alimentar no cultivo *in vitro*, e os resultados demonstraram que concentrações acima de 0,75 g. L⁻¹ provocaram a completa oxidação do explante e posterior morte, e deste modo, seu uso ficaria inviável para contenção dos microrganismos para os fins de cultivo.

Estes meios também foram esterilizados ($121 \pm 1^\circ\text{C}$ e 1,1 atm) por 15 minutos em autoclave (Prismatec 18L) e, em seguida, foram colocados em placas de Petri de 9 cm de diâmetro (20 mL por placa) em câmara de fluxo laminar. Foram feitas 3 placas para cada tratamento.

Efeito da inibição do crescimento micelial do fungo *C. lindemuthianum*

Com o auxílio de um furador de 5 mm, obteve-se fragmentos uniformes de 5 mm de diâmetro de meio BDA com os micélios do fungo em crescimento após 72 h do isolamento previamente descrito (MENTEN *et al.*, 1976). Estes discos de meio de cultura contendo os micélios foram inseridos no centro de três placas para cada um dos tratamentos e em três placas sem a presença do sorbato de potássio (controle).

Após a inoculação dos discos, as placas permaneceram em sala de crescimento a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12 h por um tempo total de 72 h, tendo em vista que acima deste tempo a placa controle atinge a margem máxima de crescimento dentro do meio de cultura. Realizou-se a medição do diâmetro médio radial do crescimento do fungo a cada 24 horas. A capacidade em Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial (PIC) foi verificada através da equação descrita por Edgington, Khew e Barron (1971), com modificações sugeridas por Menten *et al.* (1976).

O crescimento radial do fungo foi mensurado sempre no mesmo eixo durante o período analisado, tomando como ponto referencial o centro da amostra inoculada no tempo zero. Inferiu-se a partir do centro amostral à borda do crescimento micelial, todos os dias no mesmo horário. Foi demarcado o centro do disco amostral de 5 mm, além disso, foi demarcada sempre a mesma posição para a amostragem dos valores do crescimento micelial até a borda dos micélios ao longo do tempo de teste.

Estatística

Os dados foram logaritimizados para normalização dos valores e submetidos à análise estatística de variância através do Teste de Tukey e ANOVA de um fator no programa estatístico R (OKSANEN; KINDT; BLANCHET, 2013 - R core Team 2014). A representação dos dados foi feita através de gráficos com as médias das triplicatas de cada tratamento e controle, juntamente com o erro padrão das amostras no programa Graphpad Prism Version 5.0.

Resultados e discussão

As diferentes concentrações de sorbato de potássio testadas sobre a porcentagem de inibição micelial, crescimento total (72 h) e taxa de crescimento diário (24 h) demonstraram diferenças significativas ($p < 0,001$) de acordo com a Tabela 1, evidenciando essas diferenças entre o início da inoculação e até as 72 h de cultivo.

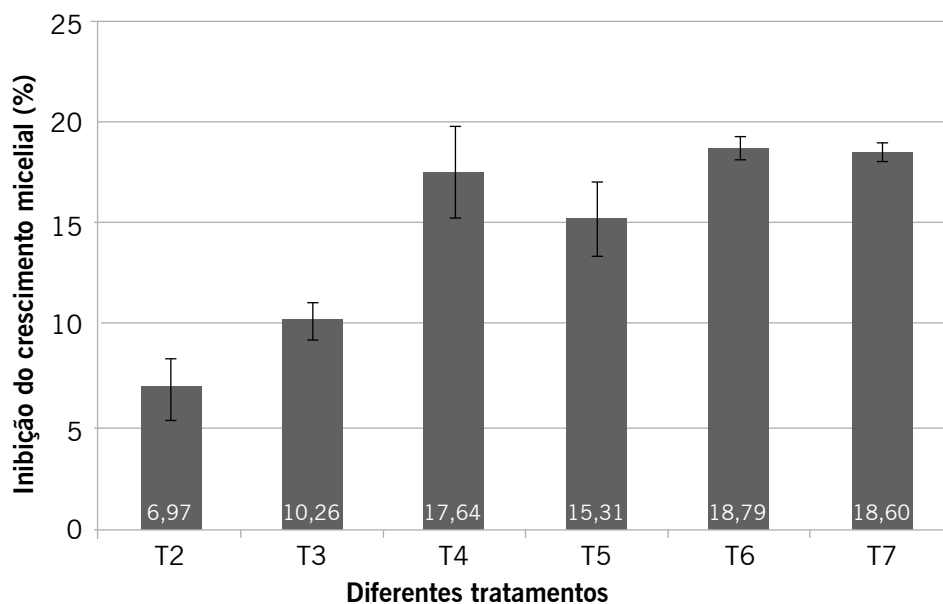
Tabela 1 – Dados referentes à comparação de médias (Tukey) em relação à significância da inibição do crescimento micelial, inibição do crescimento após as 72 h de incubação e a cada 24 h.

Variação	Tratamentos		
	d.f	F	P
Inibição do crescimento micelial	9	35.15	0,000000919
Crescimento após 72 horas de incubação	6	67.95	0,00000000151
Crescimento a cada 24 horas	6	67.95	0,00000000151

Fonte: Elaborado pelos autores na Universidade de São Paulo (2019).

O Sorbato de Potássio é usado para o controle de diferentes espécies fúngicas e seus esporos, com eficácia em algumas concentrações específicas, e sua ação antifúngica tem sido atribuída à inibição de enzimas, interferência no transporte de substratos e na etapa de fosforilação oxidativa (FREESE; SHEU; GALLIERS, 1973; SOFOS, 1995). Sua eficácia também está diretamente relacionada com o pH, sendo que os meios ácidos causam maior inibição no desenvolvimento de fungos, bactérias e leveduras (SOFOS, 1995).

Na Figura 1 é possível verificar que nas menores concentrações (0,076 g L⁻¹ e 0,15 g L⁻¹) houve uma menor inibição do crescimento micelial do fungo *C. lindemuthianum* após 72 h de cultivo *in vitro*, sendo que as maiores porcentagens de inibição ocorreram nas maiores concentrações, sendo 0,30 g L⁻¹; 0,45g L⁻¹; 0,60 g L⁻¹ e 0,75 g L⁻¹ do conservante Sorbato de Potássio.

Figura 1 – Porcentagem de inibição média do crescimento micelial do fungo *C. lindemuthianum* após 72 h de cultivo *in vitro* sob diferentes concentrações de Sorbato de Potássio.

Fonte: Elaborado pelos autores na Universidade de São Paulo (2019).

Alguns poucos estudos e/ou relatórios informam que este conservante é eficaz em concentrações entre 0,5 g L⁻¹ e 3 g L⁻¹ (BRASIL, 1999), não fornecendo a porcentagem de inibição nem mais informações. Mecteau, Arul e Tweddell (2002) realizaram um estudo analisando os diferentes efeitos de sais orgânicos e inorgânicos contra o fungo fitopatogênico *Fusarium sambucinum* causador da podridão em tubérculos de batata. Ao analisar o crescimento micelial e a germinação de esporos,

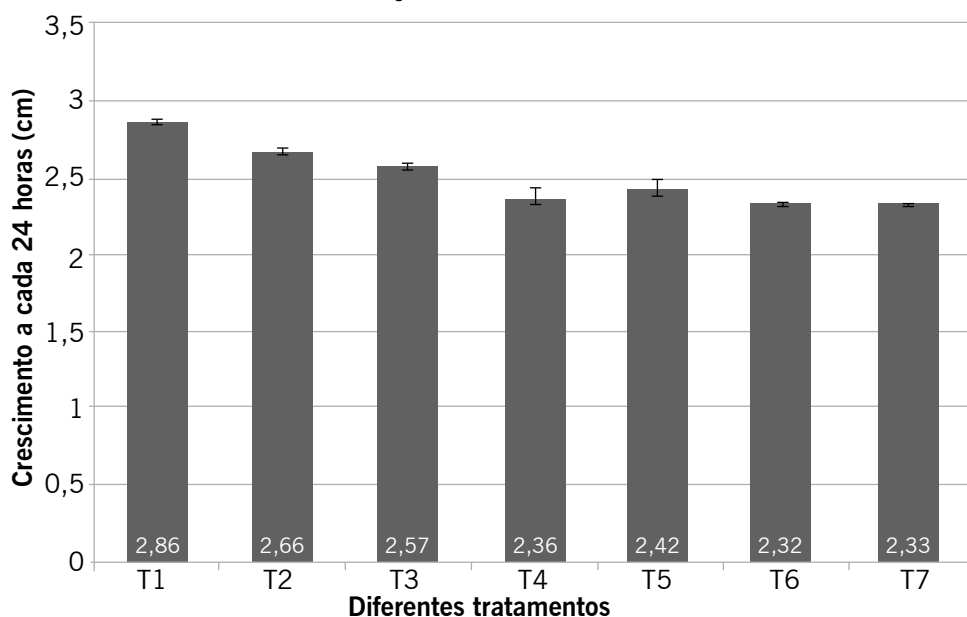
o presente estudo constatou taxas de inibição de 100 % para ambas as condições, ao utilizar a concentração de 30 g L⁻¹ em 24 h de experimento. No presente artigo, na concentração mais elevada (0,75 g L⁻¹), ocorreu uma taxa de inibição de 18,6 % e proporcionalmente a taxa de inibição foi maior, tendo em vista que a concentração utilizada foi menor, bem como o tempo de exposição foi maior (72 h). Embora seja também um fungo fitopatogênico, fica evidenciado que as respostas a nível de concentração variam bastante de um organismo para outro e que concentrações altas aumentam o efeito conforme esperado de um produto dose dependente.

Al Zaemey, Magan e Thompson (1993) verificaram que o Sorbato de Potássio foi eficiente em suprimir completamente o patógeno da banana *Colletotrichum musae* na concentração de 1,25 g L⁻¹ em condições *in vitro*. A maior concentração usada no presente artigo foi de 0,75 g L⁻¹ e esta não foi eficiente em suprimir completamente o presente fungo fitopatogênico pertencente ao mesmo gênero, e isso pode ter ocorrido pela diferença da concentração, que é cerca de 1,6 vezes maior do que a utilizada no presente artigo.

Verificou-se também que na concentração de 1.000 mg L⁻¹ ocorreu 95 % de inibição de fungos que causam a sinusite quando utilizado o Sorbato de Potássio *in vitro*. A concentração mais elevada do presente estudo foi de 750 mg L⁻¹, e a inibição foi bem menor quando comparada com este estudo, tendo em vista, desta vez, nenhuma semelhança quanto ao gênero das espécies testadas (ALSUDANI, 2017).

Com o acompanhamento do crescimento micelial a cada 24 h, observou-se diferença no ganho em centímetros nos intervalos do crescimento total até que a placa fosse coberta com micélios do fungo ao final das 72 h de cultivo. Observaram-se médias menores de crescimento nos dois primeiros tratamentos com 0,076 g L⁻¹ e 0,15 g L⁻¹ (T2 e T3) com relação ao controle e médias de crescimento ainda menores nas concentrações de 0,30 g L⁻¹; 0,45 g L⁻¹; 0,60 g L⁻¹ e 0,75 g L⁻¹ (T4 a T7) de Sorbato de Potássio por litro de meio de cultura BDA (FIGURA 2), evidenciando que as concentrações mais elevadas de Sorbato de Potássio promoveram uma taxa média de crescimento menor.

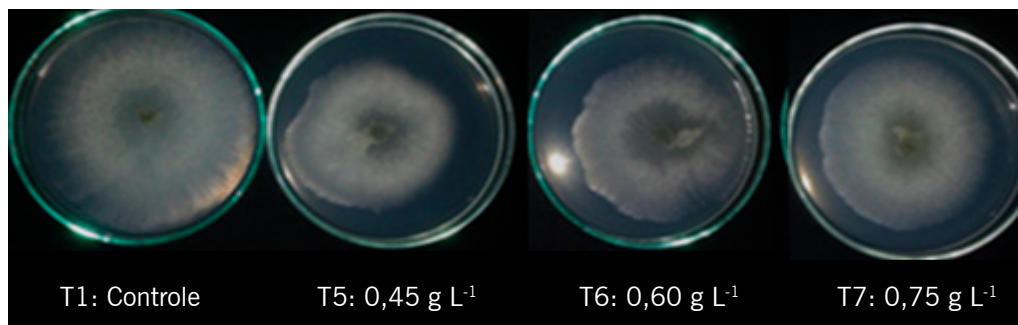
Figura 2 – Crescimento médio em diâmetro (centímetros) do fungo do *C. lindemuthianum* em condição *in vitro* no intervalo de 24 h sob diferentes concentrações de Sorbato de Potássio.



Fonte: Elaborado pelos autores na Universidade de São Paulo (2019).

Verificou-se também que após 72 h do cultivo *in vitro* o fungo *C. lindemuthianum* chegou a colonizar 90 % da placa no T1 (controle) e nas concentrações mais elevadas (T5 a T7: 0,45 g L⁻¹, 0,60 g L⁻¹ e 0,75 g L⁻¹) tal colonização chegou a 70 %, ocasionando, portanto, redução da colonização da placa de 20 % (FIGURA 3).

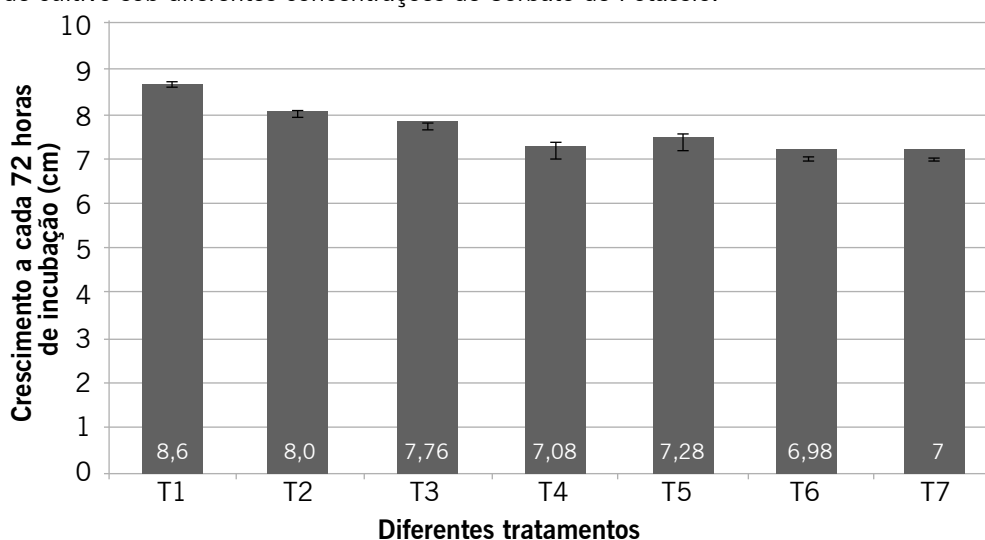
Figura 3 – Comparação do crescimento micelial após 72 h de cultivo *in vitro* das placas T1, T5, T6 e T7 respectivamente, evidenciando a diminuição da colonização do fungo *C. lindemuthianum* em presença de Sorbato de Potássio.



Fonte: Elaborado pelos autores na Universidade de São Paulo (2019).

Estes resultados foram obtidos a partir da média do crescimento total do presente fungo após as 72 h de cultivo (FIGURA 4).

Figura 4 – Comparação do crescimento micelial médio em diâmetro (centímetros) do fungo *C. lindemuthianum* após 72 h de cultivo sob diferentes concentrações de Sorbato de Potássio.



Fonte: Elaborado pelos autores na Universidade de São Paulo (2019).

Salienta-se que, embora a placa tenha sido colonizada pelo fungo mesmo na concentração mais elevada de Sorbato de Potássio (0,75 g L⁻¹), é de conhecimento que quando se manipula um explante no cultivo *in vitro* a contaminação ocorre em proporções muito menores das praticadas no presente estudo, tendo em vista todos os processos de assepsia que são realizados previamente conforme estudos (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; MORAES *et al.*, 2007). Deste modo, sugere-se que com a assepsia

realizada previamente e com os demais cuidados que devem ser adotados durante os cultivos e as fases seguintes de multiplicação (repiques), a porcentagem de inibição certamente pode ser muito acima dos 20 % observados, podendo até mesmo resultar em um material livre de contaminação.

Já se sabe que existem diversas alternativas no controle das contaminações fúngicas no cultivo *in vitro*, como os citados anteriormente e com relação ao seu uso nos meios de cultivo, estudos revelaram que o uso de alguns fungicidas tais como Benomil, Clorotalonil e Azoxistrobina demonstraram efeitos letais para explantes de uma espécie de orquídea e eucalipto até mesmo nas concentrações mais baixas estudadas, evidenciando também suas características tóxicas para o ambiente (WATT; GAUNTLETT; BLAKEWAY, 1996; ODA *et al.*, 2003), e, portanto, o Sorbato de Potássio pode vir a somar como uma estratégia no combate a fungos observados *in vitro*, pelas características já apresentadas.

Desta forma, tendo em vista que ainda existem algumas lacunas nos processos de desinfecção para multiplicação *in vitro*, bem como riscos e inviabilidade em se utilizar fungicidas comerciais para o combate das contaminações fúngicas *in vitro*, o conservante alimentar Sorbato de Potássio pode ser um produto a ser utilizado no controle do desenvolvimento de fungos em culturas vegetais em estágio de multiplicação *in vitro*, haja vista os resultados apresentados, podendo auxiliar em uma diminuição significativa de perdas de material vegetal em virtude da contaminação, o que, em alguns casos, pode causar o insucesso da multiplicação *in vitro* de espécies vegetais com consequente perda comercial, bem como a inviabilidade destes laboratórios de cultivo celular *in vitro* (CASSELS, 1991; CASSELLS, 1997).

Conclusões

Os tratamentos de T4 a T7 tiveram desempenhos de inibição estatisticamente iguais e superiores em relação aos tratamentos T2 e T3. As maiores porcentagens de inibição ocorreram do T5 ao T7, com taxa de inibição média de 17,5 % para o período de 72 h, embora o aumento de concentração de Sorbato de Potássio ocasionou também uma maior porcentagem de inibição, independentemente do tempo, em todos os tratamentos.

O presente estudo indicou que o Sorbato de Potássio pode fornecer um controle do fungo *C. lindemuthianum*, e, no entanto, mais informações sobre suas atividades antifúngicas no combate de microrganismos *in vitro* correlacionadas com o cultivo celular vegetal precisam ser elucidadas.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelas bolsas concedidas durante a realização desta pesquisa.

Inhibition of the fungus *Colletotrichum lindemuthianum* in the presence of different potassium sorbate concentrations.

Abstract

One of the major problems of *in vitro* plant cultivation is caused by contaminations such as fungal, which represent great losses for plant cultivation laboratories. In view of the problem about contamination and gaps in efficient disinfection protocols, the present study aimed to evaluate the inhibition of the

fungus *Colletotrichum lindemuthianum* in the presence of the potassium sorbate food preservative at different concentrations (0 g L⁻¹; 0.076 g L⁻¹; 0.15 g L⁻¹; 0.30 g L⁻¹; 0.45 g L⁻¹; 0.60 g L⁻¹ and 0.75 g L⁻¹). The analyses of the Percentage of Micelial Growth Inhibition (ICP) and the growth at 24 hours and 72 hours at different concentrations were quantified. It was observed that Potassium Sorbate was effective in the analysis of ICP at different concentrations in relation to control, with greater effectiveness for T4 to T7. The highest percentages of inhibition (T5 to T7) presenting an inhibition rate of mean mycelial growth of 17.5 % in relation to the control for the 72 h period, indicating, therefore, that with further studies this preservative can be used to combat fungal microorganisms *in vitro* culture.

Keywords: Inhibition. Microorganism. In vitro contamination. Fungal inhibition. Mycelial growth. Food preservative.

Referências

AL ZAEMEY, A. B.; MAGAN, N.; THOMPSON, A. K. Studies on the effect of fruit-coating polymers and organic acids on growth of *Colletotrichum musae* in vitro and on postharvest control of anthracnose of bananas. **Mycological Research**, v. 97, n. 12, p. 1463-1468, 1993. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80218-9](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80218-9).

ALSUDANI, A. A. In vitro antifungal effect of potassium sorbate and sodium benzoate on the growth of fungi causing sinusitis. **African Journal of Microbiology Research**, v. 11, n. 6, p. 232-236, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8414>.

ANDRADE, S. R. M.; OLIVEIRA, W. C.; REIS JUNIOR, F. B.; CHARCHAR, M. J. D. A.; FALEIRO, F. G.; MEHTA, A.; PEIXOTO, J. R. **Controle do crescimento e identificação de microrganismos contaminantes visando à micropropagação de gemas laterais de mangueira**. Planaltina: Embrapa Cerrados. 2008. 28p.

BRASIL. Resolução RDC n.389, de 05 de agosto de 1999. 16: bebidas - subcategoria 16.2.2 - bebidas não alcoólicas gaseificadas e não gaseificadas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Distrito Federal, Brasil. Seção 1. 45-53.

CASSELLS, A. C. **Contamination and its impact in tissue culture. IV International symposium on in vitro culture and horticultural breeding**, 560, 2000a.

CASSELLS, A. C. 1991. Problems in tissue culture: culture contamination. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Ed.). **Micropropagation: technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p. 31-44.

CASSELLS, A. C. Aseptic microhydroponics: a strategy to advance microplant development and improve microplant physiology. *Acta Horticulturae*, v. 530, p. 187-194, 2000b. DOI: 10.17660/ActaHortic.2000.530.21.

CASSELLS, A. C. **Pathogen and microbial contamination management in micropropagation**. Dordrecht: Springer, 1997. 371 p.

COLOMBO, L. A.; FARIA, R. T.; CARVALHO, J. F. R. P.; ASSIS, A. M.; FONSECA, I. C. B. Influência do fungicida clorotalonil no desenvolvimento vegetativo e enraizamento in vitro de duas espécies

de orquídeas brasileiras. **Acta Horticulturae**, v. 26. n. 2, p. 253-258, 2004. DOI: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v26i2.1893>.

DAMM, U.; BARONCELLI, R.; CAI, L.; KUBO, Y.; O'CONNELL, R.; WEIR, B.; CANNON, P. F. *Colletotrichum*: species, ecology and interactions. **IMA Fungus**, v. 1, n. 2, p. 161-165, 2010. DOI: [10.5598/imafungus.2010.01.02.08](https://doi.org/10.5598/imafungus.2010.01.02.08).

DELIOPOULOS, T.; KETTLEWELL, P. S.; HARE, M. C. Fungal disease suppression by inorganic salts: A review. **Crop Protection**, v. 29, p. 1059-1075, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.05.011>.

EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L & BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazoles compounds. **Phytopathology**, v. 61, p. 42-44, 1971.

EMMANUEL, E.; HECK, G.; BLANCHARD, J.; VERMANDE, P.; PERRODIN, Y. Toxicological effects of disinfestations using sodium hypochlorite on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital wastewater. **Environment Internacional**, v. 30, p. 891-900, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.02.004>.

ESFANDIARI, Z.; BADIEY, M.; MAHMOODIAN, P.; SARHANG-POUR, R.; YAZDANI, E.; MIRLOHI, M. Simultaneous determination of sodium benzoate, potassium sorbate and natamycin content in Iranian yoghurt drink (Doogh) and the associated risk of their intake through Doogh consumption. **Iranian Journal of Public Health**, v. 42, p. 915-920, 2013.

FAGUNDES, C.; PÉREZ, M. B.; MONTEIRO, A. R.; PALOU, L. Antifungal activity of food additives in vitro and as ingredients of hydroxypropyl methylcellulose lipid edible coatings against *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata* on cherry tomato fruit. **International Journal of Food Microbiology**, v. 166, p. 391-398, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.08.001>.

FALLIK, E.; ZIV, O.; GRINBERG, S.; ALKALAI, S.; KLEIN, J. D. Bicarbonate solutions control powdery mildew (*Leveillula taurica*) on sweet red pepper and reduce the development of postharvest fruit rotting. **Phytoparasitica**, v. 25, p. 41-43, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02981478>.

FREESE, E.; SHEU, C. W.; GALLIERS, E. Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives. **Nature**, v. 241, p. 321-325, 1973. DOI: <https://doi.org/10.1038/241321a0>.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. 2. ed. Edington: Exegetics, 1993. 574p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa/SPI, 1998. p. 183-260.

GUYNOT, M. E.; RAMOS, A. J.; SANCHIS, V.; MARIN, S. Study of benzoate, propionate, and sorbate salts as mould spoilage inhibitors on intermediate moisture bakery products of low pH (4.5- 5.5). **International Journal of Food. Microbiology**, v. 101, p. 161-168, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.11.003>.

HEYDARYINIA, A.; VEISSI, M.; SADADI, A. A comparative study of the effects of the two preservatives, sodium benzoate and potassium sorbate on *Aspergillus niger* and *Penicillium notatum*. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 4, n. 4, p. 301-307, 2011.

HIRATA, M. H.; MANCINI-FILHO, J. **Manual de biossegurança**. Barueri: Manole, 2002. 496p.

HORNER, L. de A.; AUGUSTIN, L.; FORCELINI, C. A. Estudo do desenvolvimento e identificação dos agentes contaminantes da erva-mate cultivada in vitro. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA MATE, 2.; REUNIÃO TÉCNICA DA ERVA MATE, 3. 2000. Encantado. **Anais...** Porto Alegre: Comissão dos Organizadores; Universidade do Rio Grande do Sul; Fundação de Pesquisa Agropecuária, 2001. p. 453-456.

KRISHNA, H.; SINGH, S. K. Biotechnological advances in mango (*Mangifera indica* L.) and their future implications in crop improvement – A review. **Biotechnology Advances**, v. 25, p. 223-243, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.01.001>.

LEIFERT, C.; CASSELLS, A. C. Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. **In vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, v. 37, p. 133-138, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11627-001-0025-y>.

LEIFERT, C.; MORRIS, C. E.; WAITES, W. M. Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field grown plants: reason for contamination problems in vitro. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 13, p. 139-183, 1994. DOI: <https://doi.org/10.1080/07352689409701912>.

MARTIN, M. C.; SUAREZ, M. A.; PÉREZ, A. C.; MICHEL, L. M.; CAPÓ Y. A. Efecto del carbendazim para el control de *Colletotrichum* sp., contaminante del establecimiento in vitro de callos de café. **Biotecnología Vegetal**, v. 3, n. 2, p.111-113, 2003.

MECTEAU, M. R.; ARUL, J.; TWEDDELL, R. J. Effect of organic and inorganic salts on the growth and development of *Fusarium sambucinum*, a causal agent of potato dry rot. **Mycology Research**, v. 106, n. 6, p. 688-696, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0953756202005944>.

MENTEN, J. O. M.; MACHADO, C. C.; MUNISSI, E.; CASTRO, C.; KIMATI, H. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid “in vitro”. **Fitopatologia Brasileira**, v. 1, p. 57-66, 1976.

MORAES, R. M.; CALDAS, L. S.; SILVEIRA, C. E. S.; SOUZA, A. V.; BERTONI, B. W.; PEREIRA, A. M. S. Micropropagação e Banco de Germoplasma “in vitro” para produção e conservação de plantas nativas do Cerrado. In: PEREIRA, A. M. S. (Ed.). **Recursos genéticos e conservação de plantas medicinais do Cerrado**. Ribeirão Preto: Editora Legis Summa, 2007. v. 1, p. 185-214.

MUNCH, S.; LINGNER, U.; FLOSS, D. S.; LUDWIG, N.; SAUER, N.; DEISING, H. B. The hemibiotrophic lifestyle of *Colletotrichum* species. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, n. 1, p. 41-51, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.06.008>.

ODA, M. L.; FARIA, R. T.; FONSECA, I. C. B.; SILVA, G. L. Avaliação da fitotoxicidade de fungicidas e germicidas na propagação in vitro de *Oncidium varicosum* Lindl. (Orchidaceae) para o controle de microrganismos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n. 2, p. 273-276, 2003.

OKSANEN, J.; KINDT, R.; BLANCHET, F. G. 2013 Vegan: community ecology package. R package version 2.0-9. Disponível em: <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>. Acesso em: 26 jan. 2021.

OLIVIER, C.; HALSETH, D. E.; MIZUBUTI, E.; LORIA, R. Postharvest application of organic and inorganic salts for suppression of silver scurf on potato tubers. **Plant Disease**, v. 82, p. 213-217, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.2.213>.

PALMER, C. L.; HORST, R. K.; LANGHANS, R. W. Use of bicarbonates to inhibit in vitro colony growth of *Botrytis cinerea*. **Plant Disease**, v. 81, p. 1432-1438, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.12.1432>.

PASQUAL, M. **Meios de cultura**. Lavras: UFLA-FAEPE, 2001. 74p.

PIERIK, R. L. M. **In vitro culture of higher plants**. 1a ed. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1997. 348p.

R Core Team. 2014. R: a language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. Acesso em: 26 jan. 2021.

SOFOS, J. N. Antimicrobial agents. In: MAGA, J. A.; TU, A. T. (Eds.). **Food additive toxicology**. Marcel Dekker, New York, United States, 1995. p. 501-529.

SUHR, K. I.; NIELSEN, P. V. Effect of weak acid preservatives on growth of bakery product spoilage fungi at different water activities and pH values. **International Journal of Food Microbiology**, v. 95, p. 67-78, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.02.004>.

TORRES, A.C.; FERREIRA, A. T.; SÀ, F. G. de.; BUSO, J. A.; CALDAS, L. S.; NASCIMENTO, A. S.; BRIGIDO, M. de M.; ROMANO, E. 2000. **Glossário de biotecnologia vegetal**. Embrapa Hortaliças, Brasília, 128p.

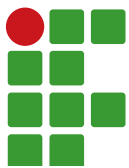
VIANA, G. R. COUTO, F. A. A.; OLIVEIRA, A. B.; ZAMBOLIM, L.; MARIA, J. A rifampicina na descontaminação bacteriana de explantes de mamoeiro provenientes do campo. **Bragantia**, v. 56, p. 249-254, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0006-87051997000200003>.

WATT, M. P.; GAUNTLETT, B. A.; BLAKEWAY, F. C. Effect of anti-fungal agents on in vitro cultures of *Eucalyptus grandis*. **South African Forestry Journal**, v. 175, n.1, p. 23-27, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1080/00382167.1996.9629889>.

YEPES, M. L.; ALDWINCKLE, H. S. Micropropagation of thirteen Malus cultivars and rootstocks, and effect of antibiotic on proliferation. **Plant Growth Regulation**, v. 15, p. 55-67, 1994. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00024677>.

Submetido: 04/06/2020

Aceito: 12/11/2020



Uso e ocupação das terras na sub-bacia hidrográfica do Córrego Fundaça, Espírito Santo, Brasil

Caio Henrique Ungarato Fiorese¹

Resumo

O objetivo da pesquisa foi avaliar o uso e a ocupação das terras na sub-bacia hidrográfica do Córrego Fundaça, no estado do Espírito Santo, com vistas a subsidiar melhorias em conservação ambiental e planejamento territorial. Os procedimentos foram realizados no programa computacional ArcGIS®. Inicialmente foi delimitada a sub-bacia estudada para, em seguida, serem adquiridas feições de uso e ocupação das terras para o Estado do Espírito Santo referentes a dois mapeamentos: o primeiro, nos anos de 2007 a 2008; o segundo, de 2012 a 2015. Tais feições foram editadas delimitando as classes de uso e ocupação somente para a sub-bacia. As classes foram identificadas, quantificadas e mapeadas. Há predominância de pastagem, com percentuais acima de 50 %, embora esta ocupação tenha decrescido em 1,94 % entre os períodos estudados. A cafeicultura, terceira classe predominante, também decresceu entre os períodos analisados, o que pode ser atribuído à preferência por outras atividades, como a silvicultura do eucalipto. Esta apresentou um forte crescimento, embora com percentuais ainda baixos. Tais áreas, caso manejadas incorretamente, acarretam danos ambientais e econômicos. Todavia, as áreas de vegetação nativa representaram percentual muito pequeno, mesmo com aumento, devido ao decréscimo da vegetação em estágio inicial de regeneração. A abrangência da macega somada ao fato de que ela esteve próxima da vegetação nativa e predominantemente fragmentada indicam problemas de planejamento de uso e ocupação. A atuação do comitê local de bacias hidrográficas e gestores públicos, além da educação ambiental e do manejo correto das atividades rurais, são ações necessárias.

Palavras-chave: Espaço geográfico. Geoprocessamento. Impactos ambientais. Mitigação. Planejamento territorial.

Introdução

Devido ao forte crescimento populacional, a demanda por novas áreas aumenta, seja para suprir a necessidade de moradias ou para a ocupação de atividades, como a pecuária, a silvicultura e a agricultura. No entanto, isso provoca, em muitas situações, a ocupação desordenada de áreas e o uso descontrolado de recursos naturais (NASCIMENTO; FERNANDES, 2017). O acelerado processo de desenvolvimento da sociedade tem deixado fortes marcas na superfície terrestre, exigindo a elucidação sistemática de possíveis alterações da interferência antrópica sobre o ambiente, com a mesma velocidade em que se processam essas transformações, (LEITE; ROSA, 2012).

A bacia hidrográfica é uma unidade sistêmica onde se realizam os balanços de entrada proveniente da chuva e saída de água pelo exutório, permitindo que sejam delineadas bacias e sub-bacias, cujas interconexões se dão pelos fluxos hídricos. Em seu território, desenvolvem-se atividades humanas as quais abrangem as áreas urbanas, industriais, agrícolas ou de preservação. O que nela ocorre é consequência, por exemplo, das formas de ocupação do território (PORTO; PORTO, 2008).

1 Universidade Federal do Espírito Santo – UFES. Mestrando do curso de Agroquímica. Engenheiro Ambiental. caiofiorese@hotmail.com.

Nas bacias hidrográficas, podem ser realizadas diferentes análises ambientais com o intuito de obter informações da atual situação local, proporcionando o gerenciamento adequado para a perenização dos recursos naturais ali existentes, os quais são imprescindíveis ao bem-estar humano (MOREIRA; FERNANDES; NERY, 2014).

Diante da relevância das bacias hidrográficas, foram criados comitês de bacias hidrográficas (CBH), que são os órgãos públicos responsáveis por discutir e deliberar sobre os assuntos de interesse comum aos diferentes usuários da água de uma bacia hidrográfica. Um dos principais recursos de gestão do CBH refere-se ao Plano da Bacia Hidrográfica. Os CBHs exercem grande importância no que diz respeito à gestão integrada dos recursos hídricos. Por exemplo, esses grupos propõem políticas públicas e descentralizam e materializam a gestão, desempenhando um papel estratégico na Política Nacional de Recursos Hídricos (TRINDADE; SCHEIBE, 2019).

O mapeamento do uso e ocupação da terra é hoje uma ferramenta importante, a qual permite a obtenção de informações que fomentam a construção de cenários ambientais e indicadores, como subsídios de avaliação da capacidade de suporte ambiental (MOREIRA; FERNANDES; NERY, 2014). O uso e a ocupação da terra abrangem informações acerca do grau de preservação, conservação ou artificialização de um determinado lugar do globo terrestre. A importância da sua análise em estudos de distinção ambiental justifica-se especialmente pela necessidade da identificação de fontes ou potenciais fontes de alterações do ambiente. Dessa forma, o conhecimento das fontes permite uma avaliação decisiva sobre quais ações considerar para eliminação ou diminuição do fator causador das alterações (ALVES; CONCEIÇÃO, 2015). No caso da sub-bacia hidrográfica do Córrego Fundação, a relevância de estudos voltados ao uso e cobertura de suas terras ocorre pela carência de pesquisas na região, além dos graves transtornos ali causados, por exemplo, erosão dos solos e prejuízos à produtividade agrícola, caso não haja um correto planejamento de seu território.

A falta de conhecimento da aptidão de uso da terra e do planejamento adequado da sua utilização tem sido um fator frequente, ocasionando impactos negativos ao meio ambiente (PEDRON *et al.*, 2006). Por exemplo, o uso e a ocupação dos solos exercem influência significativa no escoamento superficial e aporte de sedimentos no leito dos mananciais, podendo modificar a qualidade e a disponibilidade dos recursos hídricos (VANZELA; HERNANDEZ; FRANCO, 2010).

O mapeamento do uso e ocupação da terra baseia-se principalmente na utilização das ferramentas de Sistemas de Informações Geográficas (SIGs). Sua utilização possibilita detalhamento nas análises ambientais. O uso dos SIGs mescla saberes interdisciplinares, que visam atingir as informações espaciais de toda natureza. Assim, obtém-se um banco de dados geográficos, possibilitando diversos estudos sobre a dinâmica da superfície terrestre e, por sua vez, proporcionando diversos produtos cartográficos (BEZERRA JUNIOR; GUEDES, 2016). O tratamento e a geração de informações acerca do espaço por meio de técnicas de sensoriamento remoto são imprescindíveis para a otimização de tempo e a redução de custos em campo (FAUSTINO; RAMOS; SILVA, 2014).

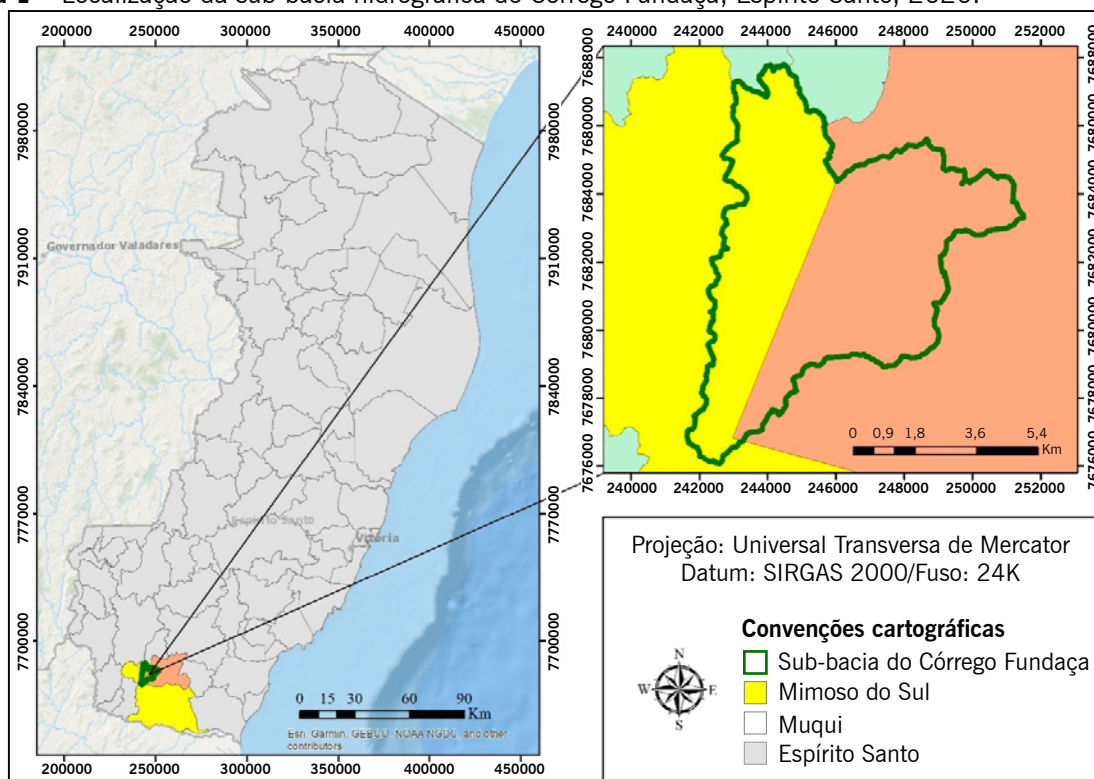
Assim, o objetivo da pesquisa foi analisar o uso e a ocupação das terras da sub-bacia hidrográfica do Córrego Fundação, estado do Espírito Santo, como forma de embasar melhorias para a conservação dos solos e do ambiente desta bacia, aliadas ao planejamento territorial.

Material e métodos

O estudo compreendeu a Bacia Hidrográfica do Córrego Fundação (BHCF) que está localizada na área rural dos municípios de Muqui e Mimoso do Sul, na mesorregião Sul do Estado do Espírito Santo. É uma bacia de relevância no abastecimento do distrito de Santo Antônio de Muqui, que possui uma

população de 1.400 habitantes. Essa região é produtora de café, com destaque para agropecuária (PORTAL MIMOSO, 2020). A referida sub-bacia apresenta uma área de 53,73 km² e tem seu exutório no rio Muqui do Sul, segundo dados de edição em um Sistema de Informações Geográficas. A Figura 1 apresenta o mapa de localização da área estudada, plotado por meio de dados geográficos de municípios do Espírito Santo adquiridos no portal eletrônico do Instituto Jones dos Santos Neves (IJSN, 2020).

Figura 1 – Localização da sub-bacia hidrográfica do Córrego Fundaça, Espírito Santo, 2020.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020), a partir de dados do Instituto Jones dos Santos Neves (IJSN, 2020).

Os procedimentos foram subsidiados pela técnica de geoprocessamento e executados no programa computacional ArcGis® (ARCGIS, 2020). As bases de dados geográficas consideradas foram os sítios eletrônicos do Sistema Integrado de Bases Geoespaciais do Estado do Espírito Santo (GEOBASES, 2020), da Agência Nacional de Águas (ANA, 2020) e do Instituto Jones dos Santos Neves (IJSN). Inicialmente, foi delimitada a sub-bacia de interesse, a partir de procedimentos mencionados por Santos, Louzada e Eugenio (2010): aquisição de feições de curva de nível da área; geração do Modelo Digital de Elevação (MDE) e sua posterior correção; delimitação da direção e do acumulado da drenagem local; extração da malha hidrográfica; identificação do curso hídrico principal (nesse caso, o Córrego Fundaça) a partir de feições de cursos hídricos adquiridas no sítio eletrônico da Agência Nacional de Águas (ANA); demarcação do exutório da BHCF.

Posteriormente, no GEOBASES, foram adquiridas feições de uso e ocupação das terras para o estado do Espírito Santo referentes a dois mapeamentos realizados: o primeiro, de 2007 a 2008 e o segundo, de 2012 a 2015. Ambos estavam em escala igual ou melhor a 1:25000, segundo o GEOBASES. Os mapeamentos disponibilizados foram efetuados sobre os ortofotomosaicos disponibilizados pelo GEOBASES, considerando procedimentos de foteointerpretação e vetorização manual de limites entre as classes de uso e ocupação das terras identificadas.

Os mapeamentos foram representados por polígonos adjacentes submetidos à validação topológica, a fim de obter o correto fechamento desses polígonos e mitigar a sobreposição e o surgimento de espaços vazios entre eles. A área mínima dos polígonos mapeados foi de 0,50 ha e o índice de acerto mínimo do mapeamento foi de 90 %. Foram realizadas atividades de campo a fim de sanar todas as dúvidas na identificação das classes de mapeamento. Nessa etapa, foram realizados registros fotográficos e registros das coordenadas das áreas averiguadas (ESPÍRITO SANTO, 2020).

As feições foram adicionadas em layout do programa. Com auxílio dos recursos de edição, as classes de uso e ocupação da terra foram determinadas e delimitadas somente para a BHCF. Por meio da tabela de atributos dos novos arquivos de uso e ocupação gerados, as classes foram identificadas e quantificadas. A quantificação, em percentual, ocorreu a partir da exportação dos dados, a princípio em metros quadrados (m²), para planilha do Microsoft Excel®. O mapeamento foi realizado a partir da plotagem de dois mapas temáticos. Assim, as informações quantitativas e os mapas permitiram a execução de posteriores estudos baseados na literatura considerada.

Resultados e discussão

As classes mais abrangentes na BHCF foram a agropecuária (presença de pastagem e cafeicultura), vegetação nativa, vegetação nativa em estágio inicial de regeneração e macega. A Tabela 1 apresenta a descrição das classes identificadas e seus respectivos percentuais.

Tabela 1 – Classes de uso e ocupação da terra da BHCF e respectivos percentuais, Espírito Santo, 2020.

Classes	Anos 2007-2008	Anos 2012-2015
Afloramento Rochoso	0,36 %	0,43 %
Área Edificada	0,03 %	0,04 %
Brejo	0,64 %	0,44 %
Cultivo agrícola - Banana	0,00 %	0,15 %
Cultivo Agrícola - Café	17,28 %	15,88 %
Cultivo Agrícola - Outros Cultivos Permanentes	0,05 %	0,37 %
Cultivo Agrícola - Outros Cultivos Temporários	0,91 %	0,60 %
Macega	6,30 %	6,56 %
Massa D'Água	0,04 %	0,04 %
Mata Nativa	10,81 %	13,16 %
Mata Nativa em Estágio Inicial de Regeneração	7,21 %	5,83 %
Outros	1,53 %	2,48 %
Pastagem	54,12 %	52,18 %
Reflorestamento - Eucalipto	0,26 %	1,32 %
Reflorestamento - Seringueira	0,23 %	0,26 %
Solo Exposto	0,22 %	0,26 %

Fonte: Editado de GEOBASES (2020).

A classe que teve o aumento mais expressivo foi a da silvicultura do eucalipto, embora ela tenha apresentado percentuais inferiores a 2,0 %.

Os maiores percentuais visualizados foram para a classe “pastagem”, ocupando a maior parte da BHCF, embora essa classe tenha apresentado decréscimo de 1,94 % nos períodos analisados. A alta predominância da pastagem pode ser justificada pelo contexto histórico de relevância da pecuária. A atividade possui grande importância na economia brasileira e começou a ser desenvolvida no século XVI, na terceira década após o início do processo de colonização. Exerceu forte influência na expansão econômica, destacando-se na pauta das exportações e, também, no abastecimento do mercado interno. A pecuária continua sendo praticada, em grande parte, no sistema tradicional de criação, ou seja, o gado é criado solto em pastagens naturais ou plantadas no sistema extensivo (TEIXEIRA; HESPANHOL, 2014).

Quando manejada incorretamente, a pastagem passa a se tornar um problema ambiental de grandes magnitudes, principalmente quando usadas técnicas tradicionais de manejo, como o sistema extensivo. Alguns desses impactos ambientais negativos são: destruição dos ecossistemas ambientais, degradação do solo por meio da compactação e erosão, poluição dos recursos hídricos e emissões de gases do efeito estufa (DE ZEN *et al.*, 2008).

Diante dessa situação, ações tomadas no sentido de melhorar o rendimento animal devem resultar em um menor consumo de recursos naturais e maior eficiência do sistema digestivo animal (DE ZEN *et al.*, 2008). Uma medida importante para reduzir o sobrepastoreio é a criação de sistemas silvipastoris, que melhoram a gestão dos sistemas de pastejo como a integração lavoura-pecuária. Ressaltam-se como benefícios ambientais dessa técnica a conservação e a renovação dos recursos naturais por manterem árvores no ambiente de pastejo, pois as plantas de grande porte empregadas, como madeireiras, frutíferas ou forrageiras, servem de alimento para os animais (WÜST; TAGLIANI; CONCATO, 2015). Outra técnica relevante é a de formação de piquetes, pois possibilita melhor aproveitamento das áreas de pastagem associado à conservação do solo, além de resguardar mais áreas para preservação florestal nas propriedades rurais (FIORESE; LEITE, 2018). Essas ações são fundamentais para minimizar os efeitos da predominância da pastagem na BHCF, sobretudo quando se praticam medidas incorretas de manejo do solo na região.

No abastecimento hídrico do distrito de Santo Antônio de Muqui, as medidas mencionadas quanto à pastagem são de extrema relevância e necessidade, pois contribuiriam para maior infiltração de água no solo e minimizariam os efeitos problemáticos do escoamento superficial e da erosão na região. Tendo em vista o predomínio de técnicas rudimentares de manejo na pecuária, como é o caso da pecuária extensiva, tais técnicas contribuiriam também para a melhoria da produtividade do solo e da qualidade dos recursos hídricos utilizados para o abastecimento hídrico e, até mesmo, para o desenvolvimento econômico do distrito.

A cafeicultura foi a terceira classe mais abrangente visualizada. Todavia, assim como a pastagem, apresentou um decréscimo (equivalente a 1,40 %) no período considerado, mostrando uma queda na atividade agropecuária na BHCF. A ocupação expressiva da cafeicultura local, assim como a pastagem, também se justifica pelo seu contexto histórico. O café chegou ao estado do Espírito Santo nos primórdios do século XIX, em decorrência da expansão das áreas de cultivo do Vale do Paraíba. A monocultura do café, no final do século supracitado, era a atividade predominante na agricultura do estado (FERRÃO *et al.*, 2007).

No entanto, dada a expressividade da cafeicultura, quando não manejada devidamente, a degradação dos solos desses cultivos leva à redução da infiltração da água e ao aumento do escoamento superficial, causando abaixamento do lençol freático, erosão, enchentes e assoreamento

de rios e reservatórios (SAMBUICHI *et al.*, 2012). Embora não tenha causado efeitos negativos sobre a vegetação nativa na BHCF, a cafeicultura quando emprega técnicas tradicionais de manejo pode ocasionar impactos ambientais negativos de grande magnitude, trazendo prejuízos aos cafeicultores locais, tanto econômicos quanto em qualidade do meio natural.

Práticas simples, indicadas para evitar a degradação dos solos, como o plantio direto na palha, plantio em curvas de nível e rotação de culturas, são ainda pouco utilizadas pelos agricultores brasileiros (SAMBUICHI *et al.*, 2012). Outras medidas também seriam de grande relevância para estimular a produção econômica e sustentável da cafeicultura na BHCF, tais como: desenvolvimento de pesquisas, ações e estudos participativos norteados pelos princípios da agroecologia, aplicação de tecnologias apropriadas para o manejo de irrigação, água residuária e métodos de controle natural de pragas e doenças e ampliação dos financiamentos e recursos do crédito rural específicos para iniciativas que visem à transição do sistema tradicional para o natural (FERRÃO *et al.*, 2007). Tais medidas são muito relevantes em detrimento às técnicas tradicionais de manejo do solo nos cultivos cafeeiros predominantes na região da BHCF.

A vegetação nativa apresentou percentuais muito baixos em ambos os mapeamentos, em comparação com outras sub-bacias de estudos semelhantes, como a sub-bacia hidrográfica do ribeirão Santo Amaro, 20,84 % no mapeamento de 2007-2008 e 20,21 % em 2012-2015 (FIORESE; NASCIMENTO, 2019). Contudo, apresentou um crescimento de 2,35 %, o que pode ser atribuído à redução de outras classes, principalmente à evolução da classe “mata nativa em estágio inicial de regeneração” que, por sua vez, teve um decréscimo de 1,38 %.

A vegetação nativa contribui para a manutenção da biodiversidade e também pode auxiliar nos recursos hídricos e edáficos (FRANCO *et al.*, 2007). Para o processo de infiltração, a vegetação exerce um papel determinante à medida que reduz a velocidade do escoamento superficial, propiciando a infiltração, que abastecerá os lençóis freáticos e os cursos d’água (FAUSTINO; RAMOS; SILVA, 2014). Por isso, a manutenção dos remanescentes, bem como a ampliação da cobertura vegetal nativa, seria muito importante na BHCF, pois a sua baixa presença pode trazer prejuízos em termos de qualidade ambiental e, até mesmo, de produtividade econômica.

A classe “macega” apresentou percentuais considerados expressivos, com o percentual de ocupação aumentado em 0,26 %. Os percentuais de abrangência dessa classe foram superiores aos de bacias hidrográficas de estudos similares, como a sub-bacia do Ribeirão Estrela do Norte com 3,49 % e 3,00 %, respectivamente, nos anos 2007-2008 e 2012-2015 (FIORESE; LEITE, 2018). Isso indica um problema quanto à ocupação dos solos da BHCF, pois essas áreas poderiam ser ocupadas por outras classes, o que resultaria em serviços ambientais e ganhos econômicos mais expressivos. Um exemplo de uso poderia ser a vegetação nativa (FIORESE; NASCIMENTO, 2019).

Outra forma de ocupação interessante seria os Sistemas Agroflorestais, que possibilitariam maiores benefícios ecológicos, ambientais e econômicos. Esses sistemas representam um relevante recurso no combate à pobreza em áreas rurais, na segurança alimentar e na conservação dos recursos naturais e estão cada vez mais inseridos nos programas de desenvolvimento executados por diversas entidades (PALUDO; COSTABEBER, 2012). As referidas sugestões trariam vários benefícios para a BHCF e poderiam ser adaptadas conforme as condições naturais da região e as condições econômicas dos produtores rurais.

Embora tenha apresentado percentuais baixos, o aumento das áreas de eucalipto também foi visto em sub-bacias de estudos similares, como a sub-bacia hidrográfica do Ribeirão Santo Amaro,

com crescimento de 2,65 %, segundo Fiorese e Nascimento (2019). Os cultivos de eucalipto podem ser tanto benéficos quanto prejudiciais, dependendo das condições físicas de outrora. O reflorestamento seria, em termos ambientais, menos impactante se fosse realizado em áreas sem vegetação nativa com certo grau de degradação ambiental. Um exemplo dessas áreas são as pastagens e cultivos, ou culturas que foram abandonadas por baixa produtividade ao longo do tempo (OLIVEIRA; MENEGASSE; DUARTE, 2002).

Todavia, pesquisas de Oliveira e Almeida (2018) relataram que a silvicultura do eucalipto, em forma de monocultivos, provoca vários impactos ambientais no estado do Espírito Santo. Segundo os autores, a maioria dos impactos atinge os meios físico e biológico com alterações ambientais adversas. As características do solo e da água são expressivamente afetadas, além de colocar em risco espécies da flora e fauna.

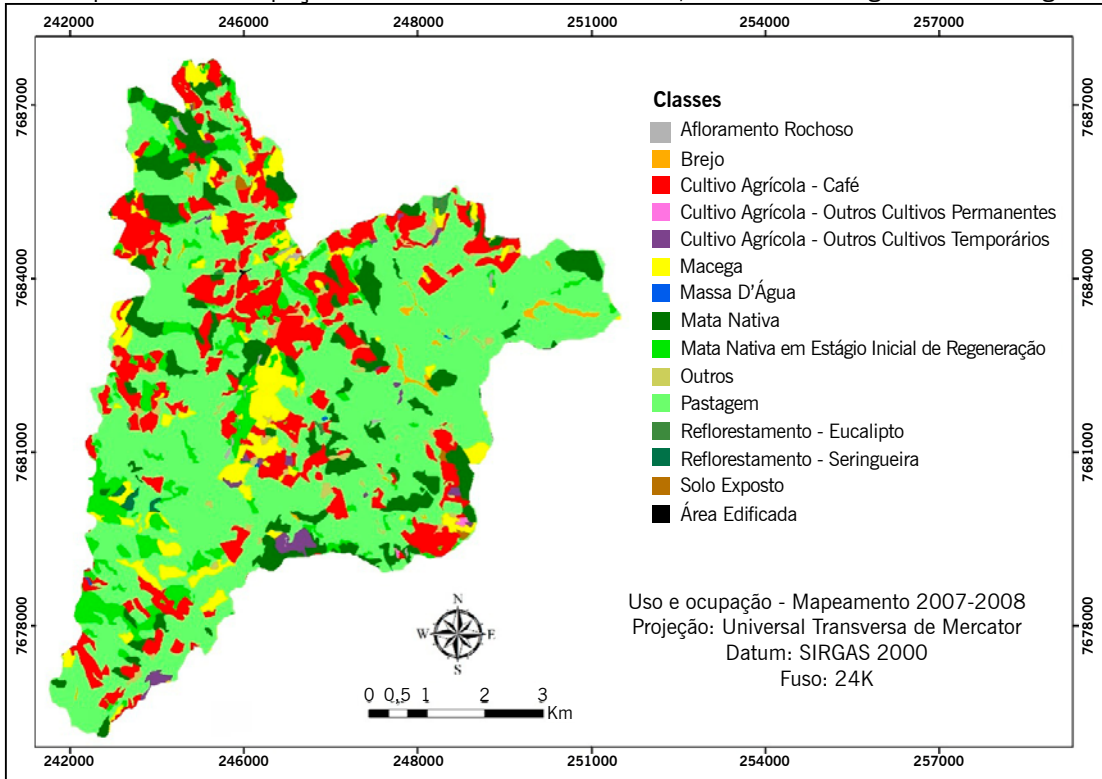
Uma alternativa interessante seria a adaptação da monocultura do eucalipto em sistemas agroflorestais. Essa forma de cultivo tem se mostrado uma opção econômica viável e sustentável para pequenas e médias propriedades (MOSCA, 2008). Essa opção traria benefícios maiores para as áreas de eucalipto da BHCF e aos agricultores da região, associada, ainda, a um correto manejo desses cultivos. Ela se torna ainda mais relevante tendo em vista a tendência de crescimento das áreas cultivadas de eucalipto na região, mesmo não tendo sido observado crescimento no período temporal avaliado na bacia em estudo.

Entre as medidas de mitigação e atenuação das classes oriundas da ação antrópica discutidas é relevante destacar o papel da educação ambiental como uma das principais. A educação ambiental deve ser o recurso fundamental para a participação de vários setores da sociedade no processo de conscientização e envolvimento, seja na identificação de problemas ambientais ou na elaboração de estratégias que amenizem ou solucionem os seus impactos. Um exemplo é a redução dos transtornos causados pelo intensivo uso de agrotóxicos na agricultura, os quais causam danos à saúde humana e danificam a fertilidade do solo (SANTOS; SILVA, 2017).

Além do mais, a prática da educação ambiental também é benéfica para a proteção de outras áreas importantes para a biodiversidade e que não foram discutidas anteriormente, como é o caso dos brejos e dos recursos hídricos da BHCF. A educação ambiental, para a BHCF, seria fundamental para que houvesse um melhor planejamento do uso e ocupação da terra aliado à correta ocupação do solo, em consonância com a qualidade ambiental dessa área. As demais classes, por apresentarem percentuais baixos ou por não terem sofrido aumento ou redução drástica, não foram discutidas com veemência neste trabalho.

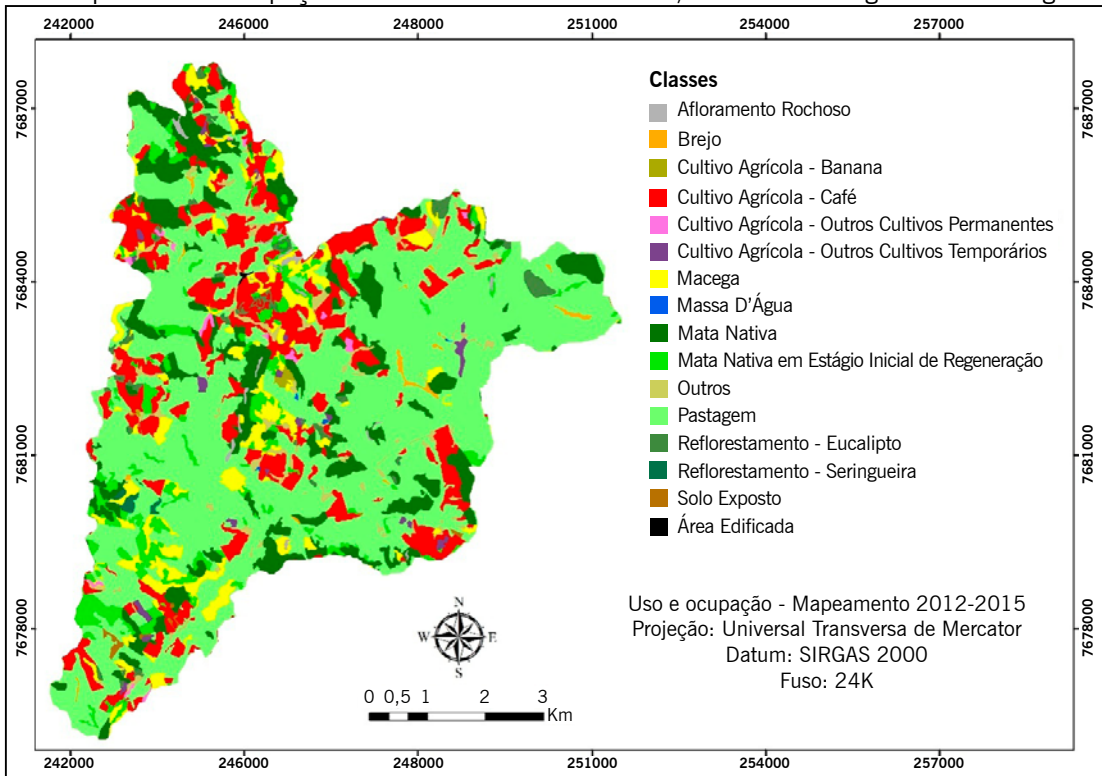
As Figuras 2 e 3 apresentam mapas de uso e ocupação das terras para os anos de 2007 a 2008 e de 2012 a 2015, respectivamente.

Figura 2 – Mapa de uso e ocupação do solo nos anos 2007-2008, sub-bacia hidrográfica do córrego Fundaça.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

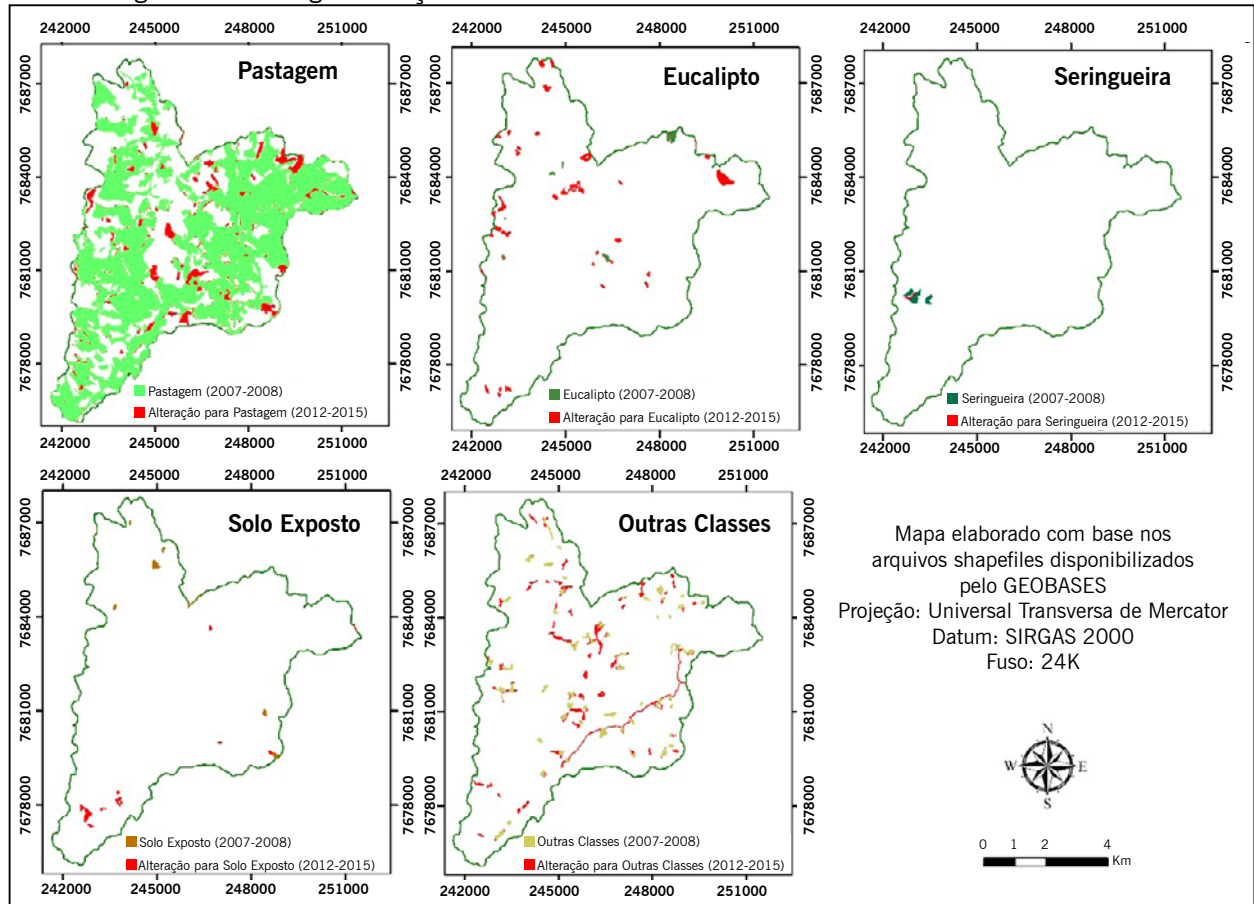
Figura 3 – Mapa de uso e ocupação do solo nos anos 2012-2015, sub-bacia hidrográfica do Córrego Fundaça.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A Figura 4 evidencia as alterações de uso e ocupação da terra para os anos 2012 a 2015 para as classes: pastagem, eucalipto, seringueira, solo exposto e classes não identificadas (outras classes).

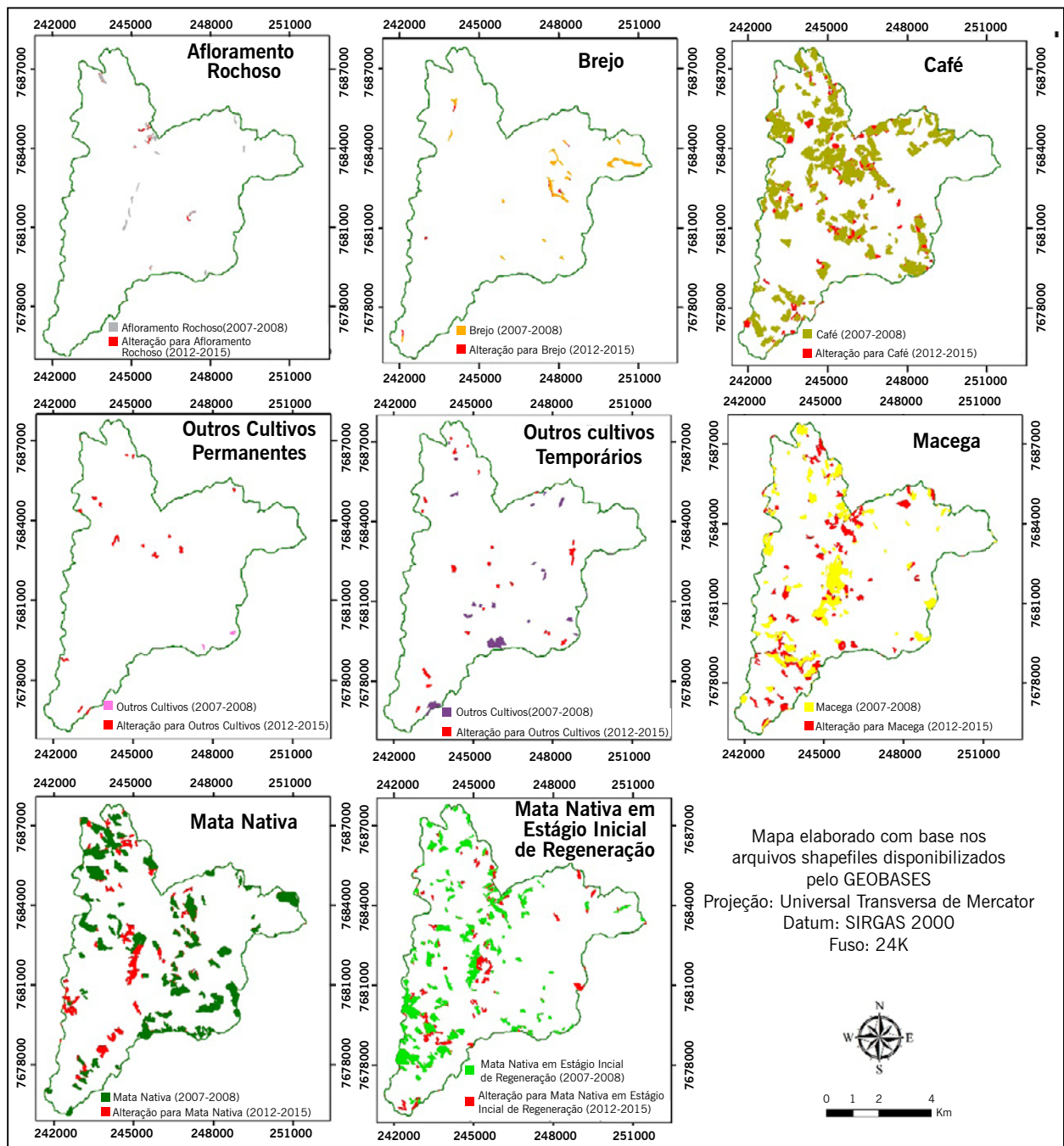
Figura 4 – Mapa de alterações das classes de uso e ocupação da terra de 2007-2008 para 2012-2015, sub-bacia hidrográfica do córrego Fundaça.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A Figura 5 expõe as alterações de uso e ocupação da terra para os anos 2012 a 2015 para as classes: afloramento rochoso, brejo, café, outros cultivos permanentes, outros cultivos temporários, macega, mata nativa e mata nativa em estágio inicial de regeneração.

Figura 5 – Mapa de alterações das classes de uso e ocupação da terra de 2007-2008 para 2012-2015, sub-bacia hidrográfica do córrego Fundaça.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

As classes “Cultivo Agrícola – Banana” e “Área Edificada” não foram representadas nos mapas de alterações de cada classe, pelo fato de que houve um aumento muito pequeno (em 0,01 %) de área edificada, o que a olho nu é de percepção muito difícil. A bananicultura, pelo fato de ter sido representada somente no mapeamento 2012-2015, esteve geoespacializada no mapa de uso e ocupação do solo do mapeamento 2012-2015 (FIGURA 3).

Nota-se que a predominância da pastagem ocorre em toda a extensão da sub-bacia. As áreas de eucalipto praticamente aumentaram em um ponto específico, que antes era ocupado pela pastagem. Assim, como foi relatado na discussão dos dados quantitativos da referida classe de uso e ocupação, os benefícios ambientais passam a ser maiores, principalmente se aquela área de pasto estava degradada. No entanto, esse cultivo de eucalipto necessita de um manejo correto, pois, caso contrário, pode se tornar um problema em termos ambientais.

Todavia, percebe-se, na maior parte da BHCF, a ocupação da vegetação nativa sob forma de fragmentos florestais. Essa fragmentação visualizada pode ser atribuída ao mau uso dos recursos naturais e à ocupação do solo de forma desordenada, que tem suprimido diversas áreas de relevante caráter biológico, como florestas primárias e vegetação secundária (VERONESE, 2009).

A degradação das florestas nativas é resultado da complexa interação entre fatores inerentes ao processo de fragmentação, como redução da área, maior exposição ao efeito de borda e isolamento e constante pressão antrópica. Tais fatores se manifestam e se combinam de diversas formas, gerando diferentes formas de degradação. Como consequência, cria-se um mosaico único de unidades para cada fragmento (VIANA; PINHEIRO, 1998). Portanto, a fragmentação florestal observada para a BHCF é resultado de um planejamento incorreto do uso e ocupação. Em termos de conservação ambiental, a conexão desses fragmentos seria relevante, bem como a recuperação paulatina de áreas degradadas da sub-bacia.

Nesse sentido, uma medida interessante que poderia ser adotada é a criação de corredores ecológicos. Eles se constituem em uma estratégia de adoção de políticas públicas e manejo integrado para garantir a sobrevivência das espécies; a manutenção dos processos ecológicos evolutivos, o desenvolvimento econômico regional, a inclusão social e o uso racional dos recursos naturais (ARANA; ALMIRANTE, 2007). Esse recurso traria conexão entre fragmentos próximos e, em termos ambientais, é uma sugestão excelente para a BHCF.

Outro fator que evidencia o planejamento incorreto das formas de ocupação é a presença de fragmentos de macega próximo a áreas de vegetação nativa e, principalmente, de vegetação nativa em estágio inicial de regeneração. Essas áreas, por meio de programas de reflorestamento ambiental, poderiam ser aproveitadas de melhor forma, com vistas a trazer mais benefícios ecossistêmicos e, até mesmo, econômicos. Além do mais, o aproveitamento dessas áreas por meio de Sistemas Agroflorestais, conforme abordado por Paludo e Costabeber (2012), é uma ótima sugestão em termos de ecologia, sustentabilidade e economia.

Conclusão

A sub-bacia estudada possui baixos quantitativos de cobertura vegetal nativa, que, por sua vez, se encontra distribuída sob forma de fragmentos em boa parte da área.

A alta expressividade da macega, principalmente próxima a áreas de vegetação nativa, evidencia problemas quanto ao planejamento do uso e ocupação das terras na BHCF.

A forte presença da atividade agropecuária exige um manejo correto das terras locais, pois, caso contrário, pode acarretar sérios problemas ambientais e econômicos.

Fica evidenciada a importância da atuação do comitê local de bacias hidrográficas e demais gestores públicos, além da prática de educação ambiental com os moradores da região e o manejo correto do solo, em detrimento às técnicas tradicionais de cultivo.

Land use and occupation in the Fundação Stream subbasin, Espírito Santo, Brazil

Abstract

The objective of the research was to evaluate land use and occupation in the Fundação Stream subbasin, state of Espírito Santo, Brazil, aiming at subsidizing improvements in environmental conservation and territorial planning. The procedures were performed in the ArcGIS® computer program. First, the study defined the limits of the subbasin, and then obtained the features of land use and occupation for the state of Espírito Santo from two mappings, from 2007 to 2008, and from 2012 to 2015. These features were edited, defining the classes of use and occupation only for the subbasin. They were identified, quantified, and mapped. There is a predominance of pasture, with percentages above 50 %, although this occupation decreased by 1.94 % between the periods studied. Coffee growing, the third predominant class, also decreased, which can be attributed to the preference for other activities, such as eucalyptus forestry. This showed strong growth, although with even lower percentages. Mishandling of those areas can cause environmental and economic damage. However, the areas of native vegetation represented a minimal rate, even with an increase, due to the decrease of vegetation in the early stage of regeneration. *Macega* (wild vegetation) coverage, besides being close to the native vegetation and which was predominantly fragmented, indicates problems with the use and occupation planning. The action of the local river-basin committee and public managers, besides environmental education, and correct management of rural activities, are necessary actions.

Keywords: Geographical space. Geoprocessing. Environmental impacts. Mitigation. Territorial planning.

Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS – ANA. **Encontre mapas interativos, conjuntos de dados geográficos, imagens de satélite e outros serviços.** Disponível em: <https://metadados.ana.gov.br/geonetwork/srv/pt/main.home>. Acesso em: 10 mar. 2020.

ALVES, A. C.; CONCEIÇÃO, P. E. A. Levantamento do uso e ocupação do solo por meio de imagens TM-Landsat-5 e ADS-80 para o município de Manaus/AM. In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. 2015, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: 17, 2015, p. 5881-5888.

ARANA, A. R. A.; ALMIRANTE, M. F. A importância do corredor ecológico: um estudo sobre o Parque Estadual “Morro do Diabo” em Teodoro Sampaio-SP. **Geografia**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 143-168, jan./jun. 2007. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/geografia/article/view/6578>. Acesso em: 24 abr. 2020.

ARCGIS. **ArcGIS: software.** Disponível em <http://www.esri.com/software/arcgis/index.html>. Acesso em: 10 jan. 2020.

BEZERRA JUNIOR, A.; GUEDES, J. A. Caracterização e análise do uso e ocupação da terra no entorno do reservatório Santana, Rafael Fernandes/RN. **Revista OKARA: Geografia em debate**, João Pessoa, v. 10, n. 3, p. 517-530, 2016.

DE ZEN, S.; BARIONI, L. G.; BONATO, D. B. B.; ALMEIDA, M. H. S. P. de.; RITTL, T. F. **Pecuária de corte brasileira: impactos ambientais e emissões de gases efeito estufa (GEE)**. Piracicaba: Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada, 2008.

ESPÍRITO SANTO. Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos. **Referência técnica**. Disponível em: https://geobases.static.es.gov.br/public/MAP_ES_2012_2015/MAP_ES_2012_2015_REFEENCIA_TECNICA.pdf. Acesso em: 21 nov. 2020.

FAUSTINO, A. B.; RAMOS, F. F.; SILVA, S. M. P. da. Dinâmica temporal do uso e cobertura do solo na Bacia Hidrográfica do Rio Doce (RN) com base em Sensoriamento Remoto e SIG: uma contribuição aos estudos ambientais. **Sociedade e Território**, Natal, v. 26, n. 2, p. 18 - 30, jul./dez. 2014. Disponível em: <https://periodicos.ufrn.br/sociedadeeterritorio/article/view/5305>. Acesso em: 11 abr. 2020.

FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A. da.; BRAGANÇA, S. M.; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H. **Café Conilon**. Vitória: Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, 2007. 702 p.

FIGLIARELLI, C. H. U.; LEITE, V. R. Dinâmica do uso e cobertura do solo na sub-bacia hidrográfica do Ribeirão Estrela do Norte no município de Castelo, Estado do Espírito Santo. **Agrarian Academy**, Goiânia, v. 5, n. 10, p. 52-65, 2018. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/Agrarian%20Academy/2018B/dinamica.pdf>. Acesso em: 22 abr. 2020.

FIGLIARELLI, C. H. U.; NASCIMENTO, W. A. R. do. Mapeamento do uso das terras na sub-bacia hidrográfica do Ribeirão Santo Amaro, no Sul do Estado do Espírito Santo. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 16, n. 29, p. 1554-1566, 2019. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2019a/ agrar/mapeamento.pdf>. Acesso em: 12 abr. 2020.

FRANCO, G. A. D. C.; SOUZA, F. M. de.; IVANAUSKAS, N. M.; MATTOS, I. F. A.; BAITELLO, J. B.; AGUIAR, O. T.; CATARUCCI, A. F. M.; POLISEL, R. T. Importância dos remanescentes florestais de Embu (SP, Brasil) para a conservação da flora regional. **Biota Neotrópica**, v. 7, n. 3, p. 145-161, 2007. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1676-06032007000300017&script=sci_arttext. Acesso em: 24 abr. 2020.

GEOBASES. **IEMA - mapeamento ES - 2012-2015**. Disponível em: <https://geobases.es.gov.br/links-para-mapas1215>. Acesso em: 10 mar. 2020.

INSTITUTO JONES DOS SANTOS NEVES – IJSN. **Shapefiles**. Disponível em: <http://www.ijsn.es.gov.br/mapas/>. Acesso em: 11 mar. 2020.

LEITE, E. F.; ROSA, R. Análise do uso, ocupação e cobertura da terra na bacia hidrográfica do Rio Formiga, Tocantins. **OBSERVATORIUM: Revista Eletrônica de Geografia**, v. 4, n. 12, p. 90-106, dez. 2012. Disponível em: <http://www.observatorium.ig.ufu.br/pdfs/4edicao/n12/05.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2020.

MOREIRA, A. A.; FERNANDES, F. H. S.; NERY, C. V. M. Mapeamento e análise do uso e ocupação do solo na bacia do Rio Vieira no município de Montes Claros/MG. **Revista Brasileira de Geomática**, Pato Branco, v. 2, n. 2, p. 40-48, jul./dez. 2014. Disponível em: <https://periodicos.utfrpr.edu.br/rbgeo/article/view/5448>. Acesso em: 11 abr. 2020.

MOSCA, A. A. de O. **Avaliação dos impactos ambientais de plantações de eucalipto no Cerrado com base na análise comparativa do ciclo hidrológico e da sustentabilidade da paisagem em duas bacias de segunda ordem**. 2008. 256 p. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo.

NASCIMENTO, T. V. do.; FERNANDES, L. L. Mapeamento de uso e ocupação do solo em uma pequena bacia hidrográfica da Amazônia. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 39, n. 1, p. 170-178, jan./abr. 2017. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/cienciaenatura/article/view/21737>. Acesso em: 06 abr. 2020.

OLIVEIRA, J. de A.; ALMEIDA, F. S. Alterações ambientais provocadas pela silvicultura no Estado do Espírito Santo. In: SIMPÓSIO DE GESTÃO AMBIENTAL E BIODIVERSIDADE. 2018, Três Rios. **Anais...** Três Rios: 7, 2018, p. 256-259.

OLIVEIRA, F. R. de.; MENEGASSE, L. N.; DUARTE, U. Impacto ambiental do eucalipto na recarga de água subterrânea em área de cerrado, no médio vale do Jequitinhonha, Minas Gerais. **Revista Águas subterrâneas**, São Paulo, p. 1-10, 2002. Disponível em: <https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/22677>. Acesso em: 27 abr. 2020.

PALUDO, R.; COSTABEBER, J. A. Sistemas agroflorestais como estratégia de desenvolvimento rural em diferentes biomas brasileiros. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 7, n. 2, p. 63-76, 2012. Disponível em: https://orgprints.org/22937/1/Paludo_Sistemas%20agroflorestais.pdf. Acesso em: 24 abr. 2020.

PEDRON, F. de A.; POELKING, E. L.; DALMOLIN, R. S. D.; AZEVEDO, A. C. de.; KLANT, E. A aptidão de uso da terra como base para o planejamento da utilização dos recursos naturais no município de São João do Polêsine – RS. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 105-112, jan./fev. 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cr/v36n1/a16v36n1.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2020.

PORTAL MIMOSO. **Santo Antônio do Muqui**. 2020. Disponível em: <http://www.portalmimoso.com.br/distritos/santoantoniodomuqui/index.html>. Acesso em: 10 mai. 2020.

PORTO, M. F. A.; PORTO, R. la L. Gestão de bacias hidrográficas. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 22, n. 63, p. 43-60, 2008. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0103-40142008000200004&l. Acesso em: 06 abr. 2020.

SAMBUICHI, R. H. R.; OLIVEIRA, M. A. C. de.; SILVA, A. P. M. da.; LUEDEMANN, G. **A sustentabilidade ambiental da agropecuária brasileira: impactos, políticas públicas e desafios**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, 2012. 52 p.

SANTOS, A. R. dos.; LOUZADA, F. L. R. de O.; EUGENIO, F. C. **ArcGIS 9.3 total: aplicações para dados espaciais**. 2.ed. Alegre: CAUFES, 2010. 184 p.

SANTOS, F. R.; SILVA, A. M. A importância da educação ambiental para graduandos da Universidade Estadual de Goiás: Campus Morrinhos. **Interações**, Campo Grande, v. 18, n. 2, p. 71-85, abr./jun. 2017. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/inter/v18n2/1518-7012-inter-18-02-0071.pdf>. Acesso em: 27 abr. 2020.

TEIXEIRA, J. C.; HESPANHOL, A. N. A trajetória da pecuária bovina brasileira. **Caderno Prudentino de Geografia**, Presidente Prudente, v. 1, n. 36, p.26-38, jan./jul. 2014. Disponível em: <https://revista.fct.unesp.br/index.php/cpg/article/view/2672>. Acesso em: 23 abr. 2020.

TRINDADE, L. de L.; SCHEIBE, L. F. Gestão das águas: limitações e contribuições na atuação dos comitês de bacias hidrográficas brasileiros. **Ambiente & Sociedade**, São Paulo, v. 22, p. 1-20, 2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/asoc/v22/1809-4422-asoc-22-e02672.pdf>. Acesso em: 14 jan. 2020.

VANZELA, L. S.; HERNANDEZ, F. B. T.; FRANCO, R. A. M. Influência do uso e ocupação do solo nos recursos hídricos do Córrego Três Barras, Marinópolis. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 1, p. 55-64, 2010. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-43662010000100008. Acesso em: 10 abr. 2020.

VERONESE, J. V. **Análise de fragmentos florestais e proposição de corredores ecológicos com base no Código Florestal – Lei 4.771/65**: aplicação na Serra do Brigadeiro - MG. 2009. 56 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização). Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora.

VIANA, V. M.; PINHEIRO, L. A. F. V. Conservação da biodiversidade em fragmentos florestais. **Série Técnica IPEF**, v. 12, n. 2, p. 25-42, dez. 1998. Disponível em: <https://www.ipef.br/publicacoes/stecnica/nr32/cap03.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2020.

WÜST, C.; TAGLIANI, N.; CONCATO, A. C. A pecuária e sua influência impactante ao meio ambiente. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL. 2015, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: 6, 2015, p. 1-5.

Submetido: 19/05/2020

Aceito: 26/11/2020