

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

CONTROLE DE BICHO-MINEIRO COM NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS E
USO DE IMAGENS PARA DETECÇÃO DE MINAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

THIAGO FELLIPE NUNES DE MENDONÇA

MONTE CARMELO
MINAS GERAIS – BRASIL
2021

THIAGO FELLIPE NUNES DE MENDONÇA

CONTROLE DE BICHO-MINEIRO COM NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS E
USO DE IMAGENS PARA DETECÇÃO DE MINAS

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais – Mestrado, área de concentração em Agricultura e Informações Geoespaciais, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Prof^a. Dr^a. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho

Coorientadores

Prof. Dr. Sandro Carvalho Izidoro

Prof. Dr. Érick Oliveira Rodrigues

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

M539c
2021

Mendonça, Thiago Fellipe Nunes de, 1991-
Controle de bicho-mineiro com nematoides entomopatogênicos e uso
de imagens para detecção de Minas [recurso eletrônico] / Thiago Fellipe
Nunes de Mendonça. - 2021.

Orientadora: Vanessa Andaló Mendes de Carvalho.
Coorientador: Sandro Carvalho Izidoro.
Coorientador: Érick Oliveira Rodrigues.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia.
Programa de Pós-Graduação em Agronomia.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.5572>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Agronomia. I. Carvalho, Vanessa Andaló Mendes de, (Orient.). II.
Izidoro, Sandro Carvalho, (Coorient). III. Rodrigues, Érick Oliveira
(Coorient). IV. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-
Graduação em Agronomia. V. Título.

CDU: 631

Glória Aparecida
Bibliotecária - CRB-6/2047



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Informações
 Geoespaciais
 Rodovia LMG 746, Km 01, s/nº, Bloco 1AMC, Sala 1A202, Monte Carmelo-MG, CEP 38.500-000
 Telefone: (34) 3810-1033 - ppgaig@iciag.ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Agricultura e Informações Geoespaciais				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico				
Data:	30/07/2021	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	18:25
Matrícula do Discente:	31922AIG013				
Nome do Discente:	Thiago Fellipe Nunes de Mendonça				
Título do Trabalho:	Controle de bicho-mineiro com nematoides entomopatogênicos e uso de imagens para detecção de minas				
Área de concentração:	Informações geoespaciais e tecnologias aplicadas à produção agrícola				
Linha de pesquisa:	Sistemas integrados de produção vegetal				

Reuniu-se na sala virtual Google Meet (<https://meet.google.com/nxp-ewsp-avu>) a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais, assim composta: Dr. Flávio Lemes Fernandes (UFV-Campus Rio Paranaíba), Dr. Sandro Carvalho Izidoro (UNIFEI), Dra Vanessa Andaló Mendes de Carvalho (UFU) – orientadora do candidato.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Dra Vanessa Andaló Mendes de Carvalho, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Vanessa Andalo Mendes de Carvalho, Professor(a) do Magistério Superior**, em 02/08/2021, às 07:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sandro Carvalho Izidoro, Usuário Externo**, em 02/08/2021, às 11:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Flávio Lemes Fernandes, Usuário Externo**, em 03/08/2021, às 13:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2943457** e o código CRC **21835BE3**.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por ser meu guia e meu melhor amigo, sempre estando comigo e me guiando nas escolhas e caminhos que sigo. Agradeço também a minha família, em especial a minha mãe, Ana Maria Nunes que sempre me apoiou para que buscasse nos estudos o melhor caminho, isso é evoluir junto. Agradeço as inúmeras pessoas que passaram por meu caminho que de forma direta ou indireta me trouxeram até aqui, agradeço a elas pelos *feedbacks* e pelas palavras ditas, todas me motivaram. Agradeço muito a minha orientadora Vanessa Andalo, que com bom humor e educação sempre soube tirar o melhor de mim, o que reflete no seu sucesso profissional e pessoal. Agradeço a Universidade Federal de Uberlândia que me deu a oportunidade de me desenvolver e foi a base da minha educação, aos colegas de mestrado, coorientador e a banca de avaliação que visa sempre o melhor que possamos ser como alunos e pessoas. Obrigado as pessoas que hoje estão presentes na minha vida e as que farão no futuro, isso é por vocês.

in memoriam,

João Gonçalves Nunes, Divino Mendonça

SUMÁRIO

ABSTRACT	9
INTRODUÇÃO GERAL	10
1 Cultura do cafeeiro: importância econômica	10
2 <i>Leucoptera coffeella</i>	11
2.1 Ciclo de vida de <i>Leucoptera coffeella</i>	11
2.2 Sintomas e formas de controle	12
3 Nematoides entomopatogênicos	14
3.1 Nematóide entomopatogênicos usado para controle biológico em outras culturas	15
4 Uso de imagens para controle de pragas	16
4.1 Uso de imagens para controle de pragas no cafeeiro	17
5 Amostragem e nível de controle	19
5.1 Amostragem de bicho-mineiro	20
5.2 Nível de controle de bicho-mineiro	21
REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO 1	28
RESUMO	29
ABSTRACT	30
1 Introdução	31
2 Material e métodos	33
2.1 Seleção de isolados de nematoides entomopatogênicos	33
2.2 Concentração letal (CL ₅₀) de nematoides entomopatogênicos	34
2.3 Tempo letal (TL ₅₀) de nematoides entomopatogênicos	35
2.4 Potencial reprodutivo do nematóide entomopatogênicos em <i>Leucoptera coffeella</i>	35
3 Resultados e Discussão	36
3.1 Seleção de nematoides entomopatogênicos	36
3.2 Concentração letal (CL ₅₀) de nematoides entomopatogênicos	37

3.2.2	Pupas	38
3.3.1	Lagartas	40
3.3.2	Pupas	41
3.4	Potencial reprodutivo do nematoide entomopatogênicos em <i>Leucoptera coffeella</i>	42
4	Discussão	43
	REFERÊNCIAS	47
	CAPÍTULO 2	52
	RESUMO	53
	ABSTRACT	54
1	Introdução	55
2	Material e Métodos	58
2.1	Obtenção dos índices populacionais	58
2.2	Processamento das imagens no <i>software Ilastik</i> [®]	58
2.3	Correção no processamento das imagens para detecção de minas	59
2.4	Comparação entre os resultados obtidos	60
2.5	Compilação das imagens para formação de banco de imagens referentes à presença de minas intactas nas folhas	60
2.6	Implementação da Deep Learning CNN	61
3	Resultados e Discussão	62
4	Conclusão	64
5	Trabalhos Futuros	65
	REFERÊNCIAS	66

RESUMO

MENDONÇA, THIAGO FELLIPE NUNES DE. **Controle de bicho-mineiro com nematoides entomopatogênicos e uso de imagens para detecção de minas.** 2021. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Informações Geoespaciais) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2021.

A cultura do cafeeiro é um dos principais *commodities* exportados pelo Brasil, sendo o Brasil responsável por cerca de 70% da produção mundial. Acarretando em uma receita de cerca de US \$5,6 bilhões por ano, no entanto, sua produção é muito afetada por pragas e doenças, interferindo diretamente no volume do produto. Uma das pragas que afetam a produtividade é a *Leucoptera coffeella*, popularmente conhecida como bicho-Mineiro, por isso está pesquisa visa avaliar controle de bicho-mineiro pelo método de controle biológico com nematoides entomopatogênicos e determinação do índice de infestação em lavoura cafeeira, realizando seu monitoramento pelo método fotogramétrico de imageamento em comparação com a amostragem convencional.

Palavras-chave: *Coffea arabica*; controle biológico; *deep learning*; Heterorhabditidae; *Leucoptera coffeella*; Steinernematidae.

ABSTRACT

MENDONÇA, THIAGO FELLIPE NUNES DE. **Miner leaf control with entomopathogenic nematodes and use of images for mines detection.** 2021. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Informações Geoespaciais) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2021.

The coffee crop is one of the main commodities exported by Brazil, with it being responsible for around 70% of world production. With a revenue of around US\$5.6 billion per year, however, its production is greatly affected by pests and diseases, directly interfering with the volume of the product. One of the pests that affect productivity is the *Leucoptera coffeella*, popularly known as Bicho-Mineiro, that's why this research aims to evaluate the control of the miner by the biological control method with entomopathogenic nematodes and determination of the infestation rate in coffee plantations, carrying out its monitoring by the photogrammetric imaging method compared to conventional sampling.

Keywords: biologic control; *Coffea arabica*; *Deep learning*; Heterorhabditidae; *Leucoptera coffeella*; Steinernematidae.

INTRODUÇÃO GERAL

1 Cultura do cafeeiro: importância econômica

A cultura cafeeira foi introduzida no Brasil ainda na época do império, trazida do continente africano nos navios mercantes da época. Segundo Costa (2020), o café arábica (*Coffea arabica* L.) é cultivado em regiões acima de 550 metros de altitude e é responsável por 70% do mercado de café mundial, enquanto o café robusta (conilon - *Coffea canephora* Pierre ex Froehner) representa 30%, sendo cultivado em regiões mais baixas e quentes. O café possui grande importância socioeconômica ao país, e segundo a EMBRAPA (2021), a produção total dos cafés do Brasil em 2020, somadas as espécies arábica e conilon, atingiu 63,07 milhões de sacas de 60 kg, superando em 2,3% a produção brasileira de 2018 e se tornando a safra com maior volume da história.

Considerando-se o valor econômico associado à cultura cafeeira, de acordo com a EMBRAPA (2021), estima-se que a receita cambial gerada pelas exportações dos cafés do Brasil em 2020 foi de US \$5,6 bilhões, uma alta de 10,3% em comparação com 2019. Além disso, a referida receita em reais foi equivalente a 5,6% do total gerado com as exportações do agronegócio brasileiro e 2,7% de toda venda ao exterior no ano. No entanto, para o ano 2021 devido a questões adversas à produção a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) estima redução na área em produção nas últimas décadas, sendo estimado a produção de café em uma área aproximada de 1,76 milhão de ha para o ano de 2021 (CONAB, 2021).

Segundo o Instituto Brasileiro de Estatística e Geografia (IBGE), por meio do Sistema IBGE de Recuperação Automática (SIDRA), a área colhida somadas as espécies arábica e conilon, atingiu 1,8 milhões de ha. Segundo Soares (2019), a maior parte da produção brasileira é exportada, o que aumenta a exigência sobre a qualidade dos grãos. Goes e Chinelato (2018) esclarece que o café arábica apresenta complexidade sensorial, sendo cultivado em altitudes superiores a 800m e predominantemente cultivado em todos os estados da região sudeste, e nos estados da Bahia e Paraná. Costa (2020) ressalta como fatores limitantes que influenciam na produção da cultura as variações climáticas, incluindo precipitação e temperatura (a temperatura ideal para cultivo é de 19 a 22°C). Goes e Chinelato (2018) complementam que devido a extensão territorial do Brasil, há uma variedade de microclimas, relevo, altitude, latitude e tipo de solo; interferindo diretamente no padrão de qualidade do grão e por sua vez na bebida produzida a partir desse.

O objetivo deste trabalho é implementar uma Deep Learning para detectar doenças do bicho-mineiro em folhas de café.

Os objetivos específicos são:

- Escolher um dataset para uso neste projeto;
- Preparar o dataset escolhido;
- Implementar uma CNN para detectar, automaticamente, sintomas das doenças miner e rust em folhas de café;
- Treinar esta deep learning com as imagens escolhidas;
- Testar a CNN; utilizando a linguagem de programação python, as bibliotecas keras e tensorflow, e a plataforma google colab;
- Analisar e comparar outros estudos relacionados com este trabalho.

2 *Leucoptera coffeella*

Leucoptera coffeella, popularmente conhecida como bicho-minero-do-cafeeiro, é uma pequena mariposa branca/prateada que geralmente aparece voando durante o entardecer, ataca exclusivamente o cafeeiro e permanece escondida na folhagem, alimentando-se do parênquima foliar, o que leva ao surgimento de minas, dando origem ao seu nome popular (MOURA al., 2019; VIDAL et al., 2019). Possui ciclo de vida passando pelos estágios de ovo, larva, pupa e adulto em um intervalo de 19 a 50 dias. Moura et al. (2019) ressaltam que o bicho-mineiro-do-cafeeiro é responsável por grandes prejuízos econômicos, pela diminuição da produtividade em decorrência da redução da área foliar e da desfolha.

2.1 Ciclo de vida de *Leucoptera coffeella*

O desenvolvimento de *Leucoptera coffeella* começa com o ovo, com cerca de 0,3mm, revestido por uma estrutura translúcida em formato oval côncavo. Após a incubação, a casca do ovo ganha uma coloração mais escura indicando o ponto de nascimento da larva, ao nascer a larva penetra a folha. Durante a fase larval, possui quatro estágios: a larva recém-eclodida com aspecto translúcido; em seguida passa a ter cor amarelo-esverdeado; no terceiro estágio assume

a cor amarelada em formato achatado com comprimento em torno de 4 até 5mm, e em seu último estágio larval, tem a cabeça achatada e boca do tipo mastigável (DANTAS et al., 2020).

As larvas saem dos ovos e penetram nas folhas causando as minas onde tecem um tipo de seda em forma de casulo assim formando as pupas. As pupas têm comprimento aproximado de 2 mm, cor branca leitosa, pequenos olhos pretos, antenas, pernas ventrais fundidas e asas enrugadas (DANTAS et al., 2020). Segundo Almeida et al. (2017), o parênquima paliçádico que é o principal tecido responsável pela fotossíntese as larvas ao se alimentarem desse tecido causam as galerias necrosadas com formato de mina.

Almeida et al. (2017) completam que o inseto adulto tem as dimensões de aproximadamente 6,5 mm de envergadura e 2,2 mm de comprimento, características de uma pequena mariposa. Dantas et al. (2020) observam as características comuns da fase adulta, como longas antenas, peito branco/prateado, pernas com cerdas brancas, asas em tons amarelados e com pequenos círculos pretos.

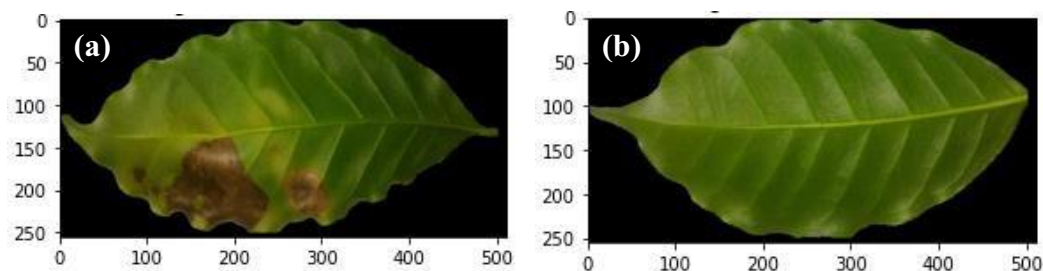
A mariposa tem a capacidade de pôr de 20 a 36 ovos no período de 20 a 25 dias sobre as folhas. Quando os ovos eclodem, as lagartas penetram o limbo foliar se alimentando do tecido entre as epidermes, deixando um vazio na medida em que a planta se desenvolve, quando chegam à fase adulta, as mariposas fêmeas reiniciam o ciclo. (VASCONCELOS, 2019).

2.2 Sintomas e formas de controle

Os principais sintomas indicativos de uma infestação são: aparecimento de casulos nas folhas; redução da área foliar e intensidade de queda das folhas (ALMEIDA et al., 2017; MOURA et al., 2019; VIDAL et al., 2019; VASCONCELOS, 2019). Ainda segundo Moura et al. (2019), as “minas construídas pelo inseto possuem bordas irregulares; lesões irregulares de coloração parda com centro escuro; e epiderme da folha de fácil remoção”.

Para controle desse tipo de praga utiliza-se das formas de controle químico e controle biológico. No entanto, como o cafeeiro se trata de uma cultura perene (cultura com ciclo longo), a rotação de culturas não é um método de controle aplicável (DANTAS et al., 2020). Levando em consideração que alguns fatores favorecem a aparição desta infestação, de acordo com Moura et al. (2019) esses fatores são a baixa precipitação, condições de seca, e plantio com maiores espaçamentos assim ocorrendo o aumento da circulação de vento e favorecendo o surgimento e espalhamento da praga. Na Figura 1 pode ser observado como as minas aparecem nas folhas em contra partida com uma folha saudável.

Figura 1 - Folhas de cafeeiro, (a) com lesão causada por *Leucoptera coffeella* e (b) folha saudável sem lesão.



Fonte: o autor (2021).

A aplicação de inseticidas é provavelmente a forma de controle químico mais utilizado nas plantações. No entanto, o uso excessivo e contínuo de agrotóxicos nas plantações leva ao controle da praga, mas causa a contaminação da planta, permanecendo na mesma até seis meses após a aplicação. Além disso, pode contaminar o solo, corpos d'água, e em alguns casos, até mesmo o ar, assim como o alto custo de compra e aplicação (DANTAS et al., 2020). Souto (2019) observa que o controle químico é o método mais usual, enquanto Crato (2018) esclarece que esse método considera o custo do monitoramento e os parâmetros históricos dos talhões ao aplicar inseticidas, mas vem tendo elevado custo e resultado pouco satisfatórios. Dantas et al. (2020) ainda ressalta que o uso intensivo de inseticidas químicos, no entanto, pode levar à resistência a pragas, especialmente quando o mesmo ingrediente ativo é usado continuamente.

Costa et al. (2018) diz que uma das alternativas mais promissoras para o controle do bicho-mineiro está no uso de cultivares resistentes. No plantio de cultivares através da resistência genética, há a redução da aplicação de agrotóxicos. Segundo Vidal et al. (2019), outra forma de controle é o biológico onde “o controle biológico através de agentes naturais, como as vespas predadoras que rasgam as minas e predam as lagartas e os parasitoides”. Almeida et al. (2017) considera a utilização da vegetação nativa da região de plantio em auxílio ao controle do bicho-mineiro. Há possibilidade de a vegetação fornecer alimentos alternativos e principalmente servir de barreira física contra o vento impedindo a entrada de insetos no talhão. As condições ambientais, as condições da planta hospedeira e a presença de inimigos naturais pertencentes à ordem Hymenoptera (vespas, abelhas e formigas), são ótimos meios de controle biológico, considerando sua utilização periódica e controlada (FRANKLIN et al., 2017; DANTAS et al., 2020).

3 Nematoides entomopatogênicos

Vidal et al. (2018) caracterizam o Filo Nematelminthes, em aproximadamente 20.000 espécies, onde algumas dessas espécies sobrevivem em organismos vegetais e animais, com relação de parasitismo, sendo que há espécie nematoides entomopatogênicos (NEPs) do tipo parasita de insetos, e nocivos aos mesmos. Os nematoides são vermes de forma e tamanho variáveis. Magnabosco (2018) define os nematoides como animais que escondem uma ampla variedade de estruturas presentes em sua anatomia. Por serem nocivos há determinado tipo de inseto, os NEPs vem sendo aplicados para controle biológico de infestações de insetos em lavouras.

Magnabosco (2018) descreve o ciclo de vida a partir da penetração no hospedeiro. O ciclo inclui três fases de desenvolvimento: ovo, juvenil e adultos. Segundo Ribeiro (2018), a fase de desenvolvimento juvenil possui quatro estágio, nos dois primeiros vivem dependentes ao hospedeiro, ao atingirem o terceiro estágio infectivo (JI), passam a ter vida livre, ou seja, podem viver livremente à procura de hospedeiros. Magnabosco (2018) complementa que no estágio JI, adapta-se para sobreviver fora do hospedeiro, a boca e ânus encontram-se fechados, de forma a evitar dessecação e conseguir mais tempo de sobrevivência no solo. No último estágio prepara-se para a fase adulta onde retoma o ciclo.

Encontrados no solo e na água, sendo prejudiciais a culturas, no entanto o nematoide entomopatogênicos têm grande auxílio para controle biológico de pragas. Segundo Vidal et al. (2018), os nematoides que atuam em relação de comensalismo podem ser encontrados no exoesqueleto ou nos sistemas digestivo, reprodutivo e excretor, bem como na hemocele, causando pouco ou nenhum dano ao hospedeiro.

O método mais comum de identificação de nematoides entomopatogênicos é por meio de sua morfologia, sendo os gêneros principais *Heterorhabditis* e *Steinernema*. O princípio de penetração do *Steinernema* se dá apenas pelos orifícios naturais do inseto, enquanto os *Heterorhabditis* além de utilizarem as aberturas naturais do inseto para penetração, conseguem penetrar em algumas regiões menos resistente do exoesqueleto do inseto (SABINO et al., 2018).

O gênero *Heterorhabditis* que pode ser entendido como mais restritivo, apresenta comportamento simbiote sempre e unicamente com uma linhagem daquela espécie de bactéria, sendo uma relação de bioconversão onde o tecido do hospedeiro é a fonte de alimento, apesar de possuir comportamento semelhante ao *Steinernema*. Ao parasitarem um inseto os adultos copulam e os ovos são retidos no interior do abdômen da fêmea até a eclosão dos JI, quando

estão nesse ponto rompem a parede do corpo da fêmea e atingem também o interior do inseto parasitado, onde se alimentam, até o JI (estágio infectante) retendo a cutícula do estágio anterior, enquanto o restante completa o desenvolvimento e retornando o ciclo com os adultos de segunda geração (MAGNABOSCO, 2018).

3.1 Nematóides entomopatogênicos usado para controle biológico em outras culturas

Santos et al. (2020) afirma que “Os nematóides entomopatogênicos são agentes encontrados no solo, em diversas regiões do globo, e após penetrarem no hospedeiro pelas aberturas naturais”. Assim Faria (2020) utiliza deles para avaliar o potencial para controle biológico, mas observa que para eficácia deve ser necessário estar em concentração acima de 100 juvenis infectantes.

Quando chegam ao terceiro estágio infectante, os NEPs tendem a não se alimentar nem se multiplicar, e permanecem no solo esperando um hospedeiro, no entanto, ao infectar um inseto hospedeiro, liberam a bactéria simbiote que combinada com toxinas do próprio nematóide leva a morte do inseto, geralmente, dentro de três dias (RIBEIRO, 2018; MAGNABOSCO, 2018).

O potencial para controle biológico utilizando o nematóide entomopatogênicos pode ser observado em diversas culturas. Um caso é na cultura do milho onde observa que para controle de *Elasmopalpus lignosellus* destaca-se como agentes o *H. amazonensis* MC01, sendo mais virulento na fase de lagartas e *H. amazonensis* GL para a fase de pupas. Ainda foi possível observar que a concentração de JIs foi diretamente proporcional à mortalidade de pupas e lagartas (MAGNABOSCO, 2018). Outro caso é observado na cultura de coco para controle de *Rhynchophorus palmarum* utilizado por Santos et al (2018), onde foi observado altos percentagens de mortalidade ainda em estágio larval. Levando em consideração o volume de JIs, os resultados indicam uma maior virulência com *S. brasiliense* e *S. feltiae*.

Ainda considerando o potencial de ação desses organismos, Moreira (2018) considera que mesmo de forma isolada em relação à broca-do-café, os nematóides entomopatogênicos apresentam índices de mortalidade encontrados em duas fases de desenvolvimento do inseto, podendo auxiliar no controle no campo. Enquanto Damascena (2019) vem utilizando-os para o manejo integrado *Meloidogyne enterolobii* os *S. brasiliense*, *S. rarum*, *S. feltiae*, *H. amazonensis* e *H. bacteriophora* onde reduzem a eclosão de ovos, porém não afetam a mortalidade dos juvenis e reduzem o número de galhas, massa de ovos e fatores de reprodução na casa de

vegetação. Assim para a fruticultura para controle de *Ceratitis capitata* Rohde, Mertz e Moino Junior (2020) usam *Steinernema carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis amazonensis* JPM4 que são capazes de matar a mosca do mediterrâneo ainda em fase larval e de pupa, e observam que o *S. carpocapsae* é mais virulento, porém não apresentou capacidade de deslocamento horizontal, o que uma característica apresentada por *H. amazonensis*.

4 Uso de imagens para controle de pragas

Os danos causados por pragas tendem a ser os mais prejudiciais a qualquer tipo de cultura, e o aparecimento de pragas já nas primeiras fases do plantio causam prejuízos que chegam casa dos milhões de dólares por ano. Visando aumentar a produtividade final e diminuir gastos com pesticidas, novas formas de controle e monitoramento dessas pragas se fazem necessárias (RESENDE et al., 2020).

O controle de pragas a partir do uso de imagens aéreas tem se tornado cada vez mais popular por facilitar o planejamento, controle e análise de dados agrícolas, monitorar as variações temporais e espaciais da produção provendo um processo orientado a tomada de decisão. Os diferentes tipos de dados obtidos em multiescala pelo sensoriamento remoto encontram-se em constante avanço (RESENDE et al., 2020).

Para ao controle de pragas São Miguel, Medeiros e Gomes (2019) afirmam que a melhor compreensão do desenvolvimento de determinado ambiente necessita de analisar a partir da evolução temporal do uso e cobertura da terra, assim tornando possível prever cenários futuros. Para isso, é necessário a análise do uso e cobertura do solo, levando em consideração ocorrência de uma deterioração acentuada do solo e dos demais componentes, sendo implícito o esgotamento dos recursos naturais.

Um exemplo do uso do sistema de imageamento é para a analisar a expansão do cultivo de eucalipto no município de Brasilândia/MS entre os anos de 2000 e 2014, com a finalidade de verificar as mudanças ocorridas no ambiente e gerar dados que permitam elaborar um plano de controle ambiental. Consideram a metodologia de imagens multitemporais geradas por satélites para evolução do uso e cobertura da terra a partir da classificação não-supervisionada com classes temáticas de acordo com cada amostra, resultando no predomínio de pastagem, apontando o desmatamento e assoreamento dos solos como principais consequências negativas na área (SÃO MIGUEL; MEDEIROS; GOMES, 2019).

Considerando que para controle de pragas as imagens usadas podem ser obtidas por diferentes métodos de imageamento, sempre levando em conta a finalidade do estudo. Os métodos mais comuns são os de satélite e pelo uso de *Remotely Piloted Aircraft* (RPA), que se trata da tecnologia de aeronaves remotamente pilotadas popularmente chamada de drone, este método tem se popularizado cada vez mais por tratar de uma tecnologia nova e relativamente barata, de fácil acesso no mercado e grande facilidade de utilização, principalmente ao ser comparado com imagens providas de satélite.

Gonçalves, Silva e Lemos (2019) utilizaram RPA para estimar as falhas e a presença de formigueiros em um povoamento florestal de eucalipto, e os efeitos das formigas cortadeiras e o comportamento da floresta em si sobre a produção de madeira. O uso da geotecnologia pode auxiliar no manejo florestal, utilizando dados espaciais para o gerenciamento da floresta.

No caso do município de Brasilândia/MS, as imagens de satélites se fazem mais úteis por tratar-se de uma estimativa e formação de um plano prevenção da degradação do solo da área de plantio, o que necessita de grande acúmulo de dados temporais (SÃO MIGUEL; MEDEIROS; GOMES, 2019). Enquanto, para o caso da estimativa de presença de formigueiros em um povoamento florestal de eucalipto foram usadas imagens obtidas por RPA e com uma visita em campo em toda a área para identificação de pontos de formigueiros (GONÇALVES; SILVA; LEMOS, 2019).

Paula (2018) esclarece que o processo de distinguir mudanças em um conjunto de pixels em uma imagem de teste e uma imagem de referência é o básico na detecção de mudanças, que são: aparecimento ou desaparecimento de objetos, movimentação de objetos e mudanças na forma dos objetos.

4.1 Uso de imagens para controle de pragas no cafeeiro

O uso de imagens para controle de pragas no cafeeiro tem se popularizado nos últimos anos com o avanço das geotecnologias. Martins et al. (2017) usa imagens de satélite do sensor RapidEye para desenvolvimento do experimento no município de Monte Carmelo – MG por trata-se de uma área relativamente pequena com aproximadamente 14 ha. Foi necessário o uso da uma imagem de alta resolução espacial e pela dificuldade geográfica de posicionamento de pontos do levantamento *in loco*.

Cruvinel Júnior (2018) utilizou imagens Planet em uma série temporal com um total de 18 imagens, onde foram analisadas em dois intervalos de tempo distintos, sendo o intervalo um período mensal e outro para um período anual de tempo.

As aquisições de imagens podem ser feitas de distintas formas, mas o mais importante é como elas são aplicadas caso a caso. No trabalho de Cruvinel Júnior (2018), a etapa de pré-processamento contou com a correção atmosférica, correção geométrica e pôr fim a normalização radiométrica, além da geração de índice de vegetação para auxiliar nas análises.

Já para o caso de Martins et al. (2017), utiliza modelos empíricos definidos a partir de equações de regressão lineares simples entre valores radiométricos medidos na imagem RapidEye e a concentração de nutrientes das folhas obtida na análise fisiológica. Ainda no trabalho de Martins et al. (2017) é utilizado o critério para escolha das bandas e dos índices de vegetação para composição dos modelos definido a partir dos canais que apresentaram resposta significativa e maior correlação com a concentração de nutrientes.

O índice de vegetação chamado de índice de diferença normalizada que no inglês é *Normalized Difference Vegetation Index* (NDVI) base para outros índices de vegetação, a partir dele Crato (2018) indica as inúmeras aplicações do índice com o intuito de monitoramento de culturas; detecção de secas; localização de pragas; estimativas de produtividade; modelagem hidrológica; e mapeamento de culturas.

Paula (2018) define o NDVI, como o índice utilizado para discriminar a vegetação, este índice é calculado usando imagens das bandas espectrais do vermelho (R) e infravermelho próximo (NIR), pois, a vegetação absorve uma elevada parcela da luz vermelha incidente, provocando uma baixa reflectância em sua faixa espectral correspondente ao vermelho.

“[...] Nas imagens podemos enxergar a banda do visível, porém, algumas respostas como, por exemplo, a resposta de stress nutricional, estruturas do dossel como folhas atacadas por pragas e doenças são melhores vistas pelo infravermelho próximo. Sensores dessa natureza são capturados geralmente por câmeras multiespectrais que trocam a banda do azul pela do infravermelho próximo, ou seja, assim as bandas são trocadas de azul, verde e vermelho, por verde, vermelho e infravermelho próximo, tendo essa configuração a possibilidade de criar índices de vegetações que são possíveis avaliar partes do dossel de grandes lavouras” (RESENDE et al., 2020).

Crato (2018) considera a difusão de imagens orbitais e de ferramentas de processamento digitais como um item praticamente obrigatório em estudos de avaliação de vegetação com aplicações para área ambiental e agricultura. Ainda segundo Crato (2018) que também define os índices de vegetação como basicamente operações algébricas envolvendo faixas de reflectância específicas que possibilitam a determinação da cobertura vegetal e a sua densidade.

“[...] A primeira etapa procurou apresentar modelos de variabilidade espectral gerados a partir de uma série temporal de bandas multiespectrais e índices de vegetação derivados do sensor [...] Na segunda etapa o método foi desenvolvido para analisar o potencial das imagens em estimar a concentração de clorofila do cafeeiro” (CRUVINEL JÚNIOR, 2018).

Os sistemas de imageamento têm se mostrado uma ferramenta de grande auxílio no controle e manejo da produção de café, e a partir de imagens coletadas tem sido possível identificar os danos causados pelo bicho-mineiro, como demonstrado por Moura et al. (2019) que trabalha com fotos coletadas por drone, nas fases de desenvolvimento dos distúrbios causados pela praga juntamente com os intervalos de temperatura e umidade, uma escala de severidade do distúrbio, além das fases de desenvolvimento do cafeeiro em que o distúrbio está presente.

5 Amostragem e nível de controle

Para manter o monitoramento sobre o avanço de uma determinada praga e melhor planejamento de ação para mitigação de seu avanço usam-se métodos de amostragem distintos, sendo a forma de coleta dessas amostras determinadas pela forma de ação da praga avaliada, assim a partir da amostra torna possível dimensionar a área afetada, a quantidade de plantas afetadas e a qualidade da produção.

“Para o monitoramento do ataque da praga, é necessário obter um nível de controle no qual seria recomendado o início dos tratamentos contra as infestações do inseto. Este nível de controle deve ser realizado antes do nível de dano, que é caracterizado por uma população da praga que causam

prejuízos significativos, ou seja, equivalentes ao lucro da lavoura” (SOUTO, 2019).

Portanto, a amostragem possibilita a realização do monitoramento populacional da praga como também por auxiliar na tomada de decisão para o controle da mesma. Para Costa (2020) um processo promissor e aplicável a praticamente toda cultura é o controle estatístico de processo (CEP) especificamente a carta de controle, uma vez que o controle das operações agrícolas permite a diminuição na variabilidade, a fim de se melhorar a eficiência e manter a qualidade, a curto e longo prazo.

Segundo Moura et al. (2019) e Souto (2019) o bicho-mineiro ataca exclusivamente o cafeeiro, se alimentando unicamente do o parênquima foliar, causando minas, é responsável pela diminuição da produção em decorrência da redução da área foliar e da desfolha.

Pereira et al. (2019) define o clima como um dos principais fatores que interfere no nível de infestação do bicho-mineiro, sendo que sua ocorrência em períodos longos sem chuva com baixa umidade relativa do ar causando o aumento considerável da incidência de lesões e prejuízos.

5.1 Amostragem de bicho-mineiro

Segundo Moura et al. (2019) a baixa precipitação e condições secas favorece o surgimento de pragas assim como a utilização de maior espaçamento no campo favorecem as infestações por causa do vento.

No trabalho detecção em multiescala de bicho-mineiro em lavoura cafeeira utilizando imagens multiespectrais de Crato (2018) definiu-se que a amostragem seria feita a partir de fotos terrestres em três plantas por rua e coleta de coordenadas com intervalo de 10 a 15 dias de diferença entre cada coleta, de forma aleatória, para evitar que uma mesma planta fosse amostrada mais de uma vez no decorrer da área.

De forma similar Souto (2019) também faz amostragem a partir da tomada de fotos terrestres sendo avaliada 30 plantas ao acaso por hectare observando-se a existência ou não de minas intactas nas folhas, amostrando-se de três a quatro pares de folhas localizado no terço médio e superior das plantas em dois lados da planta, sentido norte e sul, totalizando oito folhas por planta.

No trabalho de Matos et al. (2019) é avaliado a influência das mudanças climáticas na dinâmica populacional do bicho-mineiro no sul de Minas Gerais, usa-se a amostragem mensal em 10 plantas aleatórias no período de três anos (2015 a 2018). Coletando-se folhas com lesões para cada amostragem, onde foram calculados a média de infestação por mês, e com os dados de precipitação acumulada e temperatura em cada mês para a região plotou-se os dados para cada ano.

Freire et al. (2019) trabalha com a influência da malha amostral na caracterização da dependência e distribuição espacial de bicho-mineiro em cultivo de café arábica no sudoeste da Bahia, assim identificando e quantificando o número de minas intactas a partir de 20 folhas do terço médio de plantas ao acaso.

Nunes et al. (2018) coletam de forma aleatória 50 folhas por vez com indícios do bichomineiro na cultura convencional no período de oito meses (abril a novembro), esse período foi escolhido devido marcar o final do período chuvoso e começo da estiagem onde a temperatura se mantivera altas e antecedendo o período chuvoso e por ser a época em que a praga tende de ter aumento populacional, sendo mantidos em laboratório.

5.2 Nível de controle de bicho-mineiro

As medidas de controle de bicho-mineiro necessárias a cultura do cafeeiro é estabelecida em quatro tipos: a medidas de controle pelo plantio de cultivares resistentes, o controle químico com aplicação de ovocida, a aplicação de pupicida e pelo controle biológico (MOURA et al, 2019).

Souto (2019) afirma que lavouras com espaçamentos maiores entre plantas favorecem a infestação do bicho-mineiro, pois as plantas de café ficam mais separadas auxiliando em uma maior circulação do ar assim evitando o acúmulo de umidade possibilitando o seu controle, também podendo ser usados diferentes métodos, entre eles o biológico e o químico. Já Crato (2018) compara fotos aéreas da área com a posição das plantas amostradas por foto terrestre para mapear a ocorrência e expansão da praga na área estudada.

Pereira et al. (2019) explica que o controle químico do bicho-mineiro é eficiente, mas aumentam significativamente os custos de produção além de potencializar o risco de contaminação ambiental. Também sugere métodos alternativos de controle de pragas como o objetivo de proteger o meio ambiente e plantas saudáveis.

Matos et al. (2019) correlacionaram a ocorrência da praga durante todo o período amostrado com picos de infestação variando em função do ano em relação a variação principalmente dos fatores climáticos tais como a temperatura e a precipitação, que exercem papel fundamental na dinâmica populacional da praga.

Para o trabalho escutado por Nunes et al. (2018) onde observa que embora a plantação estudada aplicar-se o controle químico para *L. coffeella*, na prática em campo percebe que a uma maior incidência desta praga no cafezal aumenta proporcionalmente a temperatura, por tanto no período de chuvas há a sua resudção, assim como também que nas bordas das plantações é onde há maior ocorrência da mesma.

Outra forma de controle é exposta por Vidal et al (2019) fazendo uso do controle biológico por modificação genica, sendo esse um método alternativo promissor de controle onde o silenciamento gênico por RNA interferente (RNAi) pode ser desenvolvido. As sequências de genômica e a transcritômica de *L. coffeella* necessárias para a seleção de genes alvo do RNAi ainda são desconhecidas

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. B. S. et al. **Influência de fragmentos de mata na incidência do bicho mineiro (*Leucoptera coffeella*) em cafezais.** VI Congresso Latino-Americano. X Congresso Brasileiro. V Seminário do DF e Encontro. Tema Gerador 9 . Manejo de Agroecossistema e Agricultura Orgânica. Cadernos de Agroecologia – ISSN 2236-7934 – Anais do VI CLAA, X CBA e V SEMDF – Vol. 13, Nº 1, jul. 2018. Brasília – DF. 2018.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Cafecultura brasileira tem menor área em produção das últimas duas décadas.** 2021. Disponível em:<<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>>. Acesso em: 04 de jan de 2021.
- COSTA, D. C. M. et al. **Infestação do bicho-mineiro *Leucoptera coffeella* em cultivares de café arábica no sul de Minas Gerais.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 44., 2018, Franca. Anais... Brasília, DF: Embrapa Café, 2018. (1 CD-ROM), 2 p. disponível em:< <http://200.235.128.121/handle/123456789/11841>>. Acesso em: 12 de fev de 2021.
- COSTA, W. C. A. **Caracterização agrônômica da cultura do café com auxílio de ferramentas do controle estatístico e sensoriamento remoto terrestre.** 2020 62 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/191517/costa_wca_me_jabo.pdf?sequenc e=3&isAllowed=y>. Acesso em: 22 de maio 2020.
- CRATO, J. K. T. **Detecção em multiescala de bicho-mineiro em lavoura cafeeira utilizando imagens multiespectrais.** 2018. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Agrimensura e Cartográfica) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2018. Disponível em:<<http://repositorio.ufu.br/handle/123456789/23440>>. Acesso em: 22 de maio 2020.
- CRUVINEL JÚNIOR, S. A. **Monitoramento da cultura cafeeira a partir de imagens de alta resolução espacial.** 2018. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Agrimensura e Cartográfica) – Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2018. Disponível em:<<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/23519>>. Acesso em: 16 de maio 2020.
- DAMASCENA, A. P. **Nematoides entomopatogênicos para o controle de nematoide-dasgalhas *Meloidogyne enterolobii*.** UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”(UNESP). Botucatu. 2019. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/181187/damascena_ap_me_botfca.pdf?se quence=3&isAllowed=y>. Acesso em: 05 de jan de 2021.
- DANTAS, J. et al. **A comprehensive review of the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae), with special regard to neotropical impacts, pest management and control.** Preprints 2020, 2020100629 (doi: 10.20944/preprints202010.0629.v1). Albuquerque.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Exportações dos Cafés do Brasil somam 44,5 milhões de sacas em 2020 e batem recorde histórico.** 2021. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/58841714/exportacoes-dos-cafes-do-brasil-somam-445-milhoes-de-sacas-em-2020-e-batem-recorde-historico>>. Acesso em: 04 de jan de 2021.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Região Sudeste produz 87,5% dos Cafés do Brasil em 2020.** 2021. Disponível em:< <https://www.embrapa.br/busca-denoticias/-/noticia/58778404/regiao-sudeste-produz-875-dos-cafes-do-brasil-em-2020>>. Acesso em: 04 de jan de 2021.

FARIA, L. V. **Levantamento de nematoides entomopatogênicos em áreas agrícolas e patogenicidade de *Steinernema puertoricense* a *Gonipterus platensis* (Coleoptera: Curculionidae).** Dissertação. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP). Botucatu. 2020. Disponível em:< https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/191649/faria_lv_me_botfca_int_sub.pdf?squence=10&isAllowed=y>. Acesso em: 07 de Dez de 2020.

FRANKLIN, A. M. et al. **Comunidade de parasitoides associados ao bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella* Guérin-Mèneville) em folhas de café (*Coffea arabica* L.) cultivadas no Sudoeste de Minas Gerais.** Ciência ET Praxis, 10(19), 25–30. Disponível em:<<https://revista.uemg.br/index.php/praxys/article/view/2661>>. Acesso em: 15 de fev de 2021.

FREIRE, D. S. et al. **Influência da malha amostral na caracterização da dependência e distribuição espacial de bicho-mineiro em cultivo de café arábica no sudoeste da Bahia.** X Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 8 a 11 de outubro de 2019, Vitória – ES. Disponível em:< <http://www.consorcioquesisacafe.com.br/ojs/index.php/SimposioCafe2019/article/view/490/344>>. Acesso em: 26 de maio 2020.

GOES, T. B.; CHINELATO, G. A. **Viabilidade econômico-financeira da cultura do café arábica na região da Alta Mogiana.** Revista iPecege 4(4):31-39, 2018. disponível em:< <https://revista.ipecege.com/Revista/article/view/250/156>>. Acesso em: 15 de fev de 2021.

GONÇALVES, K. M.; SILVA. M. T.; LEMOS. O. L. **Uso de RPA na estimativa de falhas e presença de formigueiros em um povoamento florestal de eucalipto.** Anuário do Instituto de Geociências - UFRJ. Vol. 42 - 3 / 2019 p. 274-280. Disponível em: < <http://www.ppegeo.igc.usp.br/index.php/anigeo/article/view/13456/13049>> Acesso em: 12 de maio de 2020.

IBGE, Instituto Brasileiro de Estatística e Geografia. **Sistema IBGE de Recuperação Automática (SIDRA).** 2021. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618>>. Acesso em: 04 de jan de 2021.

MAGNABOSCO, M. E. B. **Nematoides entomopatogênicos visando o controle de *Elasmopalpus lignosellus* na cultura do milho.** UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA (UFU). Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental – Mestrado. área de concentração em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental. Uberlândia – MG. 2018. Disponível em: <[http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/22454/1/NematoidesEntomopatog%
c3%aanicosVisando](http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/22454/1/NematoidesEntomopatog%c3%aanicosVisando)>. Acesso em: 05 de jan de 2021.

MARTINS, G. D. et al. **Uso de modelos empíricos obtidos a partir de imagens RapidEye para estimar a concentração de nutrientes no cafeeiro infectada por nematoides.** Anais do XVIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. 28 a 31 de maio de 2017 INPE Santos - SP, Brasil. Disponível em: <<http://marte2.sid.inpe.br/col/sid.inpe.br/marte2/2017/10.27.13.45.27/doc/59297.pdf>>. Acesso em: 16 de maio 2020.

MATOS, C. S. M.; SILVA, R. A.; PEREIRA, A. B.; PEREIRA, B. B. **Influência das mudanças climáticas na dinâmica populacional do bicho-mineiro-do-cafeeiro *leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae) no sul de Minas Gerais.** X Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 8 a 11 de outubro de 2019, Vitória – ES. Disponível em: <<http://www.consorcioquesquisacafe.com.br/ojs/index.php/SimposioCafe2019/article/view/108/228>>. Acesso em: 26 de maio 2020.

MOURA, K. E. et al. **Desenvolvimento de um sistema especialista para o diagnóstico de doenças e pragas do cafeeiro.** X Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. 8 a 11 de outubro de 2019, Vitória – ES. Disponível em: <<http://www.consorcioquesquisacafe.com.br/ojs/index.php/SimposioCafe2019/article/view/439/307>>. Acesso em: 22 de maio 2020.

NUNES, F. J.; MARTINS, F. K.; FRANKLIN, A. M.; COSTA, E. S. **Inimigos naturais da broca-do-café e do bicho-mineiro do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) em Passos, MG.** IV Congresso de Ecologia do Sudoeste Mineiro. Ciência et Praxis v. 11, n. 21, 115 – 120 p, (2018). Disponível em: <<http://revista.uemg.br/index.php/praxys/article/viewFile/3941/2264>>. Acesso em: 26 de maio 2020.

PAULA, P. V. D. M. **Caracterização espaço-temporal de áreas da cultura cafeeira infectada por nematoides a partir de imagens multiespectrais.** 2018. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Agrimensura e Cartográfica) – Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2018. Disponível em: <<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/23374>>. Acesso em: 16 de maio 2020.

PEREIRA, B. B. et al. **Influência do tipo de manejo do mato em lavouras cafeeiras sobre a população de bicho-mineiro-do-cafeeiro e vespas predadoras.** X Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 8 a 11 de outubro de 2019, Vitória – ES. Disponível em: <<http://www.consorcioquesquisacafe.com.br/ojs/index.php/SimposioCafe2019/article/view/84/231>>. Acesso em: 26 de maio 2020.

RESENDE, D. B. et al. **Uso de imagens tomadas por aeronaves remotamente pilotadas para detecção da cultura do milho infestada por *Spodoptera frugiperda***. Revista Brasileira de Geografia Física v.13, n.01 (2020) p.156-166. Disponível em: <<https://periodicos.ufpe.br/revistas/rbgfe/article/viewFile/242326/34798>> Acesso em: 12 de maio de 2020.

RIBEIRO, P. A. **Caracterização molecular de isolados de nematoides entomopatogênicos**. UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA (UFU). Monte Carmelo – MG. 2018. Disponível em:<<http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/23345/3/Caracteriza%0c3%0a7%0c3%0a3oMolecul arIsolados.pdf>>. Acesso em: 02 de jan de 2021.

ROHDE, C.; MERTZ, N. R.; MOINO JUNIOR, A. **Entomopathogenic nematodes on control of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae)**. Caatinga, Mossoró, v. 33, n. 4, p. 974 – 984, out. – dez., 2020. Disponível em: <<https://www.scielo.br/pdf/rcaat/v33n4/19832125-rcaat-33-04-0974.pdf>>. Acesso em: 05 de jan de 2021.

SABINO, A. R. et al. **SELEÇÃO DE ISOLADOS DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DE *Rhynchophorus palmarum***. Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia CONTECC 2018 Maceió/AL. 2018. Disponível em:<https://www.confea.org.br/sites/default/files/antigos/contecc2018/agronomia/215_sdidnencdr p.pdf>. Acesso em: 10 de fev de 2021.

SANTOS, P. D. et al. **Avaliação de isolados de nematoides entomopatogênicos para controle de *Rhynchophorus palmarum***. VIII Seminário de Iniciação Científica e PósGraduação. 2018. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1099425/1/Nematoides.pdf>>. Acesso em: 03 de jan de 2021.

SANTOS, J. J. **Potencial de nematoides entomopatogênicos para controle de *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae)**. UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS. Instituto de biologia. Programa de pós-graduação em entomologia. Pelotas. 2019. Disponível em: <http://www.guaiaca.ufpel.edu.br/bitstream/prefix/5342/1/dissertacao_jose_junior_santos.pdf>. Acesso em: 05 de jan de 2021.

SÃO MIGUEL. A. E.; MEDEIROS. R. B.; GOMES. W. M. **A expansão do cultivo de eucalipto no município de Brasilândia/MS entre os anos de 2000 e 2014**. Revista Georaguaia ISSN:2236-9716 Barra do Garças - MT v.9, n.1, p.61-75. abril/2019. Disponível em: <<http://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/geo/article/view/8322>> Acesso em: 12 de maio de 2020.

SOARES, W. L. et al. **Qualidade do café arábica por diferentes granulometrias**. Revista Ciência Agrícola, Rio Largo, v. 17, n. 1, p. 31-35. 2019. Disponível em:<<https://www.seer.ufal.br/index.php/revistacienciaagricola/article/view/6495/5894>>. Acesso em: 15 de fev de 2021.

SOUTO, L. A. **Ocorrência de *Leucoptera coffeella* e detecção da presença de minas comparando amostragem convencional e amostragem por fotogrametria terrestre.** 2019. 27 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2019. Disponível em: <<http://clyde.dr.ufu.br/handle/123456789/27370>>. Acesso em: 22 de maio 2020.

VASCONCELOS, G. C. **Identificação da praga bicho-mineiro em plantações de café usando imagens aéreas e *Deep Learning*.** 2019. 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Sistemas de informação) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2019. Disponível em: <<http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/26175/1/IdentificacaoPragaBicho-mineiro.pdf>>. Acesso em: 27 de jan 2021.

VIDAL, M. L. B. et al. T. **Capítulo 13. Nematoides entomopatogênicos: agentes promissores no controle biológico de parasitos.** Tópicos especiais em Ciência Animal VII. 1ª EDIÇÃO ALEGRE-ES CAUFES 2018. Disponível em: <http://www.cienciasveterinarias.ufes.br/sites/cienciasveterinarias.ufes.br/files/field/anexo/topicos_especiais_em_ciencia_animal_vii_-_teca_2018_1.pdf#page=190>. Acesso em: 05 de jan de 2021.

VIDAL, L. A. et al. **Obtenção de RNA de bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella*) para transcritômica e silenciamento gênico.** X Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 8 a 11 de outubro de 2019, Vitória – ES. Disponível em: <<http://www.consorciopesquisacafe.com.br/ojs/index.php/SimposioCafe2019/article/view/264/156>>. Acesso em: 26 de maio 2020.

VILARINHO, C. O. **Nematoides entomopatogênicos e *Bacillus* spp. no controle de BichoMineiro em condições de laboratório.** UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA(UFU). Monte Carmelo – MG. 2020. Disponível em: <<http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/29654/1/NematoidesEntomopatogenicosBacillus.pdf>>. Acesso em: 05 de jan de 2021.

CAPÍTULO 1

**CONTROLE DE BICHO- MINEIRO, *Leucoptera coffeella* (LEPIDOPTERA:
LYONETIIDAE), COM NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS EM LAVOURAS
CAFEIRAS, *Coffea arabica* L.**

RESUMO

MENDONÇA, THIAGO FELLIPE NUNES DE. **Controle de bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae), com nematoides entomopatogênicos em lavouras cafeeiras, *Coffea arabica* L.** 2021. 65 f Dissertação (Mestrado em Agricultura e Informações Geoespaciais) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2021.

A cultura do cafeeiro é uma das mais importantes *commodities* do Brasil, sendo o país o maior produtor e exportador mundial. O bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella*, é considerado praga importante do cafeeiro e tem causado danos severos em lavouras na região do Cerrado Mineiro em função das condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento do inseto. Esse trabalho teve por objetivo avaliar o potencial de controle e reprodutivo de nematoides entomopatogênicos ao bicho-mineiro. Foram realizados testes relacionados à virulência, testes de concentração, tempo letal, penetração e potencial reprodutivo para lagartas e pupas em isolados de nematoides entomopatogênicos a fim de obter aqueles que resultam em maior mortalidade de lagartas. Quanto à seleção de isolados não houve diferença entre os nematoides testados, selecionando-se para os ensaios posteriores *Heterorhabditis amazonensis* MC01 e *Steinernema feltiae*. Os valores da CL_{80} para *L. coffeella* quando usado *S. feltiae* foi de 194 JIs lagarta⁻¹ e 195 JIs pupa⁻¹, enquanto para *H. amazonensis* MC01 as CL_{80} foram de 165 JIs lagarta⁻¹ e 150 JIs pupa⁻¹, respectivamente. Quanto ao tempo letal verificou-se que a partir do quarto dia houve estabilidade na mortalidade dos insetos. Referente à penetração de juvenis infectantes em larvas e pupas obteve-se que na menor concentração houve menor penetração no corpo do inseto. Quanto à reprodução verificou-se que o nematoide possui capacidade de completar seu ciclo de vida no inseto formando uma próxima geração. Pode-se demonstrar o potencial do uso de *H. amazonensis* MC01 para o controle do bichomineiro, destacando a necessidade de testes posteriores em condições de campo.

Palavras-chave: cafeeiro; controle biológico; Heterorhabditidae; *Leucoptera coffeella*; Steinernematidae.

ABSTRACT

MENDONÇA, THIAGO FELLIPE NUNES DE **Mine leaf control with entomopathogenic nematodes, *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae), in coffee plants, *Coffea arabica* L.** 2021. 65 f Dissertação (Mestrado em Agricultura e Informações Geoespaciais) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2021.

The coffee crop is one of the most important commodities in Brazil, being the country the largest producer and exporter in the world. The miner leaf, *Leucoptera coffeella*, is considered an important pest of the coffee tree and has caused severe damage to crops in the Cerrado Mineiro region due to favorable climatic conditions for the development of the insect. This work aimed to evaluate the control and reproductive potential of entomopathogenic nematodes to the miner leaf. Tests related to virulence, concentration, lethal time, penetration and reproductive potential for caterpillars and pupae were performed on entomopathogenic nematode isolates in order to obtain those that result in higher caterpillar mortality. As for the selection of isolates, there was no difference between the nematodes tested, being selected for the subsequent assays *Heterorhabditis amazonensis* MC01 and *Steinernema feltiae*. The LC80 values for *L. coffeella* when *S. feltiae* was used were 194 IJs caterpillar-1 and 195 IJs pupa-1, while for *H. amazonensis* MC01 the LC80 were 165 IJs caterpillar-1 and 150 IJs pupa-1, respectively. As for the lethal time, it was found that from the fourth day there was stability in insect mortality. Regarding the penetration of infective juveniles in larvae and pupae, it was found that at the lowest concentration there was less penetration into the insect's body. As for reproduction, it was found that the nematode has the capacity to complete its life cycle in the insect, forming a next generation. The potential of using *H. amazonensis* MC01 for the control of the worm can be demonstrated, highlighting the need for further tests under field conditions.

Keywords: biological control; coffee crop; Heterorhabditidae; *Leucoptera coffeella*; Steinernematidae.

1 Introdução

A cultura do cafeeiro é uma das mais importantes *commodities* do Brasil, sendo o maior produtor e exportador mundial, atingindo 3,157 milhões de sacas de 60 kg exportadas em junho de 2019, representando um aumento de 123,3% em relação ao mesmo período do ano passado segundo dados da Secretaria de Comércio Exterior (SECEX). Atrelado a sua importância econômica pode-se citar também a sua importância social e histórica, o que torna a cafeicultura um importante marco no contexto nacional. O manejo da cultura é um fator de extrema importância, que por ser uma cultura perene exige atenção especial, principalmente visando reduzir custos de produção, que está ligado de forma direta ao controle de pragas, dentre elas o bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) (SECEX, 2019).

O bicho-mineiro é considerado praga chave do cafeeiro e tem causado danos severos em lavouras na região do Cerrado Mineiro e Alto Paranaíba em função das condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento do inseto. Os prejuízos econômicos são decorrentes da alimentação da lagarta do parênquima foliar, abrindo minas nas folhas, o que reduz a área foliar, acarreta desfolha e conseqüentemente causa diminuição da produção (CASTILLO, 2016).

Alguns fatores estão envolvidos para que ocorra a infestação de bicho-mineiro, tais como fatores climáticos como temperatura e umidade relativa, na qual a precipitação pluvial e a umidade relativa alta influenciam negativamente a praga, e a temperatura alta favorece a infestação do inseto praga (OLIVEIRA, 2003). Além disso, fatores como o sistema de condução da lavoura, onde o maior espaçamento pode favorecer o ataque da praga, a presença ou ausência de inimigos naturais como parasitoides, predadores e entomopatógenos, a presença ou ausência de plantas daninhas, a aplicação de fungicidas cúpricos e o ciclo bienal do cafeeiro também interferem no nível populacional do inseto no campo (TUELHER et al., 2003). Há evidências de que ocorrem lesões em decorrência da alimentação das lagartas de bicho-mineiro durante o ano todo, sendo notados picos de infestação nos meses de abril e maio e outro ainda em setembro e outubro, na região do Triângulo Mineiro (OLIVEIRA, 2007).

Segundo estudos realizados por Assis (2012) a precipitação pluvial e a umidade relativa alta influenciam negativamente a praga, e a temperatura alta favorece a infestação do insetopruga. Há evidências de que na região do Cerrado Mineiro ocorrem lesões em decorrência da alimentação das lagartas de bicho-mineiro durante o ano todo, principalmente entre agosto e novembro, período de menor umidade relativa, precedido por um período de estiagem, condições favoráveis para o desenvolvimento do inseto (Reis e Souza, 2002; Assis et al., 2012).

Em função das elevadas infestações de *L. coffeella* observadas na região do Cerrado mineiro e das dificuldades encontradas com o controle químico, que não tem sido considerado eficaz, tem se buscado por métodos adicionais de controle do inseto-praga, a fim de reduzir os índices populacionais encontrados no campo e que têm causado prejuízos aos cafeicultores.

Dentre os métodos que podem ser incluídos ao manejo da praga o controle biológico apresenta potencial considerando as possibilidades de uma cafeicultura com maior sustentabilidade e gerando produtos de elevada qualidade buscados pelo mercado interno e externo. Os nematoides entomopatogênicos (Heterorhabditidae e Steinernematidae) são organismos vetores de bactérias, que é o principal agente patogênico. Ao serem introduzidas na hemocele do inseto pelo nematoide, as células bacterianas são liberadas na hemolinfa, onde excretam toxinas, que causam a morte do inseto (Gaugler and Kaya, 1990; Clarke, 2008). A alta virulência, a capacidade de busca pelo hospedeiro, a possibilidade de produção em massa, a segurança e a compatibilidade com muitos inseticidas químicos, são vantagens que tornam os nematoides entomopatogênicos vantajosos em programas de manejo de pragas (Dolinski et al., 2017).

Os nematoides entomopatogênicos são capazes de controlar com eficácia insetos-praga em diferentes ambientes, incluindo aqueles de hábito críptico (Lacey and Georgis, 2012). A proteção dada ao inseto em relação ao ambiente, também serve de proteção para o nematoide, como observado por Gözel and Kasap, 2015, que verificaram que as galerias realizadas pela larva de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera Gelechiidae) nas folhas do tomateiro, forneceram um ambiente favorável para os nematoides penetrarem no inseto, além de mantê-los protegidos de fatores abióticos, como dessecação e radiação ultravioleta.

Considerando os estudos já realizados quanto à ação desses organismos no controle de outros lepidópteros minadores como *T. absoluta* (Gözel and Kasap, 2015) e *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Eivazian Kary et al., 2018; Mhatre et al., 2020), e mesmo a compatibilidade de ação com inseticidas químicos (Amizadeh et al., 2019), vislumbrou-se o potencial de ação de nematoides entomopatogênicos sobre *L. coffeella*. Com isso, teve-se por objetivo avaliar o potencial de controle e reprodutivo de nematoides entomopatogênicos a *L. coffeella*.

2 Material e métodos

O experimento foi conduzido no laboratório de Entomologia da Universidade Federal de Uberlândia. Para a coleta das folhas foi utilizado o cafeeiro pré-existente na área experimental, com cultivares Topázio, espaçamento de 2,5 m entre plantas. A coleta foi realizada no terço médio superior do cafeeiro, num caminhamento aleatório totalizando 100 folhas com minas viáveis. As larvas e pupas de *L. coffeella* utilizadas nos experimentos foram obtidas em lavoura cafeeira, *C. arabica* cultivar Topázio MG-1190, localizada no município de Monte Carmelo, MG, coordenadas geográficas 18°43'31,75''S, 47°31'32,06''O, e altitude 890 m.

2.1 Seleção de isolados de nematoides entomopatogênicos

Cada ensaio conteve onze tratamentos, sendo os isolados *H. amazonensis* MC01, *H. amazonensis* GL, *Heterorhabditis* sp. UENP01, *Heterorhabditis* sp. UENP02, *Heterorhabditis* sp. UENP03, *Heterorhabditis* sp. UENP04, *Heterorhabditis* sp. UENP07, *Steinernema feltiae*, *S. carpocapsae*, *S. brazilense* e o controle, testados sobre lagartas de *L. coffeella* em condições de laboratório, verificando-se a virulência sobre o inseto. A viabilidade inicial dos juvenis infectantes (JIs) das suspensões de cada isolado foi confirmada por meio da motilidade dos nematoides antes da aplicação.

Colocou-se duas folhas minadas em placa de Petri de vidro (9 cm de diâmetro) forrada com duas folhas de papel filtro e para cada isolado foi aplicado 1,2 mL por placa de suspensão do nematoide na concentração de 80 JI lagarta⁻¹, emergidos de até três dias e armazenados por até cinco dias. Para o preparo das suspensões contabilizou-se com auxílio de microscópio estereoscópio em placas de microtitulação de 96 poços a quantidade de JIs existentes em cada mL das suspensões.

Cada repetição foi constituída por uma placa de Petri. Foram realizadas 20 repetições por tratamento, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado. As placas foram fechadas com Parafilm® e mantidas em câmara climatizada do tipo B.O.D. a 25 ± 2°C, 70% UR e 12 h de fotoperíodo. As avaliações de mortalidade foram realizadas após 96 h. As lagartas mortas foram mantidas em B.O.D. a 25 ± 2°C em câmara seca por dois dias para posterior dissecação, sendo então, observadas em microscópio estereoscópio para confirmação da mortalidade pelo nematoide.

Os valores da mortalidade foram corrigidos utilizando a equação (1) de Abbott (1925), onde: M_a = Mortalidade corrigida em função do tratamento testemunha; M_t = Mortalidade observada no tratamento com o inseticida e M_c = Mortalidade observada no tratamento testemunha. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de médias Scott-Knott ($p < 0,05$) com auxílio do software estatístico Sisvar (Ferreira, 2019).

- Equação Mortalidade corrigida.

$$M_a = \frac{M_t - M_c}{(100 - M_c) * 100} \quad (1)$$

2.2 Concentração letal (CL_{50}) de nematoides entomopatogênicos

Para avaliar a concentração de aplicação foram testados os nematoides entomopatogênicos *S. feltiae* e *H. amazonensis* MC01, selecionados no teste anterior, quanto à mortalidade de lagartas de *L. coffeella*. Os experimentos foram conduzidos nas mesmas condições do ensaio descrito na seção 2.1.

Foram realizados dois experimentos, um para verificar a concentração letal de aplicação dos nematoides para lagartas e outro para pupas de *L. coffeella*. Cada experimento contou com dez tratamentos para cada espécie de nematoide, sendo nove concentrações, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 e 200 JI inseto⁻¹ e o controle que recebeu a aplicação somente de água destilada. Foi aplicado sobre duas folhas de papel filtro dispostas em placa de Petri (9 cm de diâmetro) 1,2 mL de suspensão aquosa nas respectivas concentrações com cinco repetições por tratamento (cada repetição foi representada por uma placa de Petri). Em cada placa foram dispostas oito minas ativas de bicho-mineiro. Utilizaram-se JIs emergidos de até 3 dias e armazenados por até 5 dias. O experimento foi mantido em câmara climatizada tipo B.O.D. a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 70% UR e 12 h de fotoperíodo.

A contagem de lagartas mortas foi realizada após 96 h. Para confirmação da mortalidade pelo nematoide, as placas foram mantidas em B.O.D. a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ em câmara seca por dois dias, sendo os insetos posteriormente dissecados, observando-os com auxílio de microscópio estereoscópio a presença de nematoides. Os dados foram submetidos à análise de Probit, onde os parâmetros estimados do modelo foram testados pelo teste de Qui-Quadrado ($p < 0,01$), com

o objetivo de selecionar a melhor concentração letal do nematoide em relação à mortalidade causada às lagartas ou pupas de bicho-mineiro.

2.3 Tempo letal (TL₅₀) de nematoides entomopatogênicos

Para a avaliação do tempo letal (TL) que os nematoides *S. feltiae* e *H. amazonensis* MC01 levam para causar mortalidade de lagartas e pupas de *L. coffeella* foram estabelecidos experimentos seguindo a mesma metodologia utilizada para determinação da concentração letal. A concentração utilizada para cada espécie foi determinada no ensaio anterior, considerando a maior mortalidade observada de lagartas e pupas. Em cada tempo foram utilizadas cinco repetições. Em cada placa foram colocadas oito folhas contendo minas e pupas de bicho-mineiro, respectivamente para os experimentos de mortalidade de lagartas e pupas. Os tratamentos consistiram em sete tempos de avaliação, 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 h.

Os valores da mortalidade foram corrigidos utilizando equação (1). Foi ajustado um modelo linear generalizado (MLG), com distribuição binomial e função de ligação logit, considerando um fatorial 2 x 7, onde o primeiro fator referiu-se ao nematoide (*S. feltiae* e *H. amazonensis*) e o segundo fator aos tempos de avaliação. Quando diferenças significativas foram detectadas pela Análise de Deviance (ANODEV), por meio do teste de Qui-Quadrado ($p < 0,01$), as médias para o fator nematoide foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) e para os diferentes tempos procedeu-se com o ajuste de regressão.

2.4 Potencial reprodutivo do nematoide entomopatogênicos em *Leucoptera coffeella*

Para avaliação do potencial reprodutivo dos nematoides entomopatogênicos em lagartas e pupas de *L. coffeella* foram utilizadas as concentrações de 160, 180 e 200 JI lagarta⁻¹ no volume de 0,6 mL placa⁻¹ do nematoide *H. amazonensis* MC01. No controle foi adicionado apenas água. As suspensões foram adicionadas em uma placa de Petri (5 cm de diâmetro) com duas folhas de papel filtro, onde foi colocada uma mina de *L. coffeella* ou uma folha com pupa. Para verificar a penetração dos JIs após a morte dos insetos, dez cadáveres foram selecionados aleatoriamente e transferidos para uma placa de Petri separada (5 cm de diâmetro) contendo papel filtro seco e mantidos no escuro por 24 h.

Após 24 h, os cadáveres foram lavados com água destilada para remover os nematoides da superfície do corpo e dissecados em NaCl (1%), observando-os com o auxílio de um microscópio estereoscópio para contagem do número de JIs que penetraram no inseto.

Para o ensaio de reprodução, outros dez cadáveres foram selecionados aleatoriamente, lavados com água destilada para remoção dos nematoides aderidos ao corpo. Em seguida, os cadáveres foram transferidos individualmente para armadilha de White e incubados a $24 \pm 2^\circ\text{C}$ no escuro em B.O.D. O número total de JIs que emergiram de cada cadáver foi quantificado. Cada cadáver foi considerado uma repetição.

Para a contagem de nematoides encontrados na lagarta e pupa, foi ajustado um MLG com distribuição de Poisson e função de ligação log, onde a significância dos tratamentos foi realizada pelo teste de Qui-Quadrado ($p < 0,01$) na ANODEV. Se significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Para verificação da correlação entre penetração de juvenis infectantes e reprodução foi realizada a correlação de Pearson.

3 Resultados e Discussão

3.1 Seleção de nematoides entomopatogênicos

Todas as espécies testadas foram patogênicas a *L. coffeella*. *Heterorhabditis amazonensis* GL, *H. amazonensis* MC01, *Heterorhabditis* sp. UENP1, *S. feltiae* e *Heterorhabditis* sp. UENP2 proporcionaram maior mortalidade de lagartas de *L. coffeella* em relação aos demais nematoides avaliados, sendo superiores em até 40% em relação aos demais, que não diferiram entre si (Tabela 1).

Tabela 1 - Mortalidade corrigida (%)* de lagartas de *Leucoptera coffeella* causada por diferentes populações de nematoides entomopatogênicos.

Tratamento	Mortalidade (%)**
<i>Heterorhabditis amazonensis</i> GL	79,42 \pm 6,44 a
<i>Heterorhabditis amazonensis</i> MC01	76,48 \pm 6,61 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. UENP1	73,54 \pm 6,71 a
<i>Steinernema feltiae</i>	73,54 \pm 6,71 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. UENP2	70,60 \pm 6,75 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. UENP3	48,84 \pm 6,50 b
<i>Steinernema brazilense</i>	43,84 \pm 6,35 b
<i>Steinernema carpocapsae</i>	38,84 \pm 5,98 b
<i>Heterorhabditis</i> sp. UENP7	35,02 \pm 3,37 b
<i>Heterorhabditis</i> sp. UENP4	33,84 \pm 5,35 b

Média ± Erro padrão da média.

*Mortalidade corrigida pela equação (1).

**Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 1% de probabilidade. Dados transformados em $\sqrt{(y + 0,5)}$.

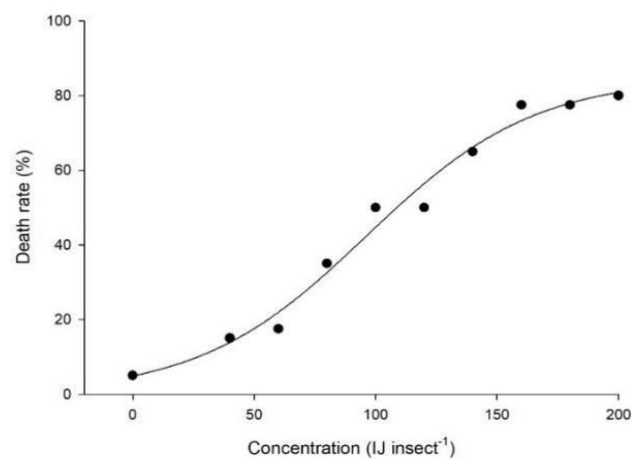
3.2 Concentração letal (CL50) de nematoides entomopatogênicos

Observando Todas as espécies testadas, analisa-se a CL50 de nematoides entomopatogênicos para as fases de larva e pupa.

3.2.1 Lagartas

A CL₅₀ média obtida para causar mortalidade em lagartas de *L. coffeella* por *S. feltiae* foi de 106 JIs lagarta⁻¹, enquanto a CL₈₀ foi de 194 JIs lagarta⁻¹. Pode-se observar que houve um aumento na mortalidade dos insetos em até 80%, com o aumento na concentração aplicada por lagarta (Figura 1).

Figura 1 - Concentrações letais de *Steinernema feltiae* (juvenis infectantes por lagarta) para causar mortalidade em *Leucoptera coffeella* em condições de laboratório.

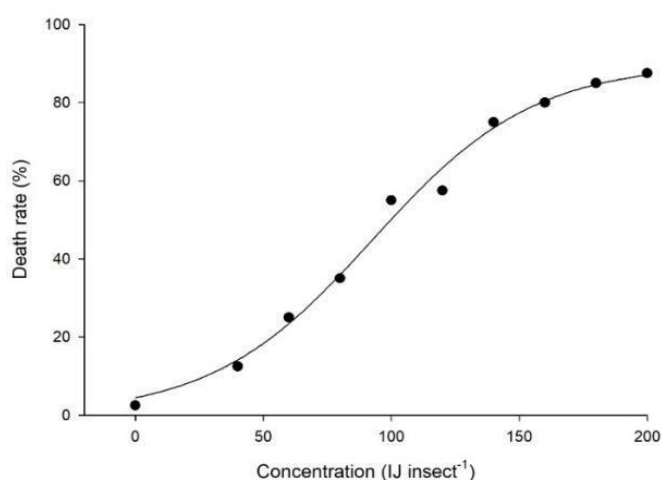


Fonte: o autor (2021).

De acordo com o gráfico apresentado na Figura 2 pode-se concluir que a curva de mortalidade de lagartas de *L. coffeella* teve comportamento proporcional ao aumento da concentração de *S. feltiae*.

Para *H. amazonensis* MC01, CL₅₀ e CL₈₀ médias obtidas para lagartas foram de 96 JIs lagarta⁻¹ e 165 JIs lagarta⁻¹, respectivamente. Verificou-se que houve um aumento na mortalidade de lagartas com o incremento na concentração de aplicação. A curva de mortalidade apresentou crescimento exponencial quando a CL foi superior a 50 (Figura 2).

Figura 2 - Concentrações letais de *Heterorhabditis amazonensis* MC01 (juvenis infectantes por lagarta) para causar mortalidade em *Leucoptera coffeella* em condições de laboratório.

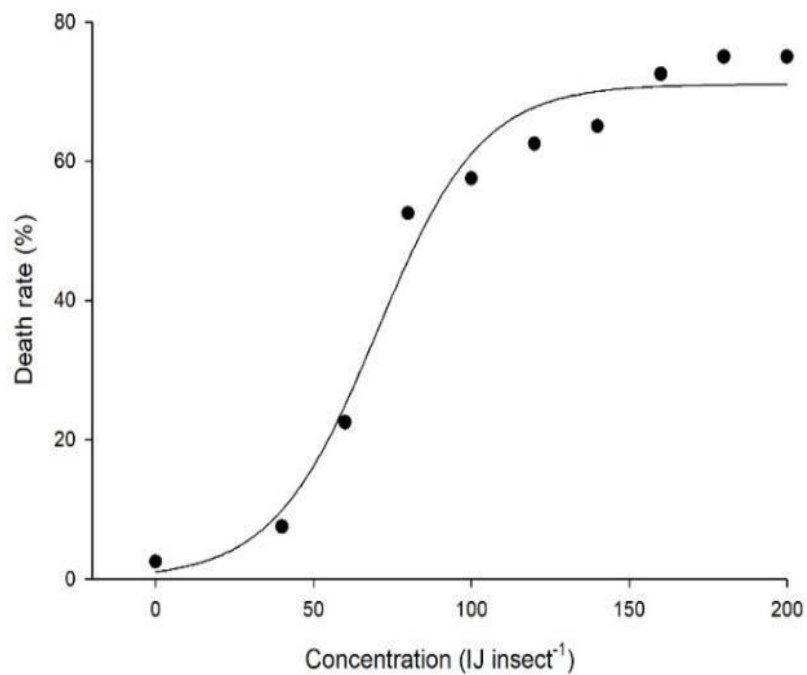


Fonte: o autor (2021).

3.2.2 Pupas

A CL₅₀ obtida para pupas quando aplicado *S. feltiae* foi de 95 JIs pupa⁻¹, enquanto a CL₈₀ foi de 195 JIs pupa⁻¹. A mortalidade de pupas aumentou em até 80% com o incremento na concentração de JIs aplicada (Figura 3). Este resultado foi semelhante ao obtido nas lagartas de *L. coffeella*, onde o aumento de mortalidade foi observado a partir da CL₅₀. Os valores da CL₈₀ para *L. coffeella* quando usado *S. feltiae* foi de 194 JIs lagarta⁻¹ e 195 JIs pupa⁻¹, enquanto para *H. amazonensis* MC01 as CL₈₀ foram de 165 JIs lagarta⁻¹ e 150 JIs pupa⁻¹, respectivamente

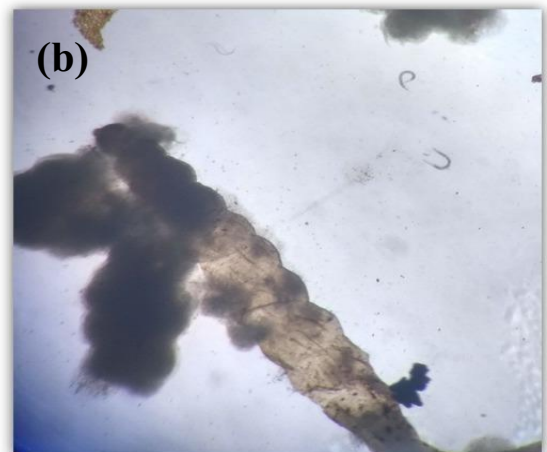
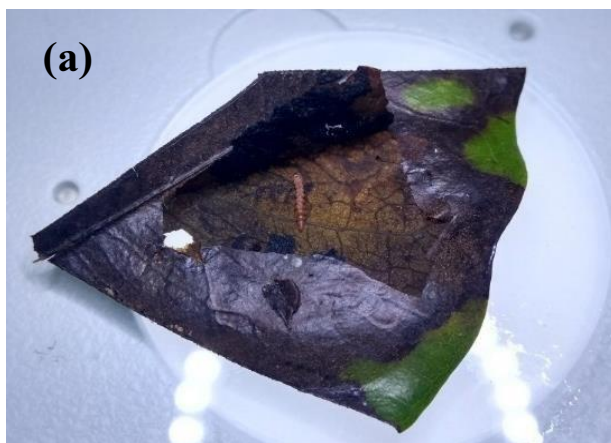
Figura 3 - Concentrações letais de *Steinernema feltiae* (juvenis infectantes por pupa) para causar mortalidade em *Leucoptera coffeella* em condições de laboratório.



Fonte: o autor (2021).

Em relação à *H. amazonensis* MC01, as CL_{50} e CL_{80} obtidas foram de 87 e 150 JIs pupa¹, respectivamente. Como pode ser visto na Figura 4, observa-se uma lagarta e uma pupa de *Leucoptera coffeella* morta.

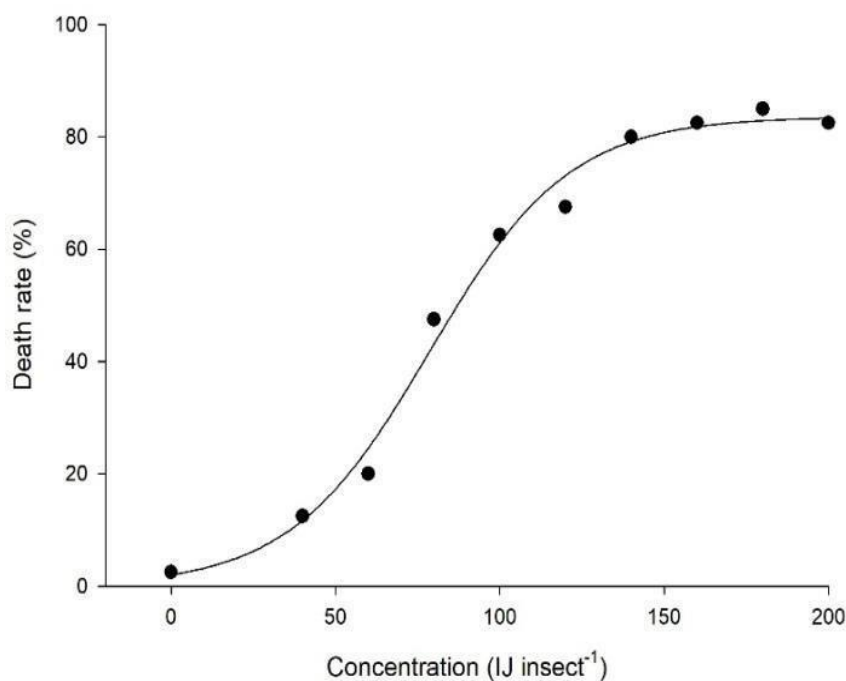
Figura 4 – (a) Lagarta de *Leucoptera coffeella* morta por *Heterorhabditis amazonensis* MC01, (b) Pupa de *Leucoptera coffeella* morta por *Heterorhabditis amazonensis* MC01.



Fonte: o autor (2021).

Quanto às concentrações utilizadas, verificou-se que quanto maior a concentração maior a mortalidade de pupas obtida (Figura 5).

Figura 5 - Concentrações letais de *Heterorhabditis amazonensis* MC01 (juvenis infectantes por pupa) para causar mortalidade em *Leucoptera coffeella* em condições de laboratório.



Fonte: o autor (2021).

3.3 Tempo letal (TL50) de nematoides entomopatogênicos

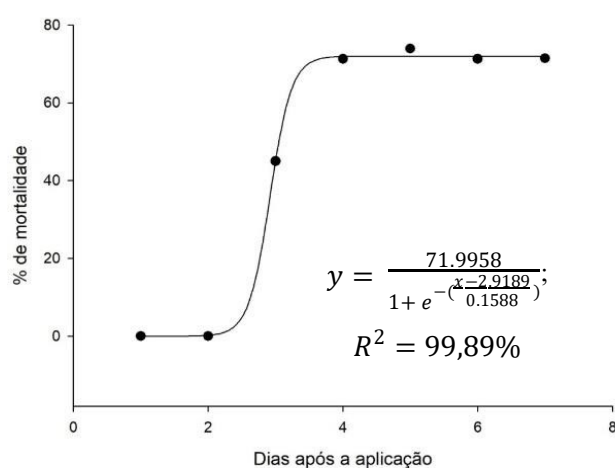
Observando Todas as espécies testadas, analisa-se a TL50 de nematoides entomopatogênicos para as fases de larva e pupa.

3.3.1 Lagartas

Não houve diferença entre os tratamentos *H. amazonensis* e *S. feltiae*, ressaltando-se que as concentrações utilizadas foram as obtidas no ensaio de concentração, utilizando-se a CL₈₀ de cada isolado. Resultados como estes são relevantes para a seleção do nematoide para futuros estudos. O tempo letal de estabilidade para causar mortalidade de lagartas foi de 4 dias. Aos 3 dias houve 45% de mortalidade de lagartas, não atingindo a TL₅₀. Após o quarto dia a mortalidade se manteve estável, indicando que o período ideal de incubação é de 4 dias. Com

cinco dias após a inoculação observou-se mortalidades próximas a 80%, posteriormente manteve-se estável. Desta forma, pode-se considerar 4 dias como o tempo ideal para morte de lagartas pelos nematoides testados nas suas devidas concentrações, alcançando aproximadamente 73% de mortalidade de lagartas (Figura 6).

Figura 6 - Mortalidade média de lagartas (%) de *Leucoptera coffeella* causada pelos nematoides entomopatogênicos, *Heterorhabditis amazonensis* MC01 e *Steinernema feltiae* durante sete dias.



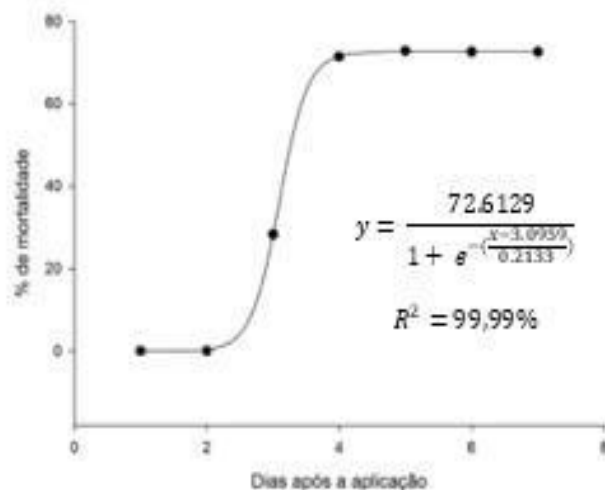
Fonte: o autor (2021).

3.3.2 Pupas

Em relação à mortalidade de pupas de *L. coffeella* ao longo do tempo não foi observada diferença entre os tratamentos *H. amazonensis* e *S. feltiae* utilizando-se a CL₈₀ determinadas para cada espécie de nematoide no experimento de concentração.

A partir dos quatro dias observou-se estabilidade na mortalidade de pupas, considerando-se esse o tempo letal para causar aproximadamente 71% de mortalidade de pupas de *L. coffeella*. Valores similares foram obtidos nas avaliações seguintes, até o sétimo dia. Aos 3 dias houve 28% de mortalidade de lagartas, não atingindo a TL₅₀ (Figura 7).

Figura 7 - Mortalidade média de pupas (%) de *Leucoptera coffeella* causada pelos nematoides entomopatogênicos, *Heterorhabditis amazonensis* MC01 e *Steinernema feltiae* durante sete dias.



Fonte: o autor (2021).

3.4 Potencial reprodutivo do nematoide entomopatogênicos em *Leucoptera coffeella*

O resultado do teste de penetração de juvenis infectantes de *H. amazonensis* MC01 a larvas e pupas de *L. coffeella* foi significativo pelo teste estático de distribuição amostral do Qui-quadrado ao nível 0,01 de significância.

Observou-se que em menores concentrações obteve-se menor número de juvenis infectantes penetrando no interior do inseto, como na concentração de 160 JI inseto⁻¹, onde foi encontrada menor quantidade de nematoides tanto para lagarta como para pupa (Tabela 3).

Tabela 3 - Penetração de juvenis infectantes de *Heterorhabditis amazonensis* MC01 em diferentes concentrações em lagartas e pupas de *Leucoptera coffeella*. Avaliação realizada após 4 dias da aplicação.

Tratamento (juvenis infectantes inseto ⁻¹)	Número de nematoides por lagarta	Número de nematoides por pupa
160	2,3 ± 0,480 a	1,9 ± 0,436 a
180	3,9 ± 0,624 ab	3,7 ± 0,608 b
200	6,2 ± 0,787 b	5,0 ± 0,707 b

Fonte: o autor (2021).

Pode-se observar que em relação aos juvenis infectantes de *H. amazonensis* MC01 obtidos da reprodução em *L. coffeella* quanto maior a concentração utilizada maior foi a

progênie obtida, sendo assim, foi recuperado um número maior de juvenis infectantes na maior concentração aplicada, 200 JI inseto⁻¹ tanto para lagartas como para pupas (Tabela 3).

Tabela 3 - Juvenis infectantes de *Heterorhabditis amazonensis* MC01 obtidos após a reprodução do nematoide em lagartas e pupas de *Leucoptera coffeella*. Avaliação realizada após 12 dias dos insetos mortos.

Tratamento (juvenis infectantes inseto ⁻¹)	Número de juvenis infectantes por lagarta	Número de juvenis infectantes por pupa
160	21,1 ± 1,45 a	18,1 ± 1,36 a
180	25,8 ± 1,61 ab	27,1 ± 1,65 b
200	31,4 ± 1,77 b	36,1 ± 1,90 c

Fonte: o autor (2021).

A relação entre penetração de juvenis infectantes e reprodução foi significativa pelo teste estático T *student*, sendo de 0,49 para lagartas e 0,68 para pupas, assim, pode-se inferir que os nematoides que penetraram foram capazes de completar seu ciclo de vida e gerar progênie em *L. coffeella*.

4 Discussão

O presente estudo retrata os primeiros dados sobre a ação de nematoides entomopatogênicos sobre larvas e pupas de *L. coffeella*, com espécies de *Steinernema* spp. e espécies nativas de *Heterorhabditis* spp., verificando-se patogenicidade, virulência, concentração e capacidade reprodutiva no inseto.

Mesmo não havendo trabalhos prévios avaliando nematoides entomopatogênicos a *L. coffeella*, estudos demonstram o potencial no controle de pragas que vivem em ambientes críticos, como em minas foliares (Van Damme et al., 2015; Eivazian Kary et al., 2018). A capacidade dos nematoides entomopatogênicos em buscar o hospedeiro pode ser uma importante característica do entomopatógeno que acarrete maior mortalidade da praga.

Batalla-Carrera et al. (2010) verificaram a capacidade dos nematoides em penetrar nas minas e matar larvas de *T. absoluta*, obtendo valores entre 77 e 91% de mortalidade; enquanto Garcia del Pino et al. (2013) verificaram que *S. carpocapsae* e *H. bacteriophora* causaram altas taxas de mortalidade de larvas de *T. absoluta*, 100,0 e 96,7%, respectivamente. Para *L. coffeella*, verificamos índices de mortalidade de até 79% (*H. amazonensis* GL) quando utilizada a

concentração de 80 JI inseto⁻¹, o que demonstra a elevada suscetibilidade das larvas aos nematoides entomopatogênicos.

As avaliações de patogenicidade e virulência serviram de critério para selecionar os isolados para dar continuidade ao trabalho, sendo testes essenciais para avaliar quais espécies de nematoides são potenciais para o controle de *L. coffeella*. Estudos realizados por Steyn et al. (2019) avaliando o potencial de *Heterorhabditis* spp. e *Steinernema* spp. no controle de *Holocacista capensis* Van Nieuwerkerken & Geertsema (Lepidoptera: Heliozelidae) verificaram que as espécies *H. noenieputensis*, *H. indica* e *H. baujardi* se destacaram em relação aos demais nematoides quanto à mortalidade causada ao inseto minador. Vale ressaltar que muitos estudos realizados com insetos minadores testaram nematoides steinernematídeos (Gözel and Kasap, 2015; Van Damme et al., 2015; Kamali et al., 2017), assim, o resultado apresentado por Steyn et al. (2019), no qual os heterorhabditídeos demonstraram maior potencial quanto à virulência, destaca a importância da realização dos testes de seleção de isolados.

Kepekci et al. (2013) testaram nematoides entomopatogênicos a *P. operculella* e verificaram que *S. carpocapsae* foi a espécie mais virulenta, no entanto, *H. bacteriophora* também causou elevados índices de mortalidade (80%). No presente estudo cinco isolados se destacaram, dentre esses, quatro isolados de *Heterorhabditis* spp. e uma espécie de *Steinernema* sp., o que demonstra a importância de selecionar os nematoides entomopatogênicos que melhor se associam ao inseto-alvo.

Dentre os mais virulentos, *H. amazonensis* MC01 foi selecionado por ser uma espécie nativa, estando assim, melhor adaptado às condições locais. Ndereyimana et al. (2019), por exemplo, verificaram que isolados nativos causaram mortalidades maiores (53,3 - 96,7%) a *T. absoluta* do que espécies exóticas (0,0 - 26,7%), reforçando a importância de testar isolados nativos que podem sobreviver melhor ao ambiente e causar maiores índices de mortalidade da praga.

Steinernema feltiae foi selecionado por ser a única espécie de *Steinernema* spp. entre os mais virulentos, possuindo características biológicas e comportamentais distintas dos heterorhabditídeos, como tamanho, ausência de dente dorsal e intermediate foraging strategists (ambusher e cruiser) (Campbell and Gaugler, 1997), o que pode torná-lo mais eficiente na busca pelo hospedeiro. Heterorhabditídeos apresentam comportamento cruiser, porém o dente dorsal os auxilia na penetração pela cutícula do inseto (Griffin et al., 2005).

Com os promissores resultados obtidos para larvas, vislumbra o potencial de controle também de pupas de *L. coffeella*, possibilitando o direcionamento das aplicações a diferentes

estágios de desenvolvimento do inseto-praga. Com isso, estudos com pupas foram incluídos a partir dos testes de concentração, no qual foi possível verificar que tanto *H. amazonensis* como *S. feltiae* foram patogênicos também a pupas, causando índices de 80% de mortalidade.

Hassani-Kakhki et al. (2013) verificaram que a pré-pupa de *P. operculella* foi o estágio de desenvolvimento de maior suscetibilidade aos nematoides entomopatogênicos, destacando a importância da diferença de suscetibilidade nos estágios de desenvolvimento do inseto. No entanto, para pupas *T. absoluta*, Garcia-del-Pino et al. (2013) e Batalla-Carrera et al. (2010) verificaram baixa suscetibilidade, sendo este o estágio de desenvolvimento menos afetado pela ação do entomopatógeno.

As diferenças de suscetibilidade podem estar associadas às características morfológicas das pupas, como a ausência de aberturas naturais (cavidade oral e ânus) que facilitem a invasão dos nematoides nas pupas (Kaya and Hara, 1980; González-Ramírez et al., 2000).

Quanto a concentração de aplicação, Kepenekci et al. (2013) verificaram que existe uma correlação direta entre concentração e mortalidade para *P. operculella*, exceto para *S. feltiae* o qual não apresentou diferença de mortalidade nas concentrações testadas. *Steinernema feltiae* também foi considerado um nematoide com baixa virulência a *P. operculella* por HassaniKakhki et al. (2013). O aumento da mortalidade associado ao aumento da concentração de JIs foi observado para *L. coffeella*, tanto para *H. amazonensis* MC01 como para *S. feltiae*.

Ndereyimana et al. (2019) e Van Damme et al. (2016) discutem que essa relação direta entre concentração e mortalidade pode ocorrer pela maior quantidade de juvenis infectantes no interior do inseto resultando em maior quantidade de bactérias simbiotes e conseqüentemente, aumento nas taxas de toxinas e enzimas hidrolíticas secretadas pelas bactérias, causando maior mortalidade do inseto em menor tempo.

Yan et al. (2020) obtiveram a CL_{50} de *S. carpocapsae* a larvas de 4º instar de *P. operculella* de 181 JIs larva⁻¹, instar de maior suscetibilidade, enquanto Hassani-Kakhki et al. (2013) obtiveram índices inferiores com *S. carpocapsae*, 64 JIs larva⁻¹. Com isso, deve-se destacar que testes de concentração devem ser realizados a fim de otimizar a quantidade de JIs a ser aplicada, potencializando o controle e reduzindo gastos, já que aplicações em concentrações elevadas podem não incrementar a mortalidade do inseto e elevar os custos de controle.

Quanto ao tempo letal Ndereyimana et al. (2019) observaram mortalidade de larvas de *T. absoluta* com apenas 24 h após a inoculação, com índices de até 96,7% e após 72 h alcançando até 100%. No presente estudo o início da mortalidade de larvas e de pupas ocorreu

após 72 h e alcançou um patamar de estabilidade às 96 h após a inoculação. Esses tempos podem ser considerados curtos considerando outros agentes de controle biológico, como vírus e fungos entomopatogênicos (Goettel et al., 2005; Valicente, 2019), o que ocorre principalmente pela presença da bactéria liberada no interior do inseto logo que ocorre a penetração do juvenil infectante (Gaugler and Kaya, 1990).

A rápida penetração dos nematoides entomopatogênicos no inseto é uma característica que auxilia na sua sobrevivência quando aplicados via foliar, evitando longas exposições a temperaturas elevadas, radiação UV e dessecação (Ndereyimana et al., 2019).

Outra vantagem que pode ser destacada quanto aos resultados obtidos no controle de *L. coffeella* é a capacidade dos nematoides entomopatogênicos completarem seu ciclo de vida e reproduzir no inseto, o que possibilita a maior permanência do nematoide no campo. Yan (2020) verificou que *S. carpocapsae* é capaz de reproduzir em *P. operculella*, possibilitando a permanência do nematoide no campo e resultando em um manejo da praga em longo prazo.

Mhatre et al. (2020) avaliando o potencial de biocontrole de *S. cholashanense* em larva e pupa de *P. operculella* encontrou uma alta taxa de reprodução de *S. cholashanense* em *P. operculella*, com resultados indicando um bom potencial de controle. Dessa forma podemos concluir que o controle biológico já é uma realidade e já existe um amplo uso de seus recursos, o que é estendido para o controle das principais pragas do cafeeiro, dentre elas a *Leucoptera coffeella*.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of on insecticide. J. Econ. Entomol. 18 (2), 265-267. Disponível em:< <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>>. Acesso em: 30. Ago.2019.
- ALMEIDA, J.D. DE, MOTTA, I. DE O., VIDAL, L. DE A., BÍLIO, J.V.F., PUPE, J.M., VEIGA, A.D., et al., Bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella*): uma revisão sobre o inseto e perspectivas para o manejo da praga. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília (Documentos 372).2020.
- AMIZADEH, M., HEJAZI, M.J., NIKNAM, G., ASKARI-SARYAZDI, G. Interaction between the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae* and selected chemical insecticides for management of the tomato leafminer, *Tuta absoluta*. BioControl 64 (6), 1-13. 2019. Disponível em:< <https://doi.org/10.1007/s10526-019-09973-x>>. Acesso em: 30. Ago. 2020.
- ASSIS, G.A., ASSIS, F A., SCALCO, M.S., PAROLIN, F.J.T., FIDELIS, I., MORAES, J. C., GUIMARÃES, R.J.. Leaf miner incidence in coffee plants under different drip irrigation regimes and planting densities. Pesqui. Agropecu. Bras. 47 (2), 157-162. 2012. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2012000200002>>. Acesso em: 20. Jun. 2021.
- BATALLA-CARRERA, L., MORTON, A., GARCÍA-DEL-PINO, F. Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta absoluta* in laboratory and greenhouse conditions. BioControl 55, 523-530. 2010. Disponível em:<<https://doi.org/10.1007/s10526-010-9284-z>>. Acesso em: 20. Jun. 2021.
- CAMPBELL, J.F, GAUGLER, R., 1997. Inter-specific variation in entomopathogenic nematode foraging strategy: dichotomy or variation along a continuum? Fundam. Appl. Nematol. 20 (4), 393-398.
- CAMPANINI, E. B.; DAVOLOS, C. C.; ALVES, E. C. C.; LEMOS, M. V. F. Caracterização de novos isolados de *Bacillus thuringiensis* para o controle de importantes insetos-praga da agricultura. Bragantia, v. 71, n. 3, p. 362-369, 2012.
- CASTILLO, G. O bicho mineiro e os métodos de controle dessa praga tão devastadora, 2016. Disponível em: < <https://3rlab.wordpress.com/2016/06/01/o-bicho-mineiro-e-os-metodos-decontrole-dessa-praga-tao-devastadora/>>. Acesso em: 30. Ago.2019.
- CLARKE, D.J., 2008. Photorhabdus: a model for the analysis of pathogenicity and mutualism. Cell. Microbiol. 10 (11), 2159-2167. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-5822.2008.01209.x>>. Acesso em: 30. Jul.2021.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). Safra Brasileira de Café: Boletim Café dezembro 2020. 2020. Disponível em:< <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>>. Acesso em: 30. Jul.2021.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). Safra Brasileira de Café: Boletim Café – Maio de 2021. 2021. Disponível em:<<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>>. Acesso em: 30. Jul.2021.

CONCEIÇÃO, C. H. C.; GUERREIRO-FILHO, O.; GONÇALVES, W. Flutuação populacional do bicho-mineiro em cultivares. *Bragantia*, v. 64, n. 4, p. 625–631, 2005.

DOLINSKI, C., MONTEIRO, C., ANDALÓ, V., LEITE, L.G., 2017. Studies on entomopathogenic nematodes in Brazil: Past and future. *Nematoda* 4, e102017. Disponível em:< <http://dx.doi.org/10.4322/nematoda.01017>>. Acesso em: 30. Jul.2021.

EIVAZIAN KARY, N., SANATIPOUR, Z., MOHAMMADI, D., KOPPENHÖFER, A.M. Developmental stage affects the interaction of *Steinernema carpocapsae* and Abamectin for the control of *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera, Gelechiidae). *Biol. Control* 122, 18-23. 2018. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.03.018>>. Acesso em: 05. Jul.2021.

FERREIRA, D.F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. *Rev. Bras. Biom.* 37 (4), 529-535. 2019. Disponível em:<<https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>>. Acesso em: 20. Jul.2021.

FREIRIA, W. C. Bicho mineiro: Controle agora e tenha uma safra tranquila. *Revista COCAPEC*, 2017.

GARCIA-DEL-PINO, F.DO, ALABERN, X., MORTON, A. Efficacy of soil treatments of entomopathogenic nematodes against the larvae, pupae and adults of *Tuta absoluta* and their interaction with the insecticides used against this insect. *Biocontrol* 58 (6), 723-731. 2013. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1007/s10526-013-9525-z>>. Acesso em: 30. Jun.2021.

GAUGLER, R., KAYA, H.K. *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. CRC Press, Boca Raton. 1990.

GOETTEL, M.S., EILENBERG, J., GLARE, T.R. Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect populations. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K., Gill, S. (Eds.), *Comprehensive Molecular Insect Science*. Pergamon Press, Oxford, pp. 361–405. 2005.

GONZÁLEZ-RAMÍREZ, M., LEZAMA-GUTIÉRREZ, R., MOLINA-OCHOA, J., REBOLLEDO-DOMÍNGUEZ, O., LÓPEZ-EDWARDS, M., PESCADOR-RUBIO, A. Susceptibility of *Mocis latipes* (Lepidoptera: Noctuidae) to *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae). *J. Econ. Entomol.* 93 (4), 1105-1108. 2000. Disponível em:<<https://doi.org/10.1603/0022-0493-93.4.1105>> Acesso em: 12. Jun. 2021.

GÖZEL, Ç.; KASAP, İ. Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato field. *Türk. Entomol. Derg.* 39 (3), 229-237. 2015. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.16970/ted.84972>>. Acesso em: 12. Jun. 2021.

GRIFFIN, C., BOEMARE, N., LEWIS, E.E. Biology and behaviour. In: Grewal, P., Ehlers, R.-U., Shapiro-Ilan, D (Eds.), *Nematodes as Biocontrol Agents*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 47-64. 2005.

HASSANI-KAKHKI, M., KARIMI, J., HOSSEINI, M. Efficacy of entomopathogenic nematodes against potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) under laboratory conditions. *Biocontrol Sci. Technol.* 23 (2), 146-159. 2013. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1080/09583157.2012.745481>>. Acesso em: 12. Jun. 2021.

KAMALI, S., KARIMI, J., KOPPENHÖFER, A.M. New insight into the management of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) with entomopathogenic nematodes. *J. Econ. Entomol.* 111, 112-119. 2017. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1093/jee/tox332>>. Acesso em: 12. Jun. 2021.

KAYA, H.K., HARA, A.H. Differential susceptibility of lepidopterous pupae to infection by the nematode *Neoaplectana carpocapsae*. *J. Invertebr. Pathol.*, 36, 389-393. 1980. Disponível em:<[https://doi.org/10.1016/0022-2011\(80\)90043-9](https://doi.org/10.1016/0022-2011(80)90043-9)>. Acesso em: 12. Jun. 2021.

KEPENEKCI, I., TÜLEK, A., ALKAN, M., SELÇUK HAZIR. Biological control potential of native entomopathogenic nematodes against the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Turkey. *Pakistan J. Zool.* 45 (5), 1415-1422. 2013.

LACEY, L.A., GEORGIS, R. Entomopathogenic nematodes for control of insect pests above and below ground with comments on commercial production. *J. Nematol.* 44 (2), 218-25. 2012.

MHATRE, P.H., PATIL, J., RANGASAMY, V., DIVYA, K.L., TADIGIRI, S., CHAWLA, G., BAIRWA, A., VENKATASALAM, E.P. Biocontrol potential of *Steinernema cholashanense* (Nguyen) on larval and pupal stages of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller). *J. Helminthol.* 94, 1-5. 2020. Disponível em:<<https://doi.org/10.1017/S0022149X20000723>>. Acesso em: 12. Jun. 2021.

NDEREYIMANA, A., NYALALA, S., MURERWA, P., GAIDASHOVA, S. Potential of entomopathogenic nematode isolates from Rwanda to control the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Egypt. J. Biol. Pest Control* 29 (57), 1-7. 2019. Disponível em:<<https://doi.org/10.1186/s41938-019-0163-3>>. Acesso em: 12. Jun. 2021.

OLIVEIRA, A. C. S. de. Simulação computacional da dinâmica populacional do bichomineiro do cafeeiro *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae), utilizando a versão sexuada do modelo penna. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras, 83 p. 2007.

OLIVEIRA, E. E.; GUEDES, R. N. C.; TUELHER, E. S.; MAGALHÃES, L. C. Ocorrência de bicho-mineiro do cafeeiro (*Leucoptera coffeella*) influenciada pelo período estacional e pela altitude. Acta Scientiarum: Agronomy, v. 25, n. 1, p. 119-124, 2003.

OLIVEIRA, M. A. S.; SAMPAIO, J. B. R.; GOMES, A. C. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Cafeeiro no Distrito Federal. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento EMBRAPA, n. 2, p. 1–19, 2001.

PINTO, L. M. N.; BERLITZ, D. L.; CASTILHOS-FORTES, R.; FIUZA, L. M. Toxinas de *Bacillus thuringiensis*. Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento, v. 38, p.24-31, 2009/2010.

PRAÇA, L. B.; BATISTA, A. C.; MARTINS, E. S.; SIQUEIRA, C. B.; DIAS, D. G. S.; GOMES, A. C. M. M.; FALCÃO, R.; MONNERAT, R. G. Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 39, n. 1, p. 11-16, 2004.

REIS, P.R., SOUZA, J.C. Controle do bicho-mineiro. Cultivar 4 (39), 30-33. 2002

SECEX (Secretaria de Comércio Exterior), 2019. Balança comercial brasileira: semanal. Disponível em:<<https://www.gov.br/produtividade-e-comercio-exterior/ptbr/assuntos/comercio-exterior/estatisticas/balanca-comercial-brasileira-acumulado-do-ano>>. Acesso em: 12. Jun. 2021.

STEYN, L.A.I., ADDISON, P., MALAN, A.P., 2019. Potential of South African entomopathogenic nematodes to control the leaf miner, *Holocacista capensis* (Lepidoptera: Heliozelidae). *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 40 (2), 1-9. 2019. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.21548/40-2-3420>>. Acesso em: 12. Jun. 2021.

VAN DAMME, V.M., BECK, B.K.E.G., BERCKMOES, E., MOERKENS, R., WITTEMANS, L., DE VIS, R., ET AL. Efficacy of entomopathogenic nematodes against larvae of *Tuta absoluta* in the laboratory. *Pest Manag. Sci.* 72 (9), 1702-1709. 2015. Disponível em:<<https://doi.org/10.1002/ps.4195>>. Acesso em: 12. Jun. 2021.

YAN, J., SARKAR, S.C., MENG, R., REITZ, S., GAO, Y. Potential of *Steinernema carpocapsae* (Weiser) as a biological control agent against potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). *J. Integr. Agr.* 19 (2), 389-393. 2020. Disponível em:<[https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62826-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62826-1)>. Acesso em: 12. Jun. 2021.

VALICENTE, F.H. Entomopathogenic viruses. In: Souza, B., Vázquez, L.L., Marucci, R.C. (Eds.), *Natural Enemies of Insect Pests in Neotropical Agroecosystems: Biological Control and Functional Biodiversity*. Springer Nature, Switzerland, pp. 137-150. 2019.

CAPÍTULO 2

PROCESSAMENTO DE IMAGENS E USO DE UMA REDE *CONVOLUTIONAL NEURAL NETWORK* – CNN PARA DETECÇÃO DE MINAS DE BICHOMINEIRO, *Leucoptera coffeella*

RESUMO

MENDONÇA, THIAGO FELLIPE NUNES DE **Processamento de imagens e uso de uma rede *convolutional neural network* – CNN para detecção de minas de bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella***. 2021. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Informações Geoespaciais) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2021.

O bicho-mineiro é uma das pragas mais importantes na cultura do cafeeiro no Brasil, afetando sua produção. Com o intuito de mitigar essa problemática nas lavouras, esta pesquisa tem o objetivo avaliar o uso de imagens e determinação do índice de infestação de bicho-mineiro em lavoura cafeeira por meio de fotogrametria terrestre em comparação com o método de amostragem, onde foram avaliadas 30 plantas por ha observando-se a presença ou ausência de minas intactas nas folhas. Para o processamento digital das imagens foi utilizando o *software Ilastik®*, onde as fotos foram caracterizadas de acordo com o avanço da mina na folha e em seguida foram comparados com o método convencional de amostragem. Foram utilizadas 256 imagens de folhas saudáveis e 683 folhas lesionadas pelo bicho-mineiro-do-cafeeiro. Do total de 939 imagens, 593 foram utilizadas para treino, 218 para validação e 128 para testes. Na validação, os resultados para a acurácia ficaram em 95,87% e a acurácia de melhor resposta ficou com 96,09%.

Palavras-chave: agricultura de precisão; *Coffea arabica*; *Software Ilastik*; fotogrametria terrestre.

ABSTRACT

MENDONÇA, THIAGO FELLIPE NUNES DE. **Image processing and use of a convolutional neural network – CNN to detect miner leaf, *Leucoptera coffeella***. 2021. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Informações Geoespaciais) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2021.

The miner leaf is one of the most important pests in the coffee crop in Brazil, affecting its production. In order to mitigate this problem in crops, this research aims to evaluate the use of images and determination of the miner leaf infestation rate in coffee plantations by means of terrestrial photogrammetry in comparison with the sampling method, where 30 plants per hectares observing the presence or absence of intact mines in the leaves. For the digital processing of the images, the Ilastik® software was used, where the photos were characterized according to the advance of the mine on the sheet and then compared with the conventional sampling method. 256 images of healthy leaves and 683 leaves injured by the coffee leaf miner were used. Out of a total of 939 images, 593 were used for training, 218 for validation and 128 for testing. In the validation, the results for accuracy were 95.87% and the accuracy of best response was 96.09%.

Keywords: *Coffea arabica*; precision agriculture; *Software Ilastik*; terrestrial photogrammetry.

1 Introdução

O bicho-mineiro é uma das pragas mais importantes na cultura do cafeeiro no Brasil, podendo causar prejuízos na produção de frutos nas plantas devido às lesões geradas no parênquima paliádico das folhas que afetam a capacidade fotossintética (CONCEIÇÃO; GUERREIRO-FILHO; GONÇALVES, 2005). As perdas resultantes pelo ataque dessa praga podem atingir entre 30 a 80% na produtividade do cafeeiro e ocorrer até 75% de desfolha dependendo da severidade e da época do ataque (FREIRIA, 2017).

Na região do Cerrado Mineiro (Alto Paranaíba, Triângulo Mineiro e noroeste de Minas Gerais), o clima quente diminui o ciclo do bicho-mineiro, aumentando o número de gerações em um curto espaço de tempo originando alta população da praga. Logo, deve-se controlar o seu primeiro ciclo com eficácia nesta região para impedir a ocorrência de outros ciclos e um aumento da praga (SOUZA, 2017).

As complicações com o bicho-mineiro intensificaram a partir do ano de 1970 devido à forma de plantio mais espaçada e a incorporação de práticas culturais direcionadas para o controle da ferrugem. A pulverização com fungicidas cúpricos e também o uso de cobertura morta foram correlacionadas com o aumento da população da praga, devido à mudança do microclima e, conseqüentemente, influenciando a taxa de reprodução do bicho-mineiro (OLIVEIRA; SAMPAIO; GOMES, 2001).

No Cerrado, a incidência da praga é favorecida pelos períodos de estiagem, ocorrendo uma maior infestação nos meses de junho a outubro, época em que se deve focar no controle de *L. coffeella* (OLIVEIRA; SAMPAIO; GOMES, 2001). O nível de controle do bicho-mineiro, de acordo com Reis e Souza (1996), é de 20 a 30% de folhas minadas, mas adota-se níveis mais flexíveis em regiões com temperaturas mais amenas e níveis mais rígidos em regiões com temperaturas mais altas. Para a região do Cerrado Mineiro, não há um nível de controle registrado e, como o clima é favorável à praga, é importante estabelecer um valor mais criterioso. Além disso, a amostragem de bicho-mineiro não tem sido realizada como proposto para tomada de decisão no controle da praga, considerando-se as extensões áreas de plantio de cafeeiro na região e ao conseqüente elevado custo com mão de obra para realização dessa atividade. Com isso, o uso de imagens para determinação da população do inseto no campo possibilitará a melhor decisão para o momento do controle.

De acordo com CASTILLO (2016) para obtenção de melhores resultados no controle do bicho-mineiro, deve-se usar um conjunto de métodos de controle. Para auxiliar na tomada

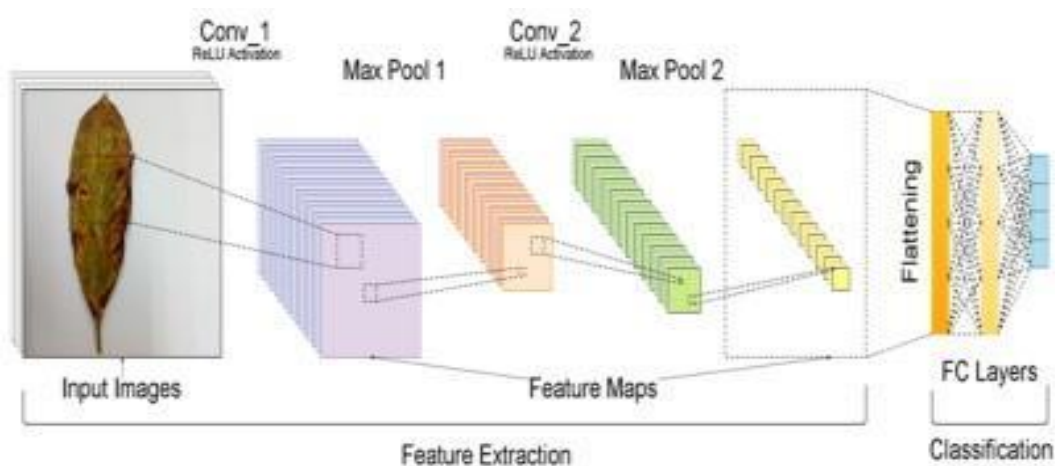
de decisão para o controle de bicho-mineiro a amostragem é uma importante ferramenta que auxilia no monitoramento da presença e índice populacional do inseto no campo. Quando se trata de usar imagens para detecção de problemas em uma cultura deve sempre levar em consideração que os algoritmos computacionais trabalham com funções pré-definidas, ou seja, ferramentas que já vem integradas na interface dos softwares com aquela função específica e os resultados obtidos desses processamentos seguem a lógica pré-programadas. No entanto, uma das dificuldades do uso da amostragem é a utilização de mão de obra empregada, que é onerosa e pouco especializada. Portanto, a utilização de imagens que identifiquem corretamente a presença de minas nas folhas e que forneçam os índices populacionais do inseto é uma ferramenta auxiliar no levantamento do inseto-praga, reduzindo o tempo de avaliação, o erro do avaliador e os gastos com mão de obra.

Assim, tem-se por objetivo avaliar o uso de imagens obtidas por fotogrametria terrestre para detecção de minas do bicho-mineiro em folhas de cafeeiro e estabelecimento do índice de infestação do inseto no campo a fim de auxiliar na tomada de decisão no controle da praga.

Pesquisas no campo da Inteligência Artificial (IA) tem apresentado um grande aumento nos últimos anos em relação à aplicação de Machine Learning, que pode ser entendido como o aprendizado de máquinas culminando no surgimento da Deep Learning, trata-se de um ramo do aprendizado de máquinas baseado em modelagem algorítmica (LeCun et al., 2015). Técnicas de Deep Learning mostraram uma superioridade clara sobre o aprendizado de máquina tradicional abordagem na resolução da maioria dos problemas. Entre os métodos de Deep Learning, Convolutional Neural Network (CNN) tem mostrado um excelente desempenho em tarefas de reconhecimento de imagem (FUENTES et al., 2017). CNN aprende automaticamente os recursos apropriados do conjunto de dados de treinamento, enquanto as abordagens tradicionais são baseadas em recursos superficiais, ou seja, as características são calculadas com base no conhecimento anterior ao problema, como um pré-processamento. Além disso, a etapa de segmentação é intrínseca aos filtros convolucionais da CNN, simplificando ainda mais seu uso.

A estrutura algorítmica específica da CNN tem várias etapas, por onde as imagens passam e são reduzidas gradativamente, tendo suas características extraídas (Figura 1), conforme o modelo conceitual, obtida por meio do artigo (MONTALBO et al., 2020).

Figura 1 - Processo Convolucional em *Deep Learning*



Fonte: Montalbo et al (2020).

Carneiro et al. (2021) utilizaram a técnica de mineração de dados computacionais *K-means* para etiquetar imagens na fase de pré-processamento e a técnica CNN na fase de processamento. Os autores utilizaram um *dataset* com 542 imagens para doenças do bicho-mineiro e ferrugem, e não usaram imagens de folhas saudáveis. As imagens foram divididas em 80% para treino e 20% para teste. Houve dificuldade para detectar doenças do tipo ferrugem, pelo fato do sistema confundir com a luminosidade. A acurácia apresentada foi de 81,5%.

Esgario et al. (2020), utilizou várias arquiteturas pré-treinadas com técnicas CNN, para comparar suas eficácias, as redes, como AlexNet, GoogleNet, ResNet50 e VGG16 foram comparadas em *single* e *multi-task*, pelo fato de haver dois tipos de rede, uma para identificar apenas sintomas de doenças de folhas e a outra para calcular a gravidade das enfermidades. Foram utilizados 2 *datasets* diferentes, sendo o primeiro com 1747 imagens (folhas inteiras) para sintomas e o segundo (recorte de folhas do primeiro *dataset*), com 2722 amostras, para gravidade de doenças. A aplicação detectou 4 tipos de doenças diferentes em folhas de café. A melhor acurácia para sintomas foi para ResNet50 com 95,63%, e para gravidade foi a AlexNet com 86% de acurácia.

2 Material e Métodos

2.1 Obtenção dos índices populacionais

A incidência de bicho-mineiro do cafeeiro por meio de amostragem convencional foi realizada a fim de aferir os resultados do método por imagem, comparando os resultados obtidos. As avaliações foram realizadas quinzenalmente no período de seis meses, totalizando 12 avaliações.

Para cada amostragem foram avaliadas 30 plantas por ha observando-se a presença ou ausência de minas intactas nas folhas, amostrando-se aleatoriamente o 3° ou 4° par de folhas verdadeiras do ramo plagiotrópico localizado no terço médio e superior das plantas em dois lados da planta, sentido norte (N) e sul (S), o que totalizou oito folhas por planta.

Para a obtenção dos dados por imagem a amostragem foi feita seguindo a metodologia anterior, no entanto, foi utilizada fotogrametria terrestre com câmera panorâmica 360° para obtenção das imagens das folhas. As imagens obtidas foram processadas no *software Ilastik*[®] a fim de diferenciar folhas com ou sem a presença de minas intactas.

Para garantir que conjunto de dados radiométricos em multiescala e um mesmo delineamento experimental, as imagens multiespectrais de média ou alta resolução espacial da área de estudos foram tomadas mais próximas o possível da coleta dos dados espectrorradiométricos.

2.2 Processamento das imagens no *software Ilastik*[®]

O processo de coleta e processamento de dados se iniciaram com a coleta das folhas do café em campo com diferentes níveis de infestação, no laboratório de Entomologia da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Monte Carmelo, foram fotografadas as folhas coletadas separadas por terço inferior, terço médio e terço superior da planta.

As fotos foram caracterizadas de acordo com o avanço da mina na folha e em seguida foram comparados com o método convencional de amostragem, levando em consideração o padrão preestabelecido em laboratório. As imagens tomadas pelo método de fotogrametria terrestre à curta distância foram captadas pela câmera traseira de 12 Mpx de *smartphone* do modelo *Apple iPhone Xr* com resolução de 4.608 x 2.592 pixels.

Em seguida, as imagens foram descarregadas no *software Ilastik*[®] que se trata de um *software* de código aberto e gratuito, no qual foi usado para o processo de segmentação e classificação das imagens. Foi levado em consideração as facilidades de manipulação de dados no *software* e as ferramentas disponibilizadas para classificação de pixel, classificação de objetos, segmentação baseada em limites com múltiplos cortes, pois o *software Ilastik*[®] aceita os formatos mais comuns de imagem. A metodologia utilizada foi a separação nas imagens foi realizada a partir da coloração verde da planta emitida em relação as outras faixas espectrais, referente as minas do bicho-mineiro.

Ao utilizar o *software Ilastik*[®] para processamento utilizou-se das ferramentas de classificação de pixels, a qual divide todos os pixels da imagem em classes pré-definidas pelo usuário, sendo essas classes geralmente separadas pela variação de tons de cor para o pixel, adicionando as informações das classes que foram fornecidas através da entrada de texto do *software*. Em seguida com a ferramenta de auto contexto, os resultados da classificação foram aprimorados e os pixels executados em sequência de classificação. Posteriormente, foi utilizada a ferramenta de classificação de objetos na imagem a partir da máscara de segmentação, a partir desta serão extraídas as informações de acordo com os atribuídos de cada classes já definidas.

Também durante o processamento foi usado a ferramenta de “Entalhe” que se refere à segmentação interativa semiautomática de dados 2D e 3D, essa segmentação se baseia em limites com múltiplos cortes, ou seja, permite segmentar objetos nas imagens com base em informações de limites estabelecidos que foi fornecido.

2.3 Correção no processamento das imagens para detecção de minas

Levando em consideração o funcionamento do *software Ilastik*[®] as imagens foram descarregadas no *software* onde se iniciou o processamento. As imagens passaram pelo processo de segmentação em uma matriz na qual foram realçados os tons e agrupados em conjuntos semelhantes, esse processo já vem integrado como uma das funções programadas do *software*. Essa parte é necessária em vista que, de acordo com Crato (2018), para correção dos erros e defeitos nas imagens são necessários processos no meio digital que os corrijam ou amenizem para produzir imagens com menor presença de ruídos ao final.

Mesmo com as correções e ajustes nas imagens durante a etapa percebe-se que particularidades da planta sejam confundidas com características da praga, isso ocorre pela

forma com a qual o algoritmo entende a escala de tons, por isso foi utilizado um banco de imagens para o processamento e o aprendizado de máquinas.

2.4 Comparação entre os resultados obtidos

Nessa etapa, foram analisadas as respostas positivas tanto pelo método convencional e pelo método de análise computacional por meio das fotos feita em laboratório e os dados resultantes do teste de *Kolmogorov-Smirnov* a 5%, no *software SPSS Statistics*, a fim de verificar a normalidade e, em seguida, à análise descritiva em *Software ArcGis Pro 10.6*, para a parte estática.

Para melhor avaliação de critérios as avaliações estatísticas foram utilizadas histograma, média aritmética, desvio padrão, coeficiente de assimetria, coeficiente de curtose, máximo e mínimo onde verifica-se o comportamento geral dos dados. Também foi realizado a distribuição da presença de minas ativas do bicho-mineiro pelo método convencional em toda as avaliações a fim de verificar a influência de fatores climáticos.

2.5 Compilação das imagens para formação de banco de imagens referentes à presença de minas intactas nas folhas

Considerando-se o tamanho das minas de *L. coffeella* e as imagens de alta resolução que foram obtidas abrangendo parte da planta, realizou-se recortes manuais nas imagens de forma a ressaltar as folhas com presença de características da praga. Essas imagens foram consideradas como área de avaliação, também foram removidas do grupo de imagens, aquelas que não apresentarem características da presença da praga. As imagens recortadas foram agrupadas no *software* e então foram classificadas de maneira semiautomático de acordo com a capacidade computacional da máquina.

Como o *software Ilastik*[®] assim como outros *softwares* de processamento de imagens, pode ocorrer respostas falso positivo, quando a forma de entrada de imagens for realizada sem a redução da imagem para a área de avaliação, afinal os algoritmos de classificação tendem entender que a variação de tons quando não predefinidos como sendo pertencente a classe de tom mais próximo, ou seja, classifica vários tons em uma mesma classe, assim, para evitar falhas e resposta falso positivo no processamento é necessário o recorte de área observado as seguintes características:

- Área com baixa presença de folhas;
- Folhas com lesão não característica de bicho-mineiro;
- Folhas com manchas em tons marrons;
- Presença de flores; e
- Folhas amareladas.

2.6 Implementação da Deep Learning CNN

A aplicação para identificação de minas em folhas de café foi implementada na linguagem de programação Python, utilizando bibliotecas Keras e Tensor Flow, no IDE Google Colab com recurso de GPU da plataforma. As imagens foram obtidas por meio do artigo de (Esgario et al., 2020), cujo dataset se encontra no GitHub no link <https://bit.ly/3hAHqNW>. Foram utilizadas 256 imagens de folhas saudáveis e 683 folhas com doenças do bicho-mineiro. Do total de 939 imagens, 593 foram utilizadas para treino, 218 para validação e 128 para testes, sendo que em cada divisão tem folhas saudáveis e folhas doentes com minas.

Na compilação da estrutura do modelo, foi utilizado o método `keras.applications.Xception()`, que cria uma rede CNN Xception, que é uma rede pré-definida da Google e que se ajusta de acordo com o problema apresentado. Ainda neste processo de compilação da estrutura do modelo, são definidas 2 classes, as imagens são definidas com dimensões 256x256 e 3 camadas, o algoritmo otimizador é do tipo `rmsprop`, e usa o modelo de otimização `loss` é `categorical_crossentropy` pelo fato de haver classes, e as métricas utilizadas são definidas neste processo.

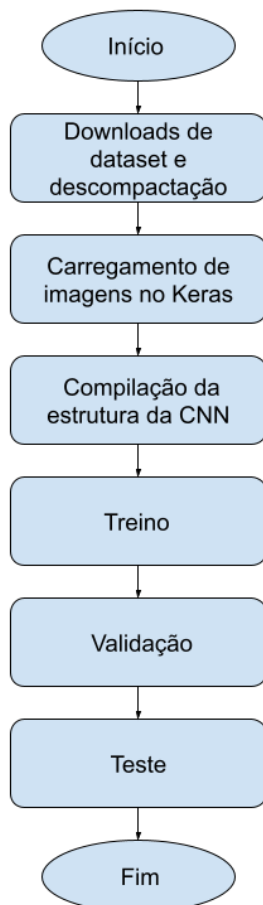
Durante a fase de treino, foram utilizados os datasets de imagens de treino, formando a base para a validação. A função `model.fit()` é responsável por configurar o treino com parâmetros como a quantidade de épocas, dados de treino e validação e parada prematura caso a rede deixe de aprender. O processo de treino pode ser acompanhado em tempo real com resultados de saída no Google Colab.

Após a rede treinada e o modelo preditivo criado, a rede foi testada com imagens de teste, não utilizadas em fases anteriores, utilizando a função `model.evaluate()`.

O modelo pode ser facilmente plotada, por meio da função completa `keras.utils.plot_model(model, to_file='model.png')`, sendo possível ver que o modelo possui várias camadas de `conv2D`, `pool` e outras estruturas, tendo no final apenas 2 neurônios de saída,

um para cada classe ou tipo de folha (0 ou 1), definidos automaticamente pela função citada, de acordo com o problema. As etapas da aplicação na Figura 2.

Figura 2 - Fluxograma da aplicação com *Deep Learning* CNN

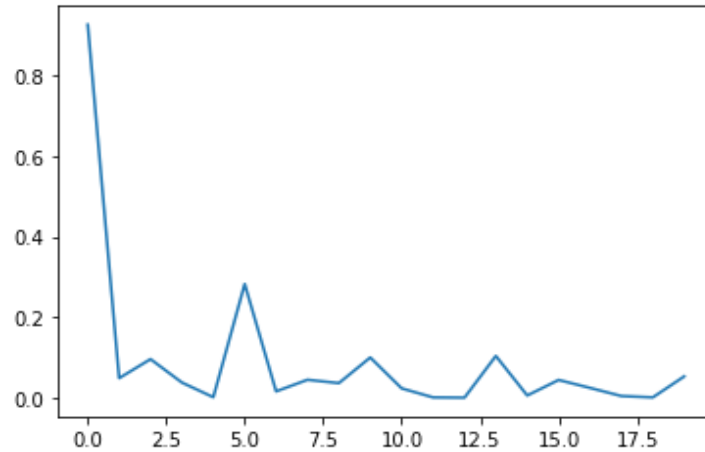


Fonte: o autor (2021).

3 Resultados e Discussão

A redução do erro ao longo das épocas do treinamento é observada na Figura 3, cujo eixo vertical representa o erro do aprendizado da rede e o eixo horizontal representa as épocas. Antes de 2 épocas o erro da rede reduz drasticamente. A partir de aproximadamente 7 épocas, apesar de de oscilações, o erro reduz pouco. E a rede finaliza o aprendizado em 20 épocas. O tempo total de treino foi de 247,06 segundos, ou seja, pouco mais de 4 minutos.

Figura 3 - Taxa de erro caindo aos longos das épocas do treinamento



Fonte: o autor (2021).

Ao final do treinamento e validação, pode-se notar resultados de algumas métricas. No treino, têm-se uma acurácia alta, ou seja, significa que a rede está aprendendo bem de forma geral durante o treinamento. Pelo valor da métrica AUC, a curva ROC tem um ângulo próximo de 90°, tendo assim poucos erros. A quantidade de verdadeiros positivos, ou seja, quando a rede acertou ao tentar classificar uma classe é muito maior do que os falsos negativos, ou seja, quando a rede errou. Dessa forma mostrando que a rede está sabendo diferenciar bem folhas saudáveis e minadas. O erro *Loss* é muito baixo, próxima de zero, significando que a rede está errando pouco e deixando de aprender. A precisão, ou seja, dentre a classificação de positivos que a rede fez, quantos acertou, também é alta, sendo mais de 98% de acerto. E por fim o recall que a rede deveria classificar como positivo, ou seja, o quanto ela classificou, tem o mesmo valor da precisão. A Tabela 1 mostra os dados do treino.

Tabela 1 - Dados de treino da *Deep Learning CNN*

Métricas	Valores de Treino	Valores de Validação	Dados de Teste
Acurácia	98,48%	95,87%	96,09%
Loss	0,0529	0.2158	0.1919
AUC (<i>Area under the ROC Curve</i>)	99,69%	98,32%	98,33%
Precisão	98,48%	95,87%	96,09%
Recall	98,48%	95,87%	96,09%
Números de Verdadeiros Positivos (VP)	584	209	123
Números de Verdadeiros Negativos (VN)	584	209	123
Números de Falsos Positivos (FP)	9	9	5
Números de Falsos Negativos (FN)	9	9	5

Fonte: o autor (2021).

Na validação, os resultados são piores de forma geral do que no treinamento, sendo que a acurácia ficou em 95,87%. É natural a validação ter resultados piores, pois é quando se está verificando a qualidade da rede criada e treinada, e fazer os ajustes necessários. Aqui foi usada uma base de dados diferente do treinamento. Na Tabela 1 pode ser visto dados da validação.

Na fase de teste, onde foi testado o modelo, já treinado e validado, com a base de dados de teste, que não foi usada no treinamento ou validação, têm-se os resultados das seguintes métricas, apresentados na Tabela 1. Os resultados foram um pouco melhores que na validação. A acurácia, por exemplo, ficou com 96,09%. Apesar da alta acurácia, talvez seria necessário buscar uma maior base de dados para garantir que não houve overfitting e nem underfitting. Um fato interessante, porém, que afeta a qualidade da rede, é que geralmente a acurácia dos testes é menor que da validação, porém como as amostras de imagens dos testes foi muito menor que da fase de validação, ocorreu esta característica.

Um dos problemas encontrados na implementação do projeto foi relacionado à matriz de confusão, que visa demonstrar como a rede confunde as classes. A construção desta matriz foi realizada por meio da biblioteca Sklearn, porém a mesma estava apresentando uma grande quantidade de falsos positivos e negativos, o que resultaria em baixíssima acurácia do sistema. Porém, de acordo com as métricas criadas pela própria rede, os resultados tiveram boa acurácia e poucos falsos positivos e negativos. Então, conclui-se que seria algum problema de configuração na construção da matriz de confusão, devido a forma que o Keras e Tensor Flow manipula e disponibiliza os dados.

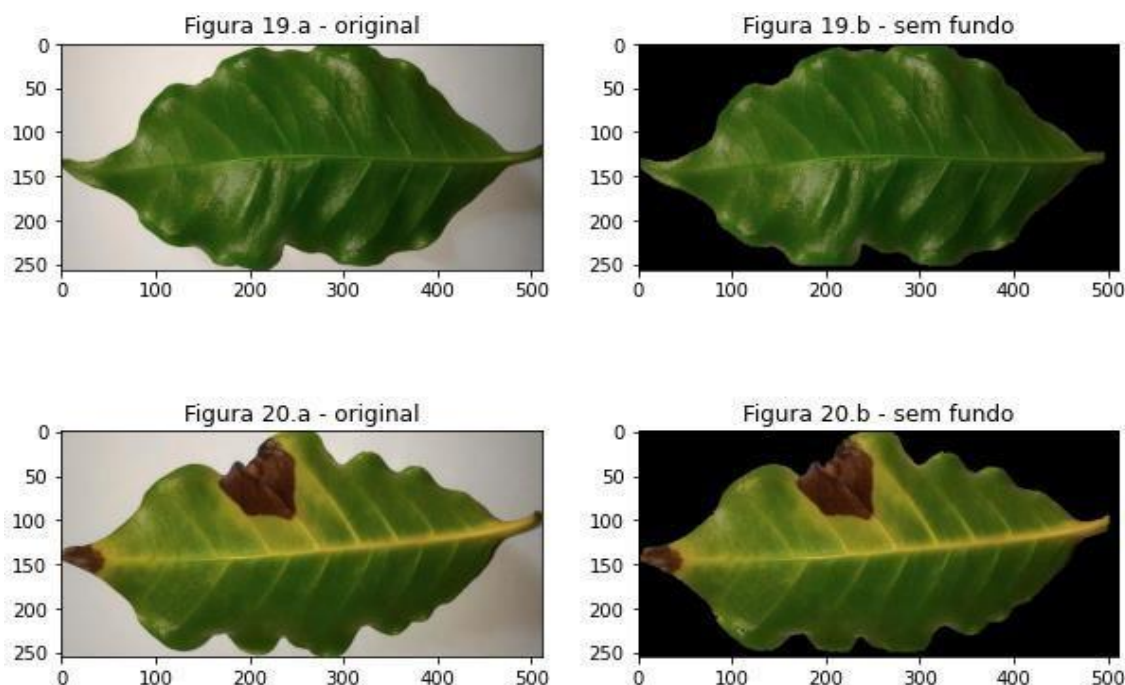
4 Conclusão

Conclui-se, assim, que a rede Deep Learning CNN demonstrou acurácia, sendo 96,09% na fase de teste. Com isso pode-se observar que a rede CNN é eficaz na identificação e classificação de lesões causadas por bicho-mineiro em folhas de cafeeiro.

5 Trabalhos Futuros

Em trabalhos futuros será criada uma aplicação para, além de medir sintomas, calcular gravidades das doenças em folhas de café, utilizando Deep Learning CNN e pré-processamento. Parte destes trabalhos já começaram utilizando segmentação para remover os fundos das imagens, visando facilitar a fase de processamento, utilizando a técnica de GrabCut, descrita no artigo (CHEN et al., 2008). Esta técnica foi implementada por (Ventura et al., 2021). Utilizando e modificando o código, construído em python e opencv, encontrado no site \cite{gracut-opencv}. Na Figura 3, pode-se visualizar os resultados iniciais para esta proposta. O fundo da imagem ficou preto e a folha se manteve íntegra, demonstrando bons resultados da técnica GrabCut. Uma pequena porcentagem de imagens ficou com pequenos defeitos nos recortes, o que pode ser ajustado futuramente.

Figura 3 - Segmentação de imagens de folhas de café com a técnica GrabCut



Fonte: o autor (2021).

REFERÊNCIAS

CARNEIRO, A. L. C.; BRITO SILVA, L.; FAULIN, M. S. A. R. “Artificial intelligence for detection and quantification of rust and leaf miner in coffee crop,” 2021.

CRATO, J. K. T. **Detecção em multiescala de bicho-mineiro em lavoura cafeeira utilizando imagens multiespectrais**. 2018. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Agrimensura e Cartográfica) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2018. Disponível em: <<http://repositorio.ufu.br/handle/123456789/23440>>. Acesso em: 27 de jun 2020.

CHEN, D.; CHEN, B.; MAMIC, G.; FOOKES, C.; SRIDHARAN, S. “Improved grab cut segmentation via gmm optimisation,” in 2008 Digital Image Computing: Techniques and Applications, 2008, pp. 39–45.

ESGARIO, J. G.; KROHLING, R. A.; VENTURA, J. A. “Deep learning for classification and severity estimation of coffee leaf biotic stress,” *Computers and Electronics in Agriculture*, vol. 169, p. 105162, 2020.

FUENTES, A.; YOON, S.; KIM, S.C.; PARK, D.S. A Robust Deep-Learning-Based Detector for Real-Time Tomato Plant Diseases and Pests Recognition. *Sensors* 2017, 17, 2022. <https://doi.org/10.3390/s17092022>.

ILASTIK. **Documentation**. *The Ilastik developers 2010 - 2020*. Disponível em: <<https://www.ilastik.org/documentation/#user-documentation>>. Acesso em: 26 de jun. 2020.

LECUN, Y.; BENGIO, Y.; HINTON, G. DEEP LEARNING. *Nature* 521, 436–444 (2015). <https://doi.org/10.1038/nature14539>.

MONTALBO, F. J.; HERNANDEZ, A. (2020). An Optimized Classification Model for Coffea Liberica Disease using Deep Convolutional Neural Networks. 213-218. 10.1109/CSPA48992.2020.9068683.

SOUTO, L. A. **Ocorrência de *Leucoptera coffeella* e detecção da presença de minas comparando amostragem convencional e amostragem por fotogrametria terrestre**. 2019. 27 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2019. Disponível em: <<http://clyde.dr.ufu.br/handle/123456789/27370>>. Acesso em: 27 de jun 2020

VASCONCELOS, G. C. **Identificação da praga bicho-mineiro em plantações de café usando imagens aéreas e Deep Learning**. 2019. 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Sistemas de informação) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2019. Disponível em: <<http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/26175/1/IdentificacaoPragaBicho-mineiro.pdf>>. Acesso em: 27 de jun 2020.

VENTURA, C. B.; MENDONÇA, T. F. N. Implementação de Deep Learning CNN para

detectar sintomas das doenças do bicho-mieniuro em folhas de café,
https://colab.research.google.com/drive/1ilwIzwD99aBI8_IB2MERddYEG1H31DW?usp=sharing. 2021. [Online; accessed. 17- July-2021].