



**FERNANDO GILIOLI**

**SENSIBILIDADE DE *Hemileia vastatrix* À FUNGICIDAS  
TRIAZÓIS**

**LAVRAS-MG  
2023**

**FERNANDO GILIOLI**

**SENSIBILIDADE DE *Hemileia vastatrix* À FUNGICIDAS TRIAZÓIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza  
Orientador

**LAVRAS-MG  
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Gilioli, Fernando.

Sensibilidade de *Hemileia vastatrix* à fungicidas triazóis /  
Fernando Gilioli. - 2023.  
84 p. : il.

Orientador(a): Edson Ampélio Pozza.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Ferrugem. 2. Patógenos do cafeeiro. 3. Resistência. I. Pozza,  
Edson Ampélio. II. Título.

**FERNANDO GILIOLI**

**SENSIBILIDADE DE *Hemileia vastatrix* À FUNGICIDAS TRIAZÓIS**  
**SENSIBILITY OF *Hemileia vastatrix* TO TRIAZOLE FUNGICIDES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 27 de fevereiro de 2023.

Dr. Edson Ampélio Pozza – UFLA.

Dr. Aurivan Soares de Freitas – UFRRJ.

Dr. Eduardo Alves – UFLA.

Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza  
Orientador

**LAVRAS – MG**  
**2023**

*A Deus.*

*Aos meus pais, Tarcisa Regina Milanez Gilioli e José Rubens Gilioli.*

*Ao meu irmão Jonas Gilioli.*

*À minha querida esposa Fabiana Aparecida Moneda Gilioli.*

*E aos meus filhos Felipe Moneda Gilioli e Isabela Moneda Gilioli.*

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

A DEUS, por tudo...

À toda minha família.

À Universidade Federal de Lavras, através do Departamento de Fitopatologia e o Programa de Pós-Graduação, ao me concederem a oportunidade de cursar o mestrado.

A UPL do Brasil por apoiar a iniciativa do estudo e me permitir a condução dele.

Aos Promotores de Campo da UPL do Brasil no apoio na coleta das amostras.

Ao colega Rafael Henrique Alves Pereira da UPL do Brasil, por todo apoio e incentivo a iniciativa desse estudo.

Aos cafeicultores por permitirem obter as fontes de inóculo para o estudo.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, no fomento para a realização deste estudo.

Ao professor Edson Ampélio Pozza por me motivar a fazer o mestrado, com toda orientação, paciência, incentivo, amizade e ensinamentos valiosos.

Ao professor Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros, por todo apoio, incentivo, confiança e motivação.

Em especial, a Colega Viviane Bartelega, por todo apoio e trabalho dispendido na condução dos trabalhos, sem a qual não seria possível a realização dos experimentos.

Aos colegas Mário Roberto Nogueira Colares, Mauro Peraro Barbosa Júnior, Helon Santos Neto, Felipe Douglas Soares Leal e Adriano Francis Dorigan, por todo apoio na elaboração da dissertação.

Aos colegas do NEFIT – Núcleo de Estudos em Fitopatologia da UFLA e alunos do DFP, especialmente aos da turma 2020-1, por toda interação, incentivo e apoio.

A colega Ariane de Souza Alvarenga por todo incentivo, atenção e zelo quanto as demandas com a secretaria do PPG/UFLA.

A todos os professores do Departamento de Fitopatologia da UFLA quanto aos ensinamentos.

A todos os funcionários da UFLA, quanto aos serviços prestados.

A todos que, direta e indiretamente, contribuíram para a realização deste sonho.

Muito obrigado!

*“Faça da disciplina um lema, da dedicação uma bandeira e da paixão pelo trabalho um exemplo.”*

*(Ayrton Senna)*

## RESUMO

A ferrugem (*Hemileia vastatrix*) é a principal doença do cafeeiro, pois pode causar perdas significativas de mais de 50% na produção. Nos últimos anos essa doença tem preocupado não somente os cafeicultores, mas, também pesquisadores e consultores, ao relatarem a ineficiência de fungicidas sistêmicos ou sua perda de controle e também a alta incidência em cultivares resistentes. Essa ineficiência de controle, leva ao seu relato em altas intensidades na época da colheita, de junho a agosto, descrita como “ferrugem tardia”, muitas vezes atribuída a chuvas no início do inverno e a mudanças climáticas. Em outras culturas, a resistência de fungos a estes princípios ativos já foi identificada. Porém, resta a dúvida, pode ser resistência aos fungicidas? Diante desse cenário, o objetivo desse trabalho, foi avaliar a sensibilidade de *Hemileia vastatrix*, tanto *in vitro* quanto *in vivo* aos principais fungicidas triazóis (DMI's) atualmente utilizados. Para isso, foram realizados experimentos *in vitro*, casa de vegetação e em campo. O experimento *in vitro* foi realizado em microplacas, com 8 isolados de *H. vastatrix* e 7 concentrações diferentes dos fungicidas com princípios ativos epoxiconazol, ciproconazol, flutriafol, hidróxido de cobre e mancozebe, a fim de identificar a dose letal para inibir 50% da germinação (Ec50) dos uredósporos. *In vitro*, os resultados evidenciaram sensibilidade das populações de *Hemileia vastatrix* aos princípios ativos testados, porém, houve variação no nível de sensibilidade entre os isolados, sendo o tratamento flutriafol com maior Ec50. Nesse caso, a dose resposta ideal para os testes realizados de sensibilidade *in vitro* foi entre 32 e 128mg/Kg de ingrediente ativo para os triazóis e para os fungicidas multissítios, de 2mg/Kg para o mancozebe e 8mg/Kg para o hidróxido de cobre. Nos experimentos em casa de vegetação e em campo foi utilizada a dose dos fungicidas registrados para o controle da ferrugem e foi avaliada a incidência e a severidade da doença. Os dados foram integralizados em área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e foram comparados por teste de F da análise de variância. Em casa de vegetação não foi observada diferença entre os isolados e os fungicidas. Já em campo, foram observadas diferenças na AACPD entre os fungicidas sistêmicos e de sítio específico (DMI's) e os protetores ou multissítios e entre os anos em relação a produtividade. Em campo, os tratamentos testemunha, mancozebe e hidróxido de cobre apresentaram maior incidência da ferrugem. Todos os triazóis foram eficientes no controle da ferrugem no campo, porém, apresentaram diferenças em relação a AACPD e a eficácia de controle. Devido a essas evidências, torna-se necessário estudar a nível molecular a existência de resistência a esse grupo de fungicidas.

Palavras-chave: Ferrugem. Patógenos do cafeeiro. Resistência.



## ABSTRACT

The Rust (*Hemileia vastatrix*) is the main coffee disease, as it can cause significant losses of more than 50% in production. In recent years, this disease has worried not only coffee growers, but also researchers and consultants, when reporting the inefficiency of systemic fungicides or their loss of control, and also the high incidence in resistant cultivars. This control inefficiency leads to its report at high intensities at harvest time, from June to August, described as “late rust”, often attributed to rains at the beginning of winter and climate changes. In other crops, fungal resistance to these fungicides has already been identified. However, the question remains, could it be resistance to fungicides? Given this scenario, the objective of this work was to evaluate the sensitivity of *Hemileia vastatrix*, both *in vitro* and *in vivo*, to the main triazol fungicides (DMI's) currently used by coffee farmers in Brazil. For this, *in vitro*, greenhouse and field experiments were carried out. The *in vitro* experiment was carried out in microplates, with 8 isolates of *H. vastatrix* and 7 different doses of fungicides with epoxiconazole, cyproconazole, flutriafol, copper hydroxide and mancozeb, in order to identify the lethal dose to inhibit 50% of uredospores germination (Ec50). *In vitro*, the results showed sensitivity of populations of *Hemileia vastatrix* to the active principles tested, however, there was variation in the sensitivity level among the isolates, with flutriafol treatment having the highest Ec50. In this case, the ideal dose response for *in vitro* sensitivity tests was between 32 and 128mg/Kg of active ingredient for triazoles and multisite fungicides, 2mg/Kg for mancozeb and 8mg/Kg for copper hydroxide. In the experiments in the greenhouse and in the field, the dose of fungicides registered for the control of rust was used and the incidence and severity of the disease were evaluated. Data were integrated into the area under the disease progress curve (AUDPC) and were compared using the F test of the analysis of variance. In a greenhouse, no difference was observed between the isolates and the fungicides. In the field, differences in AUDPC were observed between systemic and site-specific fungicides (DMI's) and protectors or multisites and between years in relation to productivity. In the field, the control treatments, mancozeb and copper hydroxide showed a higher incidence of rust. All triazoles were efficient in controlling rust in the field, however, they showed differences in relation to AUDPC and control efficacy. Due to this evidence, it is necessary to study at molecular level the existence of resistance to this group of fungicides.

Keywords: Rust. Coffee pathogens. Resistance.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1</b>	<b>Importância do Café e da Ferrugem do Cafeeiro.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2</b>	<b>Métodos de controle da ferrugem do cafeeiro.....</b>	<b>15</b>
<b>2.3</b>	<b>Fungicidas utilizados no controle da ferrugem do cafeeiro .....</b>	<b>17</b>
<b>2.3.1</b>	<b>Fungicidas Triazóis.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Importância dos Triazóis .....</b>	<b>19</b>
<b>2.3.3</b>	<b>Modo de Ação.....</b>	<b>22</b>
<b>2.3.4</b>	<b>Principais representantes do grupo dos triazóis, utilizados no controle da ferrugem do cafeeiro .....</b>	<b>24</b>
<b>2.4</b>	<b>Resistência de fungos a fungicidas .....</b>	<b>29</b>
<b>2.4.1</b>	<b>Resistência a triazóis.....</b>	<b>30</b>
<b>2.5</b>	<b>Dose resposta ou linha de base (baseline) “<i>in vitro</i>” a fungicidas.....</b>	<b>33</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>36</b>
<b>3.1</b>	<b>Área de estudo e tratamentos .....</b>	<b>37</b>
<b>3.2</b>	<b>Avaliação da sensibilidade <i>in vitro</i> de <i>Hemileia vastatrix</i> a fungicidas .....</b>	<b>38</b>
<b>3.3</b>	<b>Avaliação <i>in vivo</i> de fungicidas no controle da ferrugem em mudas de cafeeiro.....</b>	<b>41</b>
<b>3.3.1</b>	<b>Obtenção de inóculo e procedimento de inoculação .....</b>	<b>42</b>
<b>3.4</b>	<b>Experimento <i>in vivo</i>: Campo .....</b>	<b>43</b>
<b>3.5</b>	<b>Avaliação da incidência da ferrugem do cafeeiro .....</b>	<b>44</b>
<b>3.6</b>	<b>Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) e eficácia (E%).....</b>	<b>45</b>
<b>3.7</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>46</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>46</b>
<b>4.1</b>	<b>Avaliação <i>in vitro</i> da germinação dos esporos de <i>Hemileia vastatrix</i> .....</b>	<b>46</b>
<b>4.1.1</b>	<b>Ec50 dos fungicidas.....</b>	<b>55</b>
<b>4.2</b>	<b>Controle da ferrugem em mudas de <i>Coffee arabica</i>.....</b>	<b>56</b>
<b>4.3</b>	<b>Controle da ferrugem em folhas de cafeeiro no campo.....</b>	<b>57</b>
<b>4.3.1</b>	<b>Produtividade.....</b>	<b>61</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>63</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>70</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>71</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>81</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café, com média anual de produção, nos últimos cinco anos de 54,4 milhões de sacas de 60 kg do produto beneficiado em área de 1,8 milhão de hectares, ou seja, produtividade média de 29,5 sacas/hectare (CONAB 2022). Fatores como melhorias no manejo da cultura, investimentos em pesquisa e tecnologia, uso de materiais genéticos com maior potencial produtivo, bem como as condições climáticas nas áreas produtoras, são pontos importantes diretamente relacionados aos ganhos de rendimento. Devido a isso, o Brasil se consolidou como o maior produtor mundial de café. Assim, a cultura do cafeeiro tem grande importância socioeconômica para o País, sendo o estado de Minas Gerais, responsável por cerca de 50% da produção nacional e na região sul do estado, encontra-se a maior área plantada (CONAB, 2022). No entanto, a produtividade nessas lavouras e conseqüentemente a produção total pode ser reduzida por diversos fatores bióticos e abióticos.

Dentre os fatores bióticos, as doenças representam maior destaque, entre elas a ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome). As perdas de produção na lavoura, com ausência de controle, atribuídas a essa doença, podem variar de 30% (RAYNER, 1960) a 99% (COLARES, 2018), sendo devidas, basicamente, à desfolha prematura e a redução da área fotossintética da planta, com conseqüente morte dos ramos plagiotrópicos, o que pode ocasionar seu cultivo antieconômico e comprometer a safra futura, com maiores perdas, de acordo com a variação da intensidade da doença (POZZA, 2021).

Os prejuízos ocasionados na produção, de modo geral, variam em função da região e do ano agrícola, em decorrência da frutificação dos cafeeiros e das condições climáticas prevaletentes e futuras, onde o comportamento da doença poderá ser modificado devido ao aumento da temperatura e a concentração de chuvas em alguns meses do ano (POZZA, 2004; GHINI; HAMADA, 2008). Além disso, pode reduzir também a qualidade dos grãos e da bebida (POZZA et al., 2010).

Diante desse contexto, torna-se necessário controlar essa doença. Entre os métodos de controle da doença, destacam-se o genético, o cultural, o químico e recentemente incorporado ao sistema, o biológico. O ideal seria a resistência completa, porém o patógeno tem mais de 45 raças conhecidas (VAN DER VOSSSEN, 2005), ainda com variabilidade dentro da raça, devido a criptosssexualidade (BARRETO et al, 2013). Essa alta variabilidade resultou em repetidos

casos de emergência de novas populações de *H. vastatrix* capazes de infectar variedades resistentes.

Além dessa fonte de variabilidade do patógeno, mais de 80% das lavouras de café são plantadas com cultivares suscetíveis, de base genética estreita. Porém, ainda são plantadas, devido a essas variedades serem resistentes a intempéries e adaptadas ao cenário de mudanças climáticas e a adoção de novas tecnologias. Além disso, no manejo dessa doença, destaca-se também o manejo cultural para se buscar o equilíbrio entre a quantidade de água e nutrientes fornecidos (PÉREZ et al, 2019, 2020; DE OLIVEIRA et al, 2020). Apesar de todas essas estratégias contribuírem na redução das variáveis epidemiológicas não foram suficientes para manter a intensidade da doença abaixo do nível de controle, devido as cultivares serem suscetíveis. Sendo assim, o controle químico é empregado, principalmente, com fungicidas sítio-específicos dos grupos dos triazóis (DMI's), das estrobilurinas (QoI's) e dos multissítios como os cúpricos e ditiocarbamatos. Esses, ao se utilizar corretamente, reduzem tanto o inóculo inicial quanto a taxa de progresso de doenças no campo (CAMPBELL e MADDEN, 1998). Porém, os produtos com modo de ação específico, quando empregados com frequência por períodos longos, pode resultar na seleção de populações de patógenos resistentes. Como exemplo, cita-se a resistência de *Phakopsora pachyrhizi*, agente causal da ferrugem da soja, aos triazóis tebuconazol e ciproconazol, durante os anos de 2008 a 2011 (GODOY et al, 2015).

O controle químico das ferrugens, entre elas a do cafeeiro, é baseado em aplicações anteriores a visualização dos sinais, com níveis de controle abaixo de 5% da sua incidência. Nessa fase, está ocorrendo a germinação, a penetração e a colonização do patógeno, ou seja, embora chamada de pulverização preventiva o patógeno está em pleno processo de infecção e parasitismo. A fase visível, é a de reprodução do patógeno, a última do ciclo das relações patógeno hospedeiro, os sinais conhecidos como ferrugem. No caso específico do cafeeiro, por ser cultura perene, recomenda-se a pulverização de fungicidas no início do período chuvoso, entre novembro e dezembro ou a partir do início da visualização dos sinais, respeitando o nível de controle citado (POZZA, 2021).

Porém, atualmente à campo, é constante a reclamação por parte dos cafeicultores sobre a possível queda da eficácia desses fungicidas, onde em algumas regiões no Brasil, já se pratica o aumento de dose, do número de aplicações ou até o incremento, em mistura, de outro fungicida triazol. Outra evidência no meio da cafeicultura é a ocorrência da ferrugem, com altas intensidades, em períodos fora da normalidade, dentro do ciclo produtivo do cultivo. Esse fato só aumenta a preocupação com a resistência do patógeno ou manejo incorreto dessa doença.

Dessa forma, há a necessidade de investigar se está ocorrendo a perda de eficiência ou da sensibilidade de *H. vastatrix* a produtos formulados com moléculas do grupo dos triazóis (DELIOPOULOS; KETTLEWELL; HARE, 2010).

Dessa maneira, objetivou-se com o presente trabalho, identificar a dose resposta *in vitro* e avaliar a sensibilidade de *Hemileia vastatrix* a fungicidas do grupo químico dos triazóis.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

Parte publicada como capítulo com o título “Fungicidas triazóis na agricultura tropical: passado, presente e futuro.” em novembro de 2022 no livro intitulado “Manejo de doenças de plantas: controle genético, químico e biológico, nas perspectivas acadêmicas e empresarial” (GILIOLI e POZZA, 2022).

### 2.1 Importância do café e da ferrugem do cafeeiro

O cafeeiro pertence à família rubiácea, sendo o subgrupo *Erythrocoffea*, do grupo *Eucoffea*, o de maior importância econômica por compreender as espécies *Coffea arabica* Lineu (café arábica) e *Coffea canephora* Pierre ex Froehner (café robusta). A espécie *Coffea arabica* é cultivada em mais de 80% dos países produtores, sendo mais difundida no continente americano (CAMARGO, 2010). No Brasil, o cultivo de café arábica é dominante, sendo adaptado e generalizado para pleno sol, em razão das altas latitudes (19,0° a 24,0° Sul) e altitudes mais baixas (500 a 1.300 m) quanto do local de origem (FAZUOLI et al., 2007). Atualmente, os seis principais estados produtores de café são, na seguinte ordem: Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Bahia, Rondônia e Paraná. Na safra 2019/2020, foram estimadas 77% da produção proveniente de lavouras com cultivares de *Coffea arabica* e 23% de *Coffea canephora* (CONAB, 2020b).

Porém, a ocorrência de doenças é considerada um dos principais fatores responsáveis por perdas na cafeicultura, desde a fase de viveiro até a produção final. No Brasil, mais de 90% da área plantada é cultivada com variedades suscetíveis às principais doenças predominantes na cultura. Dentre essas, a ferrugem se mostra cada vez mais grave, gerando perdas

significativas na busca por maiores produtividades (POZZA; e CHALFOUN, 2010). Essa suscetibilidade dos cultivares à ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome), ocasionando perdas na produtividade nas principais regiões produtoras brasileiras, também é citada em várias outras literaturas (BARBOSA et al., 2010; BRITO et al., 2010; GHINI et al., 2011; CARVALHO et al., 2017; TALHINHAS et al., 2017).

A doença foi relatada pela primeira vez no mundo em 1861, em cafeeiros silvestres, próximo ao Lago Victória, no Quênia, África Oriental. O fungo, *Hemileia vastatrix* Berk. & Br, foi descrito pela primeira vez por J. M. Berkeley (BERKELEY, 1869). Em 1867, apareceu no Ceilão, hoje Sry-Lanka, e, dois anos após, em 1869, a doença já demonstrava gravidade (BERKELEY, 1869; CARVALHO et al, 2010). Sua devastação levou o País a deixar o cultivo do cafeeiro e passar a cultivar o chá (MEIRA, 2008). Contudo, no Brasil, foi relatada pela primeira vez na década de 1970 em Itabuna região sul do estado Baiano (WELLMAN, 1970). Atualmente, encontra-se disseminada em todas as regiões produtoras do País.

Dependendo da intensidade, a ferrugem do cafeeiro pode causar grande desfolha e prejudicar a produção (MESQUITA et al, 2016). Ultimamente a doença tem aparecido em quantidade significativa após o período normal de infecção, mesmo tendo realizado o controle químico, sendo denominada ferrugem tardia.

O sintoma inicial da doença caracteriza-se por pequenos pontos circulares de cor amarelo alaranjada, mas visíveis contra a luz, de difícil diagnóstico, devido à semelhança com outras doenças e deficiências nutricionais. Em seguida, aumentam de tamanho e a massa de aspecto pulverulento, na face abaxial das folhas, pode ser observada. Em estádios mais avançados, em razão da alta severidade da doença, após a reprodução ou esporulação do patógeno, algumas partes do tecido foliar são destruídas e necrosadas (POZZA et al., 2010). De acordo com Pinto et al. (2002), os primeiros sinais da doença, de acordo com a curva de progresso da doença, ocorrem entre dezembro e janeiro. Em seguida, ocorre aumento da taxa de progresso da doença, nos meses de março e abril, assumindo crescimento exponencial. Finalmente, nos meses de junho ou julho, geralmente após a colheita, observa-se a maior intensidade da doença ao longo do ano, com queda acentuada de folhas, reduzindo o enfolhamento com prejuízos na produção, podendo chegar a mais de 50%. Em estudo recente, Colares (2018) utilizou a modelagem matemática para estimar as perdas de produtividade do cafeeiro causadas por ferrugem. Segundo o autor, essas perdas podem variar de 59,8% a 99,8%.

A ferrugem causa grande desfolha na lavoura comprometendo a colheita seguinte, mas em certas situações, aparece mais cedo e prejudica a safra atual. O prejuízo causado pela doença será maior ou menor a depender da intensidade.

## **2.2 Métodos de controle da ferrugem do cafeeiro**

Dentre as alternativas de controle utilizadas, atualmente, no manejo da ferrugem do cafeeiro destacam-se o uso de cultivares resistentes, o manejo cultural e o controle químico. No tocante a cultivares resistentes a ferrugem no Brasil, iniciou-se o programa de melhoramento genético na década de 1930, mais precisamente no ano de 1933, ano da criação da Seção de Genética do Instituto Agrônomo de Campinas - IAC (PEREIRA et al., 2010). Porém, devido ao cafeeiro ser cultura perene, com ciclo longo até a produção plena e altos custos de implantação, além das cultivares suscetíveis serem robustas, principalmente, na resistência a seca e algumas de porte alto possibilitarem a poda após geadas, os produtores adquirem lentamente novos cultivares em suas áreas.

O controle químico de doenças de plantas é, em muitos casos, a única medida eficiente e economicamente viável para garantir alta produtividade e qualidade da produção (KIMATI, 2011; COSTA et al., 2012). O controle químico da ferrugem do cafeeiro pode ser feito por meio de três diferentes métodos de aplicação, preventivo com a utilização de fungicidas protetores, curativo, com fungicidas sistêmicos e preventivo e curativo, com o uso de fungicidas sistêmicos associados com protetores (POZZA et al., 2010). Dentre esses, os mais utilizados são os fungicidas sistêmicos e mesostêmicos dos grupos dos triazóis e estrobilurinas, também conhecidos como sítio específico e os de contato ou protetores, também chamados atualmente de multissítios. Entre os de contato, destacam-se os cúpricos e os ditiocarbamatos, aplicados entre os meses de agosto a março, isolados ou em mistura com sistêmicos, antes da doença atingir seu nível de controle (POZZA, 2021).

A associação de fungicidas à base de triazóis e estrobilurinas é a mais utilizada há muito tempo e tem proporcionado melhor controle com maior período residual, vigor da planta e incremento na produtividade do cafeeiro (DEISING; REIMANN; PASCHOALTI, 2008; HOLLOMON, 2015). Porém, nos últimos anos, tem-se relatado perda da efetividade dessas moléculas em outras culturas.

A perda de eficiência foi comprovada na cultura da soja, no controle da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*). Primeiramente, apareceram os primeiros relatos da ocorrência dessa resistência para o princípio ativo tebuconazol (ALVIM et al., 2009) e desde então observa-se perda gradual de sua eficiência (resistência quantitativa). Porém, em resultados recentes os triazóis, no caso o próprio tebuconazol, apresentaram melhor performance em relação a anos anteriores, no resultado sumarizado de ensaios cooperativos da safra 2020/21 (GODOY et al., 2021). Provavelmente, devido aos produtores interromperem seu uso durante décadas, ou seja, não houve seleção direcional de patógenos com resistência a essa molécula. Também foram observados indivíduos resistentes às estrobilurinas, com mutações no genoma na posição F129L, na safra 2013/2014. Outras mutações (G143A e G137R) são passíveis de ocorrerem e selecionam indivíduos cada vez mais resistentes a esses fungicidas (GRASSO et al., 2006; VALLIERI et al., 2011). Também ocorreu a inclusão de outro grupo químico, desta vez o das carboxamidas, com o intuito de alternar diferentes modos de ação no manejo da ferrugem da soja. Porém, devido ao seu uso indiscriminado, na safra 2015/16, também ocorreu o primeiro relato de mutação na subunidade C na posição I86F (FRAC, 2015), logo após a terceira safra de introdução desse grupo químico. Ocorreu então como exemplo no manejo da ferrugem da soja, o período de seis (6) anos para identificar a resistência à molécula do grupo químico dos triazóis, dez (10) anos à estrobilurinas e três (3) anos para as carboxamidas (citar fonte). Esse cenário causou preocupação em toda cadeia produtiva da soja, da pesquisa à produção, por se tratar da principal doença na cultura da soja.

Diante do cenário, no qual, dificilmente serão apresentados novos grupos químicos a curto e médio prazo, as grandes multinacionais do ramo de defensivos agrícolas direcionaram suas estratégias para melhorar as formulações já existentes e desenvolver produtos com misturas entre fungicidas, principalmente com os multissítios. Sendo a estratégia para evitar a seleção direcional de populações de fitopatógenos, com acréscimo no tempo e a durabilidade das moléculas dos sistêmicos (FRAC, 2010; VAN DEN BOSCH et al., 2015).

Sem a oportunidade de surgirem novos grupos químicos ou novas moléculas com alta eficácia no manejo da ferrugem da soja, as alternativas de manejo para preservar a durabilidade dessas moléculas atualmente existentes, se tornaram mais importantes e devem ser estudadas. A partir da Safra 2015, a mistura de Triazóis e Estrobilurinas com fungicidas multissítios (Mancozeb) começou a se tornar a referência promissora e, hoje, é considerada como alternativa de manejo por evitar a seleção de populações resistentes a fungicidas sítio-específico (FRAC, 2015).



Em *C. canephora*, Capucho et al. (2013) avaliaram novas estratégias para o controle químico, via solo, da ferrugem em *C. canephora* cv. *Conilon*, com o intuito de estimar as perdas após o tratamento. Esses autores, relataram 47% de perdas de produtividade se medidas não forem implementadas para o controle dessa doença. No entanto, estimaram essas perdas com a incidência da doença e a produtividade, sem a utilização de modelos de perdas de produtividade sugeridos por Campbell; Madden (1990).

A combinação de epidemia com alta taxa de progresso da ferrugem e o manejo ineficiente dos cafezais, assolou os países da América Central, em particular Nicarágua, Equador, El Salvador, Panamá e Honduras. Avelino et al (2015) estimaram perdas de produtividade entre 30 e 90% ao comparar com a safra anterior a epidemia.

Perante esse cenário, pouco se sabe sobre a existência efetiva de resistência a fungicidas no cafeeiro, aos fungicidas atualmente utilizados em seu manejo e se está correlacionada a princípio ativo específico ou mais de um, dos tradicionalmente utilizados no controle químico há muito tempo.

### **2.3 Fungicidas utilizados no controle da ferrugem do cafeeiro**

Os fungicidas são classificados de várias maneiras, baseado em diferentes características. Podem ser divididos em protetores, curativos e erradicantes, e em sistêmicos, mesostêmicos e de contato ou não sistêmicos. Entre outros conceitos como a função de proteção (preventivos ou curativos), adequados para uso preventivo pois agem por ação de contato na superfície das plantas aplicadas, a função de espectro de ação (sítio-específico ou múltiplo-sítio), ativos contra o único ponto da via metabólica do patógeno ou contra a única enzima ou proteína necessária para o fungo. O mecanismo de ação, ou seja, o modo como os fungicidas matam os fungos por causarem danos nas suas membranas celulares, pela inativação de enzimas ou proteínas essenciais, ou por interferirem em processos chave como produção de energia ou respiração. Quanto a natureza química (inorgânico ou orgânico) baseados em componentes inorgânicos como íons metálicos, tais como o cobre. Quanto a mobilidade na planta, podendo ser de contato, permanecendo na superfície das plantas ou sistêmicos, podendo ser absorvidos para dentro das plantas (MCGRATH, 2012).

Fungicidas sistêmicos são produtos capazes de penetrar na planta e serem tóxicos com processos vitais inerentes aos fungos. O conjunto químico sistêmico deve ser prontamente

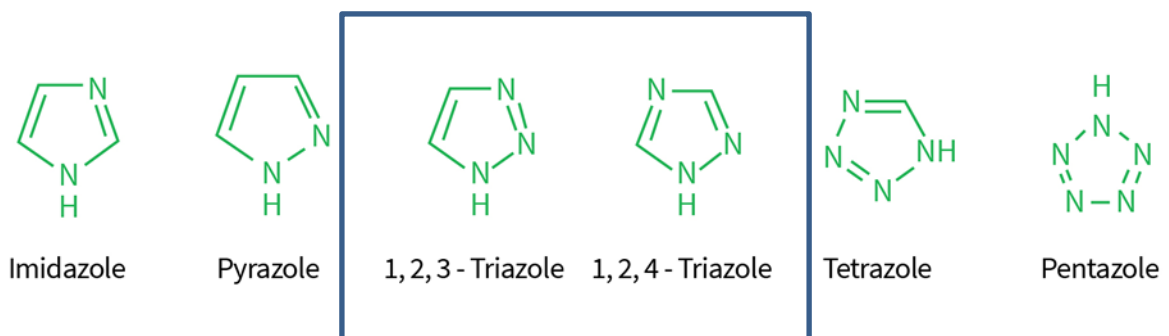
assimilado pela planta, translocado, e inibir infecções locais e distantes do local de aplicação, sem afetar os tecidos do hospedeiro (SOUZA e DUTRA, 2003). Dentre os fungicidas sistêmicos citam-se os triazóis e as estrobilurinas. Os triazóis pertencem ao grupo dos inibidores de biossíntese de esteróis, o qual constitui o maior e o mais importante grupo de compostos já desenvolvidos para controlar doenças fúngicas. E os fungicidas mesostêmicos do grupo das estrobilurinas, moléculas de sítio específico. Estas atuam como inibidoras da quinona oxidase (QoI). O sítio de ligação é a oxiredutase ubihidroquinona-citocromo-c, de modo a indisponibilizar oxigênio para a célula. Atuam na cadeia respiratória, no Complexo III, inibindo a respiração mitocondrial ao criar um bloqueio na transferência de elétrons entre o citocromo b e o c1, no sítio Qo, dentro do ciclo da Coenzima Quinol (CoQ), interferindo na formação de ATP, energia vital para o crescimento dos fungos (FRAC, 2012). Estes reagem com substâncias lipídicas da superfície da planta com prolongado efeito protetor ao serem lentamente liberadas (BALARDIN, 2019).

### 2.3.1 Fungicidas Triazóis

Os fungicidas desse grupo têm esse nome por possuírem 3 radicais azóis em sua estrutura química. São classificados de acordo com o número de átomos de nitrogênio do anel azol (Figura 1) (CATALAN & MONTEJO, 2006).

São sistêmicos (todos são?), absorvidos e translocados na planta de forma acropetal, à exceção do bitertanol. Os fungicidas pertencentes ao grupo químico dos Triazóis são orgânicos, formados com adição de diferentes radicais a moléculas nas posições de 1,2,3-triazol e 1,2,4-triazol.

**Figura 1** – Estrutura dos Triazóis (Isômeros)



Fonte: Marques, 2022

Os triazóis como estrutura, têm dois isômeros, divididos em relação a posição do N ou grupos azóis no anel carbono, o 1,2,3 Triazole e o 1,2,4 – Triazole. O triazol refere-se a qualquer dos pares de compostos químicos isoméricos com fórmula molecular  $C_2H_3N_3$ , com anel de cinco membros de dois átomos de carbono e três átomos de nitrogênio.

Existe alterações no espectro de ação e na sensibilidade do patógeno das diferentes moléculas desse grupo. Há relatos de resistência em várias espécies, com alguns mecanismos já conhecidos. Assim, é prudente considerar a ocorrência de resistência cruzada entre ativos ou moléculas dos fungicidas triazóis, utilizados contra o mesmo fungo (RODRIGUES, 2009).

Como foi o caso da constante exposição desses fungicidas à *P. pachyrhizi* na cultura da soja. Tal fato deve ser levado em consideração, pois atualmente os agricultores utilizam a triazolintiona (Triazol + radical enxofre) Protiocanazole como a principal e mais eficaz molécula no manejo da ferrugem. Porém, esse uso contínuo sem a devida rotação, poderá resultar na queda de eficácia significativa nos próximos anos. No caso da cultura da soja, a questão da resistência já é fato comprovado para o grupo químico dos triazóis. Já para o cafeeiro, ainda há a necessidade de se evidenciar essa questão com fatos, para desmistificar a ocorrência de relatos de queda de eficácia no controle da doença ou a ocorrência de ferrugem tardia no cafeeiro (GILIOLI e POZZA, 2022).

No manejo da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*), o grupo químico de fungicidas dos triazóis, é considerado indispensável no manejo em rotação com os demais. Dependendo da forma como são aplicados, podem atuar como protetores ou curativos. Apresentam elevada fungitoxicidade, rápida penetração e translocação nos tecidos vegetais. Possuem ação curativa e elevado poder residual. Agem, também, como protetores, com ação tóxica à germinação dos esporos e à formação do tubo germinativo e do apressório. Entretanto, essa proteção é parcial, pois os patógenos podem penetrar em tecidos tratados. Como curativo, ocorre à inibição do crescimento do haustório e/ou do micélio no interior do tecido do hospedeiro (EHR & KEMMITT, 2002; FORCELINI, 1994).

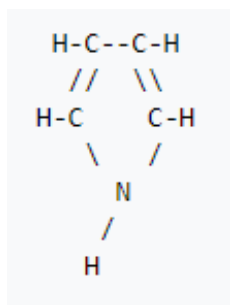
### **2.3.2 Importância dos Triazóis**

As estruturas e funções dos Azóis são importantes na química orgânica e bioquímica, pois são encontrados em bases nitrogenadas do DNA (Adenina, Guanina, Timina, Citosina e Uracila), em alcalóides como a cafeína, codeína e nicotina, em opioides como a petidina,

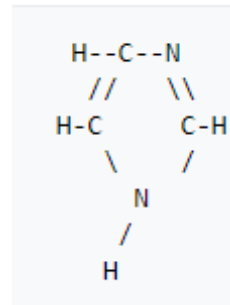
morfina, di-hidrocodeína, alfentanil, oxicodona, heroína e buprenorfina, em neurotransmissores como serotonina e endorfina, em aminoácidos como a histidina, prolina e triptofano e em outras classes de substâncias como as porfirinas e benzimidazóis. Também em medicamentos como Imidazol, Omeprazol, Lansoprazol, Pantoprazol, Fluconazol, Itraconazol, Posaconazol e afins. O Azol é o composto heterocíclico aromático contendo um átomo de nitrogênio, e cada átomo de N é ligado a um de Carbono e um outro heteroátomo dispostos na posição-1,2 do anel de cinco membros, por exemplo o composto de 3 N do Triazol. São semelhantes em estrutura ao 1,3-ciclopentadieno, mas nestes ou outros átomos de carbono são substituídos por átomos de nitrogênio, também chamado de azoto, por isso azol; ou outro elemento diferente de carbono (NETTO et al., 2008).

À seguir alguns exemplos de Azóis (Figuras 2, 3, 4 e 5):

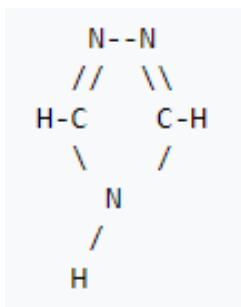
**Figura 2** – Azol ( 1 N e 4 C ) – pirrol



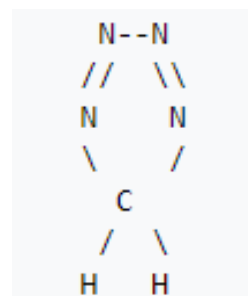
**Figura 3** – Diazol ( 2 N e 3 C ) - imidazol



**Figura 4** – Triazol ( 3 N )



**Figura 5** – Tetrazol ( 4 N )



Fonte: Netto et al, 2008

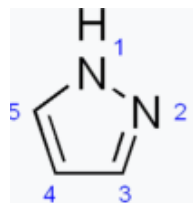
O triazol é um dos tipos de heteroátomos na classificação dos Azóis. É importante entender sua classificação e características de uso na Farmacologia e na agricultura, assim como a importância desse grupo químico de fungicidas. Como derivados dos triazóis estão as drogas antifúngicas como o fluconazol, itraconazol, voriconazol e posaconazol (NETTO et al., 2008).

Os antifúngicos triazólicos surgiram como medicamentos de primeira linha para o tratamento e profilaxia de micoses sistêmicas na área da saúde humana. Como exemplos, podemos citar o fluconazol na profilaxia, na terapia empírica e no tratamento de infecções por fungos no tecido humano, o voriconazol para aspergilose pulmonar invasiva causada por *Aspergillus fumigatus*, posaconazol para aspergilose invasiva, O itraconazol no tratamento de infecções fúngicas da pele e unhas e micoses endêmicas. A janela terapêutica para os triazóis é estreita e a desatenção às suas propriedades farmacocinéticas pode levar a níveis do medicamento muito baixos para eficácia ou muito altos para boa tolerabilidade ou segurança. Isso torna esses agentes os principais candidatos para o monitoramento de drogas terapêuticas (TDM) (FLORL 2011).

Outro composto conhecido é o Pirazol. Os pirazoles são heterociclos de cinco membros constituindo a classe de compostos particularmente úteis na síntese orgânica. Eles são do grupo de compostos mais estudados da família dos azóis. Na verdade, grande variedade de métodos de síntese e análogos sintéticos foi relatada ao longo dos anos. A presença do núcleo pirazol em diferentes estruturas leva a aplicações diversificadas em diferentes áreas como tecnologia, medicina e agricultura. Em particular, são descritos como inibidores da glicação de proteínas, agentes antibacterianos, antifúngicos, anticâncer, antidepressivos, antiinflamatórios, antituberculose, antioxidantes e antivirais. Hoje em dia, os pirazóis, como biomoléculas, têm atraído mais atenção devido as suas propriedades farmacológicas interessantes. (KARROUCHI et al., 2018).

O pirazol é composto de heterociclo aromático com excesso de  $\pi$ . As reações de substituição eletrofílica ocorrem preferencialmente na posição 4 e os ataques nucleofílicos nas posições 3 e 5 (KARROUCHI et al 2018) (Figura 6).

**Figura 6** – Estrutura do Pirazol:

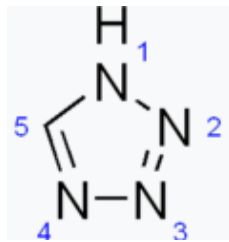


Fonte: Karrouchi et al, 2018

O Tetrazol é outro composto do grupo. Pertencem a classe de compostos heterocíclicos orgânicos sintéticos, consistindo em anel de 5 membros de quatro átomos de nitrogênio e um

átomo de carbono. O nome também se refere ao composto original com a fórmula  $\text{CH}_2\text{N}_4$ , dos quais três isômeros podem ser formulados. Existem três isômeros do tetrazol parental, diferindo na posição das ligações duplas: 1H-, 2H- e 5H-tetrazol. Os isômeros 1H e 2H são tautômeros, com o equilíbrio do lado do tetrazol 1H na fase sólida. Na fase gasosa, o 2H-tetrazol domina. Esses isômeros podem ser considerados aromáticos, com 6 elétrons  $\pi$ , enquanto o isômero 5H é não aromático (NETTO et al., 2008) (Figura 7).

**Figura 7** – Estrutura do Tetrazol:



Fonte: Netto et al, 2008.

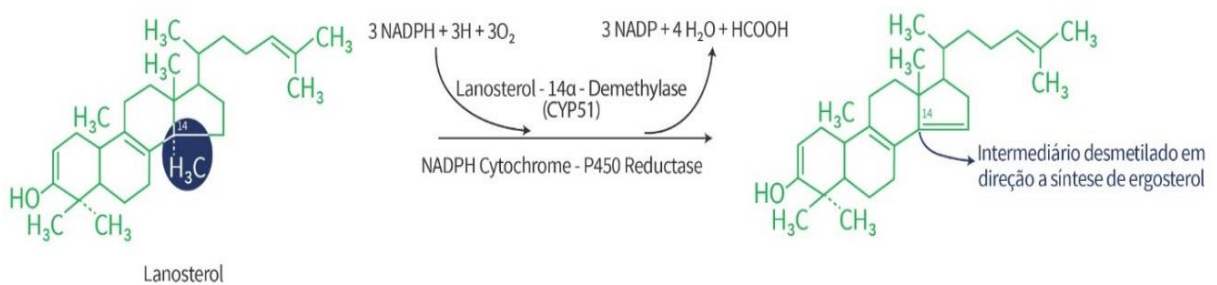
Existem vários agentes farmacêuticos tetrazóis. Os tetrazóis podem atuar como bioisómeros para grupos carboxilato porque têm pKa semelhantes e são desprotonados em pH fisiológico. Os bloqueadores dos receptores da angiotensina II - como losartana e candesartana, geralmente são tetrazóis. O tetrazol mais conhecido é o brometo de dimetilazolil difeniltetrazólio (MTT), utilizado no ensaio de MTT para quantificar a atividade respiratória de cultura de células vivas, embora geralmente mate as células no processo. Alguns tetrazóis também podem ser usados em ensaios de DNA. Estudos sugerem o VT-1161 e VT-1129 serem drogas antifúngicas potentes, pois perturbam a função enzimática fúngica, mas não as enzimas humanas. Outros tetrazóis são usados por suas propriedades explosivas ou combustíveis, como o próprio tetrazol e o 5-aminotetrazol, às vezes são usados como componente de geradores de gás em airbags de automóveis (NETTO et al., 2008).

### 2.3.3 Modo de ação

Como modo de ação, os Triazóis inibem a biossíntese de ergosterol por inibir a demetilação do carbono, no lanosterol, na posição 14 (C14). As células fúngicas, ao entrarem em contato com fungicidas desse grupo, acumulam esteróis, como o 4,4-dimetil e o 4 $\alpha$ -metil,

ambos com radical  $14\alpha$ -metil, promovendo, por sua vez, a inativação do processo de demetilação do lanosterol até compostos intermediários, precursores do ergosterol. Esse fato deve-se à ocupação do fungicida de sítios ativos destinados à ligação da enzima  $14\alpha$ -demetilase ao citocromo P-450, catalisador da reação de oxidação de  $14\alpha$ -metil até  $14\alpha$ -hidroximetil, primeiro passo no processo de demetilação (Figura 8). Ou seja, são inibidores da demetilação (DMI) do lanosterol. O ergosterol é o componente da membrana celular dos fungos e alguns protozoários, exercendo funções semelhantes as do colesterol em células animais. A presença do ergosterol em membrana celulares de fungos, e a sua ausência em membrana celulares de animais, tornam-no alvo útil para a ação de drogas antifúngicas (MARQUES, 2022).

**Figura 8** – Atuação do Triazol



Reação de desmetilação do lanosterol na posição 14 (círculo vermelho). Os produtos intermediários da reação após consecutivos ciclos de oxidação são álcoois e aldeídos (flecha verde). O carbono da posição 14 é removido como ácido fórmico após os ciclos de oxidação (flecha azul).

Fonte: Marques (2022)

Os fungicidas DMIs param a produção de esteróis em fungos (MUELLER et al., 2013). Os esteróis são necessários para formar as membranas celulares, ou seja, proporcionar seu crescimento. Dentre os substratos de enzimas do citocromo P450 encontram-se os esteroides, estes são biomoléculas, tendo como principal função biológica a manutenção das propriedades das membranas celulares dos organismos vivos. Esteroides são derivados do isoprene, capazes de atuar na membrana celular, modular sua fluidez, integridade e permeabilidade, sendo então a classe de moléculas indispensável à manutenção da vida (MARQUES, 2022). Portanto, os DMIs evitam o crescimento de fungos e, eventualmente, resultam em morte, devido ao rompimento da membrana celular. Os esporos dos fungos contêm esterol, então o esporo exposto ao fungicida DMI ainda pode germinar, mas se em contato com o fungicida o tubo

germinativo não cresce e não ocorre infecção. Porém, o melhor desempenho é na fase de colonização do patógeno, os fungicidas DMIs são absorvidos através do tecido foliar e evitam o crescimento do patógeno no início do processo de infecção e no momento de colonização e com os haustórios formados dentro das células vegetais. Esses fungicidas matam essas estruturas e as células podem assim retomar suas atividades metabólicas. Assim, o fungicida DMI tem atividade "curativa". No entanto, para serem mais eficazes, os fungicidas DMI's ainda precisam ser aplicados antes ou muito no início da infecção para serem eficazes (MUELLER et al, 2013).

### **2.3.4 Principais representantes do grupo dos triazóis utilizados no controle da ferrugem do cafeeiro**

O grupo químico dos triazóis compreende os representantes azaconazole, bitertanol, bromuconazole, cyproconazole, difenoconazole, diniconazole, epoxiconazole, fenbuconazole, fluquinconazole, flusilazole, flutriafol, hexaconazole, imibenconazole, ipconazole, metconazole, myclobutanil, penconazole, propiconazole, simeconazole, tebuconazole, tetraconazole, triadimefon, triadimenol e triticonazole (fonte?).

Para o controle da ferrugem do cafeeiro, são registrados no MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) as moléculas do grupo químico dos triazóis descritos a seguir:

#### **a. cyproconazole**

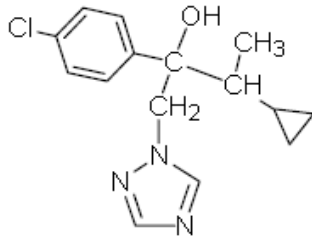
Ingrediente ativo ou nome comum: cyproconazole (ciproconazol)

Nome químico: (2RS,3RS;2RS,3SR) -2-(4-chlorophenyl) -3-cyclopropyl-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol

Fórmula bruta: C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>O

Utilizado para os cultivos de beterraba açucareira, café e cereais (EHR & KEMMITT, 2002). Controla *Septoria*, ferrugens, oídio, *Rhynchosporium*, *Cercospora* e *Ramularia* em cereais e beterraba açucareira; ferrugem, *Mycena*, *Sclerotinia* e *Rhizoctonia* em café e gramados. Registrado no Brasil com as marcas comerciais Alto GR10, Alto 100 e Alto 200 CE. (TOMLIN, 2002).



**Figura 9** – Fórmula estrutural:

Fonte: Tomlin, 2002.

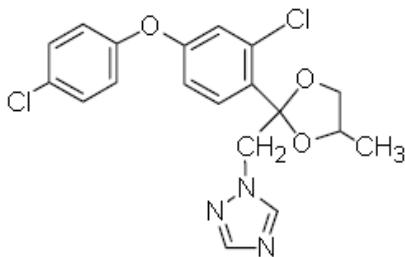
### b. difenoconazole

Ingrediente ativo ou nome comum: difenoconazole (difenoconazol)

Nome químico: cis-trans-3-chloro-4-[4-methyl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl) -1,3-dioxolan-2- yl]phenyl 4-chlorophenyl ether

Fórmula bruta: C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Utilizado em pulverização foliar e tratamento de sementes contra Ascomycetes, Basidiomycetes e fungos mitospóricos, incluindo *Alternaria*, *Ascochyta*, *Cercospora*, *Cercosporidium*, *Colletotrichum*, *Guignardia*, *Mycosphaerella*, *Phoma*, *Ramularia*, *Rhizoctonia*, *Septoria*, *Uncinula*, *Venturia* spp., *Erysiphaceae*, *Uredinales* e diversos patógenos de solo. Utilizados contra complexos de doenças em videira, pomáceas, frutos de caroço, batata, beterraba açucareira, canola, banana, cereais, arroz, soja, ornamentais e diversas olerícolas. (EHR& KEMMITT, 2002). Registrado no Brasil com as marcas comerciais Score e Spectro.

**Figura 10** – Fórmula estrutural:

Fonte: Tomlin, 2002.

### c. epoxiconazole

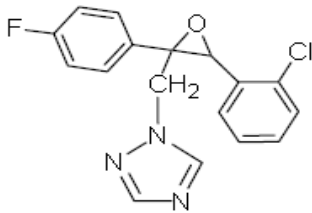
Ingrediente ativo ou nome comum: epoxiconazole (epoxiconazol)

Nome químico: (2RS,3SR)-1-[3-(2-chlorophenyl)-2,3-epoxy-2 (4fluorophenyl) propyl]-1H-1,2,4-triazol.

Fórmula bruta:  $C_{17}H_{13}ClFN_3O$

Utilizado para o controle de *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* e fungos mitosporicos em diversos cultivos, incluindo cereais, beterraba açucareira, amendoim, canola e ornamentais (EHR & KEMMITT, 2002; TOMLIN, 2002). Registrado no Brasil com as marcas comerciais Opus, Opus SC, Praise, Régio, Soprano 125 SC e Spot. (TOMLIN, 2002).

**Figura 11** – Fórmula estrutural:



Fonte: Tomlin, 2002.

#### d. flutriafol

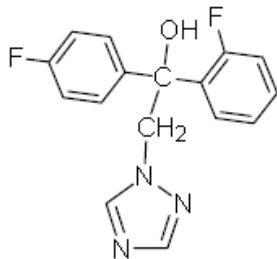
Ingrediente ativo ou nome comum: flutriafol (flutriafol)

Nome químico: (RS)-2,4'-difluoro- $\alpha$ -(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)benzhydryl alcohol

Fórmula bruta:  $C_{16}H_{13}F_2N_3O$

Utilizado para o controle de doenças foliares e de espiga em cereais (incluindo *Erysiphe graminis*, *Rhynchosporium secalis*, *Septoria*, *Puccinia* e *Helminthosporium*). Em formulações para tratamento de sementes no controle dos principais patógenos de solo nos cereais. Apresenta ainda indicações para beterraba açucareira e oleaginosas (EHR & KEMMITT, 2002; TOMLIN, 2002). Registrado no Brasil com as marcas comerciais Impact, Impact 1,5 G, Impact Duo, Vincit 2,5 DS. (TOMLIN, 2002).

**Figura 12** – Fórmula estrutural:



Fonte: Tomlin, 2002.

### e. propiconazole

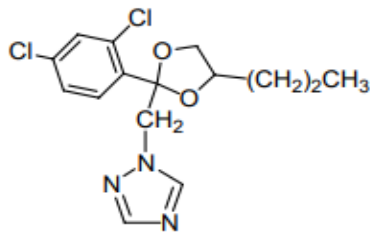
Ingrediente ativo ou nome comum: propiconazole (propiconazol)

Nome químico: (RS)-1-[2-(2,4-dichlorophenyl)-4-propyl-1,3-dioxolan-2-ylmethyl]-1H-1,2,4-triazole

Fórmula bruta:  $C_{15}H_{17}Cl_2N_3O_2$

Utilizado para os cultivos de cereais (*Cochliobolus sativus*, *E. graminis*, *L. nodorum*, *Puccinia spp.*, *P. teres*, *P. tritici-repentis*, *R. secalis* e *Septoria spp.*), em banana (*M. musicola* e *M. fijiensis* var. *difformis*), gramados (*Sclerotinia homeocarpa*, *R. solani*, *Puccinia spp.* e *E. graminis*), em arroz (*R. solani* e *H. oryzae*), em café (*H. vastatrix*), em amendoim (*Cercospora spp.*), em fruteiras de caroço (*Monilinia spp.*, *Podosphaeria spp.*, *Sphaeroteca spp.* e *Tranzchelia spp.*) e em milho contra *Helminthosporium spp.* (EHR & KEMMITT, 2002). Registrado no Brasil com as marcas comerciais Juno e Tilt. (TOMLIN, 2002).

**Figura 13** – Fórmula estrutural:



Fonte: Tomlin, 2002.

### f. tebuconazole

Ingrediente ativo ou nome comum: tebuconazole (tebuconazol)

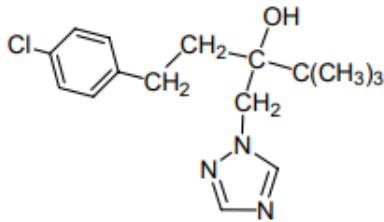
Nome químico: (RS)-1-p-chlorophenyl-4,4-dimethyl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)pentan-3-ol

Fórmula bruta:  $C_{16}H_{22}ClN_3O$

Recomendado para diversos cultivos, incluindo cereais (*Puccinia spp.*, *E. graminis*, *R. secalis*, *Septoria spp.*, *Pyrenophora spp.*, *C. sativus* e *Fusarium*), em amendoim (*Micosphaerella spp.*, *Puccinia arachidis*, *Sclerotium rolfsii*), em canola (*Alternaria spp.*, *Leptosphaeria maculans*, *Pyrenopeziza brassicae*), em banana (*M. Fijiensis*), em chá (*Exobasidium vexans*), em soja (*Phakopsora pachyrhizi*), em maçã (*S. pannosa*, *Venturia spp.*), em pomáceas e fruteiras de caroço (*Botryosphaeria dothidea*), em videira (*U. necator*), em café (*H. vastatrix*, *Cercospora coffeicola*, *Mycena citricolor*), em alho e cebola (*Alternaria porri*,

*Sclerotium cepivorum*), em feijão (*Phaeoisariopsis griseola*) e em tomate e batata (*Alternaria solani*). (EHR & KEMMITT, 2002; TOMLIN, 2002). Registrado no Brasil com as marcas comerciais Constant, Elite, Folicur PM, Folicur 200 CE, Orius 250 EC, Raxil 25, Rival 200 EC e Triade. (AGROFIT, 2005; TOMLIN, 2002).

**Figura 14** – Fórmula estrutural:



Fonte: Tomlin, 2002.

**g. tetraconazole**

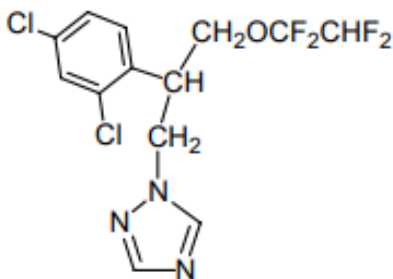
Ingrediente ativo ou nome comum: tetraconazole (tetraconazol)

Nome químico: (RS)-2-(2,4-dichlorophenyl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propyl 1,1,2,2-tetrafluoroethyl ether

Fórmula bruta: C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>Cl<sub>2</sub>F<sub>4</sub>N<sub>3</sub>O

Utilizado para os cultivos de beterraba açucareira (manchas foliares), cereais (oídio, ferrugens, Septoria e *Rhynchosporium*), cucurbitáceas (oídio), pomáceas (oídio e sarna), plantas ornamentais e olerícolas (oídio e ferrugens) e videira (oídio) (EHR & KEMMITT, 2002; TOMLIN, 2002). Registrado no Brasil com as marcas comerciais Domark 100 EC e Eminent 125 EW. (TOMLIN, 2002).

**Figura 15** – Fórmula estrutural:



Fonte: Tomlin, 2002.

### h. triadimenol

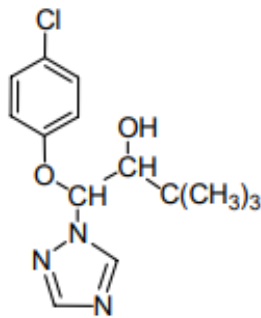
Ingrediente ativo ou nome comum: triadimenol (triadimenol)

Nome químico: (1RS,2RS;1RS,2SR)-1-(4-chlorophenoxy)-3,3-dimethyl-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol

Fórmula bruta:  $C_{14}H_{18}ClN_3O_2$

Utilizado para o controle de oídio, ferrugens e *Rhynchosporium* em cereais e aplicado como tratamento de sementes controla carvão, cáries, *Typhula spp.*. Também é utilizado no controle de doenças em olerícolas, ornamentais, café, lúpulo, videira, frutíferas, tabaco, cana-de-açúcar, banana e outros cultivos, principalmente contra oídio, ferrugens e várias manchas foliares (EHR & KEMMITT, 2002; TOMLIN, 2002). Registrado no Brasil com as marcas comerciais Bayfidan CE, Bayfidan 125 CE, Bayfidan 60 GR, Baytan SC, Baytan 250, Caporal, Caporal WP, Photon, Shavit Agricur 250 EC. (TOMLIN, 2002).

**Figura 16** – Fórmula estrutural:



Fonte: Tomlin, 2002.

## 2.4 Resistência de fungos a fungicidas

A resistência a fungicidas é definida como alteração herdável e estável do fungo em resposta à aplicação do fungicida, com resultado na redução da sensibilidade ao produto, geralmente devido ao mau uso, levando à seleção de organismos resistentes (EUROPEAN, 1988). O termo é usado para linhagens de fungos anteriormente sensíveis, e por meio de mecanismos de variabilidade como a mutação, atualmente com redução significativa de sensibilidade ao fungicida (LEADBEATER, 2014).

Em estudo realizado no estado de Minas Gerais para avaliar a sensibilidade de oito isolados de *Cercospora coffeicola*, agente etiológico da cercosporiose, a azoxistrobina. Os

isolados de *C. coffeicola* foram coletados em lavouras de cafeeiro com sintomas da doença nos municípios de Campos Altos, Candeias, Ilicínea, Machado, Três Pontas, São Francisco da Glória. Neste estudo, constatou-se variabilidade na sensibilidade de isolados de *C. coffeicola* à azoxistrobina (SANTOS, 2022). Diante deste cenário, fica a dúvida se a sensibilidade vem ocorrendo com a ferrugem do cafeeiro.

Apesar de os patógenos causadores de ferrugem serem considerados como de médio risco quanto à resistência a fungicidas (BRENT e HOLLOMON, 2007), alguns aspectos do patossistema ferrugem-*H. vastatrix* do cafeeiro podem contribuir para aumentar as chances de a resistência ocorrer. O patógeno é geneticamente variável e produz grande quantidade de esporos, facilmente dispersos através do vento. Como o cafeeiro é perene e é cultivado como monocultura em vastas extensões geográficas, vários ciclos de vida do patógeno podem ocorrer ao longo do ano (BRAGANÇA, 2010). Ou seja, novas populações com chance de estarem sendo selecionadas de forma direcional para a resistência, devido à alta exposição a moléculas do grupo químico dos triazóis, sem o devido uso ou alternância com fungicidas multissítios.

#### **2.4.1 Resistência a triazóis**

Entre os fungicidas inibidores da demetilação existe diferença no espectro de atividade de cada fungicida. Já são conhecidos relatos de resistência em algumas espécies, com alguns mecanismos específicos como a mutação no sítio alvo; Y136F no gene *cyp51* e outros). Dessa forma, para os fungicidas DMI's, podemos considerar a possível resistência cruzada entre os ativos contra o mesmo fungo. Os DMI's também são fungicidas inibidores da síntese de esterol (SBI's), mas não apresentam resistência cruzada com outras classes de SBI. Devido os aspectos acima, os fungicidas triazóis apresentam médio risco de resistência, o que exige dessa forma, ações de manejo (AGROFIT, 2022).

Na medicina humana já existem comprovações de resistência primária de leveduras a derivados azóis, especialmente ao fluconazol. Esse fenômeno é bem conhecido nas espécies *Candida krusei* e *Candida glabrata*. Alterações na suscetibilidade de *Candida neoformans* ao fluconazol foram descritos e foi atribuído principalmente ao efluxo no qual a perda de droga no interior celular acontece, via transporte ativo, e é mediada por meio da glicoproteína P ou outras proteínas como as Major Facilitator Superfamily (MFS). A resistência ao fluconazol entre as espécies distintas de *Candida* começaram a ser relatadas na literatura pouco depois da aparição

deste antifúngico. Outros mecanismos de resistência para agentes azóis incluem: a) permeabilidade reduzida da membrana, para evitar sua absorção; b) mutação na enzima fúngica esterol 14- $\alpha$  demetilase, a enzima P450 citocrômica, para resultar em redução da afinidade por drogas azóis; c) superprodução da enzima P450; d) amplificação do gene CYP 51; e) alterações das enzimas desnaturase e lesões na isomerase, entre outras. Estes mecanismos de defesa selecionam positivamente isolados resistentes e os tratamentos são ineficazes, com a necessidade sempre de drogas mais potentes, aumento de doses, descoberta de novos grupos químicos, para a cura dos pacientes (COUTINHO et al, 2005).

Também há lista crescente de mutações associadas a resistência azólica em *Aspergillus fumigatus*, na maioria dos seus isolados, com mecanismos de resistência ainda desconhecidos. Isso limita o uso de técnicas de PCR, para identificar a resistência, e exigiria o desenvolvimento de novas ferramentas, como as baseadas em sequenciamento. Foi demonstrada a resistência em pacientes com aspergiloma e doença pulmonar cavitária tratados com azóis. A patogênese envolve a presença do paciente infectado com isolado de *A. fumigatus* suscetível a azóis e posteriormente se torna resistente devido à pressão azólica, ou seja, a ministração consecutiva de drogas azólicas. De pacientes recebendo tratamento com azol de longo prazo, a resistência ao azol em isolados de *A. fumigatus* foram, de fato, descritos como contendo numerosas mutações pontuais, como aquelas nos códons 54 e 220 de cyp51A. Isso confirma o pensamento geral dos mecanismos de resistência serem obtidos sob alta pressão azólica no paciente nesses ensaios (KLEINKAUF et al., 2013). Essa alta pressão, também pode ser exercida na agricultura, como a mesma hipótese para resistência.

A agricultura moderna, de alta produtividade em pequenas áreas, depende cada vez mais da aplicação de fungicidas para mitigar perdas de safras relacionadas a fungos e cumprir esse objetivo. Os grupos dos inibidores da biossíntese de esterol é o grupo de fungicidas predominante no controle de doenças fúngicas. Nesse grupo, os inibidores de desmetilação (DMI; FRAC grupo G1) provaram ser particularmente eficazes contra a ampla gama de patógenos fúngicos, assim como na medicina e na veterinária. O desenvolvimento de fungicidas sistêmicos levou a mudança no paradigma de controle porque seu movimento sistêmico na planta criou a aplicação de fungicida orientada para o limite, aplicada em vários modelos de risco em apoio à otimização do tempo (RUSSELL, 2005). Após a introdução dos benzimidazóis na década de 1960, a chegada dos fungicidas DMI's pode ser vista como a segunda grande onda de sistêmicos. A lista de ingredientes ativos pertencentes ao grupo azol é longa e reflete o fato do desenvolvimento ocorrendo em todas as grandes empresas químicas presentes na época,

principalmente na área médica. Apesar das grandes semelhanças entre os diferentes azóis, cada composto tem seu próprio espectro de atividade específica em patógenos de plantas alvo. Alguns azólicos são usados no tratamento de sementes, outros apenas como produtos. Além de seu efeito fungicida, certos azóis também compartilham propriedade reguladora do crescimento. Também são usados na preservação da madeira. Como um dos primeiros azólicos, o imazalil foi registrado no final da década de 1970 para tratar sementes, sendo amplamente utilizado em cereais e na proteção de tubérculos de batata destinados ao plantio (RUSSELL, 2005). Também, foram amplamente utilizados no tratamento pós-colheita de frutas cítricas, pomóideas e bananas, o controle de doenças de armazenamento, causadas por *Penicillium* em citros. Vários outros azólicos entraram no mercado, por exemplo, triadimefon, triadimenol e propiconazol, durante o final dos anos 1970 e início dos anos 1980 em termos de controle de doenças foliares na produção de cereais e frutas (RUSSELL, 2005).

Com o tempo, os primeiros azóis introduzidos foram substituídos em grande parte por outros ingredientes ativos, como tebuconazol (1992), difenoconazol (1994), epoxiconazol (1994), bromuconazol (2000) e, a partir de 2002, o protioconazol. Esses fungicidas azólicos mais novos são amplamente usados para controlar patógenos transmitidos por sementes e doenças foliares. Depois de algum tempo sem registro de novos azóis ativos, o mefentrifluconazol, com foco no controle da mancha de *Septoria tritici* (STB, *Zymoseptoria tritici*), foi lançado em 2020 e deve controlar as principais doenças-alvo em outros segmentos da cultura (STROBEL et al., 2020; ISHII et al., 2021).

Como exemplo de redução de sensibilidade constatada, cita-se o caso da bananeira, com o uso frequente dos triazóis no manejo da Sigatoka Negra. Nesse caso, os fungicidas DMI são particularmente de alta relevância no controle dessa doença. Dependendo do país e da região de cultivo da banana, o número total de tratamentos com fungicidas e aplicações de DMI dentro dos regimes de pulverização variam significativamente e podem chegar a mais de 30 pulverizações anuais. Em pesquisa global para sensibilidade de DMI de cerca de 600 isolados coletados entre 2011 e 2014 em Camarões, Colômbia, Costa Rica, República Dominicana, Equador, Guadalupe, Martinica e Filipinas, o número de isolados resistentes de DMI foi estimado a partir de, por exemplo, 7 resistentes entre 56 na Costa Rica, 13 resistentes entre 30 no Equador e 9 resistentes do total de 11 na Martinica (CHONG et al., 2021). Este uso variado e muito intensivo de DMIs levou ao deslocamento do DMI em relação à sensibilidade da linha de base ou a dose mínima necessária para o fungicida reduzir de forma letal a população do patógeno, inibir seu crescimento ou a germinação de seus esporos em meio de cultivo. A



sensibilidade diminuída do DMI foi descrita como baseada em várias mutações pontuais no gene *cyp51* de *P. fijiensis* (CAÑAS-GUTIÉRREZ et al., 2009) e na super expressão do gene *cyp51* (DIAZ-TRUJILLO et al., 2018). Os detalhes mais recentes sobre a compreensão dos mecanismos de resistência ao DMI em populações de campo de *P. fijiensis* foram recentemente resumidos (CHONG et al., 2021), e a ligação aparente foi observada entre o aumento dos valores de EC50 e o aumento da quantidade de fungicidas aplicados.

Com o intuito de evitar o aumento dessa sensibilidade o FRAC reforça a recomendação de uso de fungicidas triazóis, para serem aplicados exclusivamente em misturas e a alternância ou mistura com outros modos de ação. Além disso, o máximo de oito aplicações na cultura da banana por ano, contendo fungicidas DMI é recomendado e ainda não devem ser incluídos em mais de 50% do número total de pulverizações (JORGENSEN & HEICK 2021).

Como já relatado em outro tópico a resistência dos DMI's em outros cultivos como o caso da soja, é apenas outra constatação da necessidade de se investigar e comprovar a ocorrência de sensibilidade em outros cultivos, promovendo a mitigação da sensibilidade através da adoção de métodos de controle compatíveis aos manejos específicos de cada cultivo. No caso da cultura do café, entender e compreender a existência da sensibilidade da ferrugem do cafeeiro (*H. vastatrix*) é necessário, diante dos vários relatos obtidos sobre queda da eficácia dos fungicidas atualmente utilizados para manejo dessa doença e a compreensão da ocorrência da ferrugem tardia, assim chamada por aparecer nas lavouras fora do período de melhor condições de desenvolvimento do patógeno.

## **2.5 Dose resposta ou linha de base (baseline) “*in vitro*” a fungicidas**

A perda de sensibilidade ao fungicida e seu manejo são de grande importância para todos os envolvidos com proteção de culturas. Sem o gerenciamento eficaz da sensibilidade do produto aos fitopatógenos, pode surgir resistência rapidamente, como aconteceu com os carbamatos de metal benzimidazole (MBC), dicarboximidas e fenilamidas no início dos anos 80 e recentemente com os grupos químicos dos triazóis, estrobilurinas e carboxamidas para a ferrugem da soja (RUSSELL, 2003).

Para fazer o monitoramento da sensibilidade dos patógenos aos fungicidas utilizados no campo, podem ser empregados estudos *in vitro*. No entanto, a dose empregada nas lavouras é maior comparada àquela empregada em laboratório, seja para avaliar o crescimento micelial,

a germinação ou o comprimento do tubo germinativo. O valor dessas doses para os binômios patógeno x fungicida, na maioria dos casos, não está descrita na literatura.

É importante se determinar a linha de base ou Base Line, pois a partir da identificação da dose resposta obtida, pode-se identificar possíveis sensibilidades de acordo com os resultados obtidos com cada isolado testado. Essa dose é diferente da dose utilizado em campo, por se tratar de modalidade de aplicação onde tem a cobertura total do fungo com o fungicida testado no laboratório. No campo, a aplicação do fungicida tem o alcance parcial do patógeno.

Estudos “*in vitro*” podem ser utilizados para patógenos biotróficos, através da avaliação da germinação, com o intuito de determinar a inibição da concentração para a curva de dose-resposta na qual 50% do efeito é observado na concentração testada (EC50) dos fungicidas, diante do isolado do fungo sensível.

No trabalho de 2004/05, a avaliação da germinação de uredospóros de *Phakopsora pachyrhizi* coletados em Passo Fundo-RS, determinou o EC50 para os fungicidas DMI's ciproconazol (0, 0,5, 2,5, 5, 10 e 20 mg.L<sup>-1</sup>), epoxiconazol (0, 0,005, 0,05, 0,5, 2,5 e 5 mg.L<sup>-1</sup>), flutriafol (0, 0,05, 0,5, 5 e 25 mg.L<sup>-1</sup>), metconazole (0, 0,005, 0,05, 0,5, 2,5 e 5 mg.L<sup>-1</sup>), myclobutanil (0, 0,5, 1, 2, 4 e 8 mg.L<sup>-1</sup>), tebuconazol (0, 0,0025, 0,005, 0,01, 0,02, 0,05 e 0,5 mg.L<sup>-1</sup>) e tetraconazole (0, 2, 4, 5, 10, 20 e 40 mg.L<sup>-1</sup>). Os valores EC50 foram gerados após seis horas de exposição a esses fungicidas e conclui-se a probabilidade do fungo *P. pachyrhizi* sintetizar ergosterol dentro de seis horas, após o início da exposição *in vitro* de uredósporos ao fungicida e o mecanismo de ação não está apenas na síntese de ergosterol, onde até os adjuvantes presentes nas formulações podem ter efeito fungicida ou fungistático *in vitro*. Os valores de EC50 para a germinação de uredósporos de *P. pachyrhizi* foram menores em relação ao comprimento do tubo germinativo, para os fungicidas triazóis (BLUM; REIS, 2013).

No Norte da Austrália Ocidental, quarenta e cinco isolados de conídios de *Pyrenophora tritici-repentis* em trigo, foram coletados e testados quanto a sensibilidade a três fungicidas triazólicos (Epoxiconazol a 0,2 mg/kg-1 e Propiconazol e Tebuconazol a 0,4 mg/kg-1). Os isolados exibiram interação significativa da taxa de fungicida e alguns isolados diferiram em resposta ao propiconazol em comparação com epoxiconazol ou tebuconazol. A sensibilidade entre 32 isolados coletados de culturas comerciais de trigo durante o período de 2001–2003 não foi significativamente diferente da sensibilidade entre 13 isolados coletados em 1986–87, quando o uso de fungicida era mínimo (BEARD, 2009).

Outro trabalho realizado na China em 2012, estudou-se a sensibilidade de 100 isolados de *Monilinia fructicola* de quatro pomares não pulverizados e duas casas de embalagem em

Pequim, China, para o novo fungicida DMI SYP-Z048 (Doses testadas respectivamente: 0,003 a 0,039 e 0,016 a 0,047  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Mutantes de Laboratório resistentes a SYP-Z048 foram gerados com irradiação UV, mas não mutantes ocorreram espontaneamente. Três parâmetros, incluindo taxa de crescimento, esporulação *in vitro* e área da lesão, foram significativamente diferentes para os isolados sensíveis e mutantes resistentes analisados como grupos. A resistência cruzada foi encontrada entre SYPZ048 e propiconazol ( $\rho = 0,82$ ,  $p < 0,0001$ ), mas não entre SYPZ048 e tridemorfo, carbendazim, procimidona, azoxistrobina ou pirimetanil. Resistência a SYP-Z048 em mutantes exibindo 50% de micélio, valores de inibição de crescimento superior a 0,3  $\mu\text{g}/\text{ml}$  foram correlacionados com a presença de mutação no gene CYP51 com a codificação da proteína alvo para fungicidas DMI. A mutação causou mudança de aminoácidos de tirosina para fenilalanina na posição 136 (Y136F).

No estudo realizado sobre sensibilidade de isolados de *Hemileia vastatrix* a azoxistrobina e tebuconazol para compreender os processos associados ao surgimento da resistência, foi verificada a distribuição de isolados resistentes, a evolução de populações insensíveis e seus impactos no controle das doenças. Para determinar a EC50, foram testadas as doses 0; 0,068; 0,136; 0,204; 0,272 ou 0,34  $\mu\text{g}/\text{ml}$  para azoxistrobina e 0,1; 0,3; 1; 3; e 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  para tebuconazol. Os valores de EC50 variaram entre 0,004 e 0,12  $\mu\text{g}/\text{ml}$  para azoxistrobina e 0,01 a 5,11  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , para tebuconazol. Não houve associação dos valores de DE50 com a procedência dos isolados ou com o histórico de aplicação de fungicidas, tanto para azoxistrobina ( $\chi^2 = 0,63$ ;  $P=0,42$  e  $\chi^2 = 0,15$ ;  $P=0,70$ ) quanto para tebuconazol ( $\chi^2 = 3,23$ ;  $P=0,20$  e  $\chi^2 = 0,24$ ;  $P=0,89$ ). Não houve evidência de agrupamento espacial quanto à sensibilidade dos isolados aos dois fungicidas. Ambos, azoxistrobina e tebuconazol, reduziram a germinação e alongação do tubo germinativo (BRAGANÇA, 2010).

No estudo de eficiência de baixas concentrações de nanopartículas de prata (NP<sub>Ag</sub>) e de cobre (NP<sub>Cu</sub>) no controle da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br), as nanopartículas de Ag e Cu constituíram o fator A e as concentrações (0, 50, 100, 200 e 400  $\text{mg}/\text{L}^1$ ) o fator B, também foi utilizado o fungicida (epoxiconazol + piraclostrobina) como tratamento adicional. No experimento *in vitro*, a dose de 400  $\text{mg}/\text{L}^1$  da NP<sub>Ag</sub> inibiu completamente a germinação dos esporos de *H. vastatrix*. Para a NP<sub>Cu</sub> a máxima inibição foi de 85% na dose de 400  $\text{mg}/\text{L}^1$  (LEAL, 2021).

Em outro estudo sobre nanopartículas de elementos essenciais e não essenciais na gestão de doenças de plantas, para se avaliar a toxicidade na germinação de *Hemileia vastatrix* os elementos NP de Ag, B, CeO<sub>2</sub>, CuO, MnO, MoO<sub>3</sub>, NiO, AlO, TiO<sub>2</sub> e ZnO foram corrigidos em

1,0% (w / v) de meio ágar-água (AW) em 100, 300, 500, 800 e 1000 mg L<sup>-1</sup> e derramados em placas de Petri (6 cm diam.), e deixado esfriar. As nanopartículas de Ag, Zn, Mo, Ce e Cu reduziram a germinação abaixo de 50% da menor concentração testada de 100 mg L<sup>-1</sup>. No entanto, 200 mg L<sup>-1</sup> de Ag e Mo reduziu a germinação de esporos de *H. vastratrix* abaixo de 2%. Ao aplicar Ni, a germinação dos esporos permaneceu estável (77%) até a dose de 300 mg L<sup>-1</sup>. A germinação média de esporos no controle foi 73,2% (PEREZ, 2019).

Os custos de pesquisa e desenvolvimento de novos produtos têm aumentado, o que acarreta mais riscos para os investimentos financeiros realizados, sendo a resistência de patógenos considerado como principal risco envolvido. Para mitigar estes riscos, é usado o Baseline sendo capaz de monitorar o efeito do fungicida no fungo e verificar se a resposta muda e aparenta resistência. Este aspecto foi reconhecido com a intenção de proteger o meio ambiente e ajudar o usuário, na introdução de novos produtos com estratégia de gerenciamento de resistência (BRENT e HOLLOMON, 2007).

A palavra Baseline tem muitos usos, mas todos incluem o conceito de ser o ponto de referência a ser usado no processo de tomada de decisão. Segundo Russell (2003), na pesquisa e gerenciamento de resistência a fungicidas, a 'linha de base' pode ser definida como “o perfil da sensibilidade do fungo alvo ao fungicida construído com o uso de técnicas biológicas ou biológicas moleculares, para se avaliar a resposta de indivíduos ou populações de fungos não expostos ao fungicida”. Não se pode enfatizar muito fortemente sobre o formato da distribuição do Baseline oferecer informações sobre o risco absoluto de resistência se desenvolvendo na prática, no entanto, se a linha de base mostra qualquer sinal de adoção de padrão disruptivo e a porção periférica da distribuição pode ser associada a verdadeira resistência, então este é o aviso sobre a resistência ser possível (RUSSELL, 2003).

Informações sobre a sensibilidade de *Hemileia vastatrix* a triazóis são escassas e não há protocolos estabelecidos no FRAC (Comitê de Ação à Resistência a Fungicidas) para monitorar a sensibilidade deste fungo à fungicidas, ou seja, não há padrão estabelecido para comparação por testes *in vitro*, sobre quais as doses a serem empregadas nessa situação de cada triazol para patógenos específicos.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Experimentos e tratamentos

Foram realizados para a condução desse trabalho três experimentos. O primeiro, “*in vitro*” no laboratório de Fitopatologia da UFLA (Universidade Federal de Lavras), o segundo, “*in vivo*”, com mudas de café em casa de vegetação (Departamento de Fitotecnia da UFLA) e o terceiro no campo, em propriedade, localizada no município de Varginha/MG, latitude 21°37'25.26"S e longitude 45°23'37.17"O. Os experimentos tiveram como fonte principal dos tratamentos, três fungicidas sistêmicos do grupo dos triazóis, e dois multissítios, protetores ou de contato, o mancozebe e o cúprico, para comparar a sensibilidade dos isolados aos triazóis de modo de ação específico e aos multissítios (Tabela 1). Os inóculos foram coletados em áreas com histórico de uso dos mesmos fungicidas, por um período de 3 ou 4 anos seguidos.

**Tabela 1** – Tratamentos e caracterização dos ingredientes ativos utilizados para avaliar a sensibilidade de *Hemileia vastatrix in vitro* e a severidade da ferrugem *in vivo*. UFLA 2023.

Tratamentos (i.a)	Nome Comercial	Conc. i. a (g/kg-L)	Dose Comercial (ha)	Dose Comercial (ppm ou mg/Kg-L)	Form.
1 - Testemunha	...	...	...	...	...
2 - Epoxiconazol	Rubric	125	0,6	187,5	SC
3 - Ciproconazol	Alto 100	100	0,75	187,5	SL
4 - Flutriafol	Impact	125	2,0	625,0	SC
5 – Mancozebe	Manzate	750	3,0	562,5	WG
6 - Hidróxido de cobre	Supera	537,44	2,0	268,7	WG
7 - Ciproconazol + Azoxistrobina**	Priori Xtra	80 + 200	0,75	150,0 +375,0	SC

\*i.a. Ingrediente Ativo; Conc. Concentração; Dose comercial; Form. Formulação. SC Suspensão Concentrada; SL Concentrado Solúvel e WG Grânulos dispersíveis em água. Considerou-se um volume de calda para 400 litros por hectare. Foi adicionado o adjuvante Ochima a 0,25% em todos os produtos.

\*\*Fungicida utilizado no experimento em casa de vegetação e no campo.

Fonte: Do autor (2023)

As doses utilizadas no experimento *in vitro*, com o objetivo de encontrar a dose resposta, foram inferiores as de campo, pois a realidade de cobertura da aplicação sobre os esporos é diferente entre as duas situações. No campo o fungicida em mistura com água e ainda outros produtos no tanque de pulverização pode não atingir o alvo ou o local na folha onde deverá entrar em contato com o patógeno. Sendo, muitas vezes inativado por reações químicas, sofrendo perdas por evaporação, dificuldade de atingir o local onde o fungo está ou penetra, entre outros motivos. Já *in vitro* os esporos ou micélio do fungo tem contato e é envolvido

completamente por solução ou suspensão do produto. As doses *in vitro* (Tabela 1) foram ajustadas de acordo com o EC 50 obtido em trabalhos de outros autores. Para tebuconazol e *H. vastatrix*, Bragança et al. (2010) encontraram EC50 de 0,1 mg/L ao avaliar as doses de 0,1; 0,3; 1; 3 e 10 mg/L. Já para os DMI's, foi avaliada a germinação de esporos de *Phakopsora pachyrhizi*, nas doses de 0, 0,5, 2,5, 5, 10 e 20 mg/L para ciproconazol, com o EC50 a partir da dose de 3,0 mg/L, epoxiconazol e flutriafol a 0, 0,005, 0,05, 0,5, 2,5 e 5 mg/L e EC50 a partir da dose de 0,45 mg/L e 5,61, respectivamente e tebuconazol a 0, 0,0025, 0,005, 0,01, 0,02, 0,05 e 0,5 mg/L a partir da dose de 0,0065 mg/L (BLUM e REIS, 2013). Ou seja, as doses empregadas '*in vitro*' foram extremamente reduzidas, comparadas as doses de campo. Assim sendo, e de acordo com a literatura foram escolhidas as doses a serem empregadas nos experimentos de avaliação da porcentagem de germinação de *H. vastatrix* e para definir a EC50 aos fungicidas avaliados.

### **3.2 Avaliação da sensibilidade *in vitro* de *Hemileia vastatrix* a fungicidas**

Para verificar a sensibilidade de doses de fungicidas na germinação de uredósporos de *H. vastatrix*, realizou-se o teste *in vitro*, em microplacas ELISA de 96 poços, com capacidade de 360µL por cavidade (BARTELEGA, 2022). O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 3 repetições em esquema fatorial triplo de análise de variância 5 x 7 x 8. Os 5 fungicidas (Tabela 1) constituíram o fator A, as 7 concentrações (0; 0,125; 0,5; 2,0; 8,0; 32 e 128 mg/kg i.a) (Tabela 2) o fator B e os 8 isolados ou amostras de uredósporos de diferentes locais o fator C. A dose zero foi apenas água destilada esterilizada + suspensão de esporos. Sendo assim, foram 280 tratamentos para essa forma de análise de variância, com o total de 1120 parcelas. Cada cavidade da placa foi considerada a parcela experimental. Sendo assim, o experimento foi realizado para observar a interação entre fungicidas, doses e isolados. Ou seja, avaliar se existe alteração na sensibilidade a doses dos fungicidas entre isolados.

**Tabela 2** – Princípios ativos, doses comerciais em g ou ml/ha, sua concentração em mg/L ou Kg e as doses testadas em mg/Kg no experimento *in vitro*. Lavras, UFLA 2023.

Tratamentos	Dose comercial do ia* (g ou ml/ha)	Dose comercial (mg/L ou Kg)	Doses testadas (mg/L ou Kg)
1 - Testemunha	-	-	-
2 - Epoxiconazol	75	187,5	0; 0,125; 0,5; 2; 8; 32; 128
3 - Ciproconazol	75	187,5	0; 0,125; 0,5; 2; 8; 32; 128
4 - Flutriafol	250	625	0; 0,125; 0,5; 2; 8; 32; 128
5 - Mancozebe	2250	562,5	0; 0,125; 0,5; 2; 8; 32; 128
6 - Hidróxido de cobre	1075	268,7	0; 0,125; 0,5; 2; 8; 32; 128

\*ia - ingrediente ativo

Fonte: Do autor (2023)

Inicialmente, os fungicidas foram diluídos em água destilada esterilizada, para fazer a solução ou a suspensão estoque, dependendo da formulação do fungicida. Para isso foi pipetado, de cada fungicida, as quantidades de 1.000 e 250µl e diluídas em 1 litro de água. A partir da suspensão estoque os tratamentos foram depositados na placa de Elisa, nas concentrações previamente definidas. A quantidade do estoque, de cada tratamento (Tabela 1A – Anexos), depositada nos poços da placa foi obtida a partir da fórmula:

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

$C_1$  é a concentração inicial,

$V_1$  é o volume inicial,

$C_2$  é a concentração final e  $V_2$  é o volume final.

Para obter os esporos, foram coletadas aproximadamente 50 folhas de *Coffea arabica* infectadas com *Hemileia vastatrix*, e sinais típicos da doença, de cada isolado, em cada local, descrito na Tabela 3. As folhas foram armazenadas em sacos plásticos e mantidas na geladeira a 5°C para conservação até o momento da utilização, sem exceder 24 horas após a coleta, para garantir a viabilidade dos esporos.

Para preparar a suspensão de esporos foi utilizado pincel de pintura para retirá-los da folha e depositá-los em becker de vidro de 100 ml. Foram adicionados 60 ml de água destilada, esterilizada com 0,05% de Tween 80® ao Becker, contendo os uredósporos. Logo após, o Becker, com bastão magnético na suspensão, foi levado ao agitador por 5 minutos, na

velocidade 4. A concentração da suspensão foi ajustada para  $1 \times 10^4$  uredósporos de *Hemileia vastatrix*/ml em câmara de ‘Neubauer’.

Após o teste de germinação, os uredósporos restantes ou não utilizados para calibrar a suspensão, dos 8 isolados, foram armazenados em capsulas de gelatina, geralmente utilizadas para veicular produtos farmacêuticos. As cápsulas contendo os esporos foram colocadas em ‘eppendorfs’ devidamente identificados e armazenadas a  $-80^\circ\text{C}$  para manter a viabilidade dos mesmos (ZAMBENEDETTI et al, 2007).

Completo-se o poço da placa com a suspensão de esporos na concentração de  $1 \times 10^4$  uredósporos por ml, coletados os esporos em becker com água destilada, em agitação por cinco minutos, até a quantidade máxima de 300µl por poço.

As placas foram mantidas em estufa incubadora (BOD) à  $23^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  por 18 horas, em escuro total. Após esse período, foram adicionados 25 µL de lactoglicerol para paralisar a germinação dos uredósporos. Foram avaliados 50 uredósporos aleatoriamente de cada repetição ou poço da placa Elisa no microscópio Labomed TCM 400 de objetiva invertida com aumento de 10 vezes. Os uredósporos (cuidado, às vezes você esquece do acento agudo) foram considerados germinados quando o comprimento do tubo germinativo foi superior ao seu tamanho. Foi então obtida a germinação, em porcentagem, dos isolados na testemunha, ou seja, em água. Foi plotado gráfico para avaliar se houve alteração entre os isolados. A partir daí a germinação nas doses dos fungicidas foi considerada proporcional à da testemunha, para não observar somente as alterações entre isolados. E assim demonstrar a informação de sensibilidade dos isolados em relação as fungicidas e doses aplicados. Para isso, foi empregada a seguinte fórmula.

$$\frac{\% \text{ Germinação do tratamento}}{\text{Germinação da testemunha}} \times 100$$

% Germinação do tratamento: resultado obtido em cada dose testada de cada isolado.

Germinação da testemunha: resultado médio das repetições da testemunha de cada isolado.

100: fator de multiplicação de porcentagem.

Esses experimentos, *in vitro*, foram realizados com 8 isolados de *Hemileia vastatrix*, coletados em diferentes locais (Tabela 3).



**Tabela 3:** Isolados utilizados no experimento *in vitro*. UFLA 2023.

Código dos Isolados		Município	Latitude / Longitude
1	BSS	Bom Sucesso - MG	21° 5'58.82"S / 44°51'47.61"O
2	CRC	Carmo do Rio Claro - MG	20°59'21.75"S / 46° 7'38.06"O
3	ELM	Elói Mendes - MG	21°38'13.80"S / 45°30'56.50"O
4	FRN	Franca - SP	20°29'50.18"S / 47°29'23.44"O
5	LAV	Lavras - MG	21°13'40.18"S / 44°57'44.28"O
6	SAA 1	Santo Antônio do Amparo - MG	20°53'27.36"S / 44°58'11.61"O
7	VGA 1	Varginha - MG	21°37'25.26"S / 45°23'37.17"O
8	VGA 2	Varginha - MG	21°34'10.36"S / 45°23'56.49"O

Fonte: Do autor (2023)

O cálculo do Ec50 para se identificar a dose resposta por inibir 50% da germinação dos esporos, foi realizado através do programa ED50Plus v1.0, desenvolvido por Vargas (2000) com o *software* Excel®.

### 3.3 Avaliação *in vivo* de fungicidas no controle da ferrugem em mudas de cafeeiro

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, com temperatura de 25°C ± 3°C. As mudas de cafeeiro da cultivar Catuaí Vermelho IAC-144, suscetíveis à ferrugem, foram adquiridas de viveiro comercial. O experimento foi instalado em delineamento experimental em blocos casualizados (DBC), com sete tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram os 5 fungicidas usados no teste *in vitro* na dose comercial, um tratamento testemunha, somente com água acrescidos do fungicida ciproconazol + azoxistrobina, na dose de 0,75L/ha, fica faltando outro tratamento. As 28 parcelas experimentais foram compostas por duas mudas cada, em saquinhos de polietileno (10 x 20cm). Os produtos foram aplicados nas duas superfícies das folhas das mudas, até o ponto de escorrimento, dois dias antes de inocular os esporos de *Hemileia vastatrix*. O experimento foi realizado com os isolados VGA1, CRC, LAV e VGA2 (Tabela 4).

**Tabela 4:** Isolados utilizados no experimento *in vivo* (Mudas). UFLA 2023.

<b>Código dos Isolados</b>	<b>Município</b>	<b>Latitude / Longitude</b>
1 CRC	C. Rio Claro - MG	20°59'21.75"S / 46° 7'38.06"O
2 LAV	Lavras - MG	21°13'40.18"S / 44°57'44.28"O
3 VGA1	Varginha - MG	21°37'25.26"S / 45°23'37.17"O
4 VGA2	Varginha - MG	21°34'10.36"S / 45°23'56.49"O

Fonte: Do autor (2023)

Foi avaliada a incidência da doença, a partir do início da observação dos sinais, a cada 6 dias, com o total de 7 amostragens. Os dados foram integralizados em área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI), conforme SHANER; FINNEY (1977).

Foi realizada análise em fatorial duplo para verificar os pressupostos da análise de variância. A análise não paramétrica foi realizada com a verificação de não ocorrência dos pressupostos para verificar se houve significância ( $p \leq 0,05$ ) no isolado, no fungicida e interação entre os mesmos de acordo com o quadro da Anova (Teste F) (ANEXO II).

### 3.3.1 Obtenção de inóculo e procedimento de inoculação

Aproximadamente 400 folhas de *Coffea arabica* naturalmente infectadas foram coletadas no campo e levadas no mesmo dia para o laboratório, colocadas em bandejas e lavadas com água destilada e esterilizada para remover os uredósporos. Após lavagem das folhas, a suspensão de uredósporos foi depositada em 'becker' de vidro, na quantidade de 1.000ml. A suspensão obtida foi ajustada em Câmara de 'Neubauer' para a concentração de 1

$\times 10^5$  uredósporos/ml e aplicada com pulverizador de plástico manual na face abaxial de todas as folhas das mudas de cafeeiro até o ponto de escurimento (CRUZ FILHO; CHAVES, 1973). Em seguida, as mudas foram cobertas com sacos plásticos pretos por 72 horas para fornecer as condições ideais à penetração do fungo, como a ausência de luz, o molhamento foliar e a temperatura em torno de 23°C (RAYNER et al., 1961; KUSHALAPPA et al., 1989). Após 72 horas, os sacos plásticos foram retirados e as mudas colocadas em bancada na casa de vegetação a 25°C  $\pm$  3°C e distribuídas em delineamento em blocos casualizados.

Foi realizada irrigação, por gotejamento, das mudas duas vezes ao dia de forma automática com gotejadores de 4mm para cada vaso, da marca Amanco®, para evitar a

contaminação por outros esporos de *Hemileia vastatrix*, foi inserido uma barreira de lona plástica transparente ao redor de cada tratamento, conferir se foi isso. No entanto, as condições para infecção, ou seja, molhamento foliar e ausência de luz foram fornecidas e proporcionadas, “somente”, durante a inoculação. Portanto, não houve possibilidade de ocorrer penetração do patógeno ou de infecção cruzada.

### **3.4 Experimento *In Vivo*: Campo.**

O experimento em campo foi realizado na Fazenda Palmela, localizada no município de Varginha-MG, 21°37'25.26"S, 45°23'37.17"O, altitude de 898 metros, em lavoura formada por plantas de cafeeiro da cultivar do grupo Mundo Novo 376/4 em fase de produção, no espaçamento de 3,5 m entre linhas e 0,9 m entre plantas, com 21 anos de idade. O experimento foi conduzido por dois anos, implantado em novembro de 2019 e finalizado em maio de 2021.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições e sete tratamentos (Tabela 1), os mesmos descritos no experimento em casa de vegetação, totalizando 28 parcelas experimentais. Cada parcela experimental foi constituída por oito plantas, sendo as seis plantas centrais a parcela útil. Foram realizadas 3 aplicações dos tratamentos (testemunha, ciproconazol, epoxiconazol, flutriafol, mancozebe, hidróxido de cobre e a mistura de ciproconazol + azoxistrobina) em cada ano, com início em novembro e com intervalo de 45 dias, uma da outra. As avaliações das incidências foram realizadas mensalmente, sendo a primeira realizada antes de aplicar os tratamentos.

Para pulverizar as plantas com os produtos, utilizou-se pulverizador costal motorizado da marca STIHL® modelo SR 430 com quantidade de vazão média de 1,5 L/min. O volume de calda utilizado para todos os tratamentos foi de 400 L/ha. As caldas foram preparadas na área experimental ao final da tarde e imediatamente pulverizadas. Utilizou-se como adjuvante, na proporção de 0,25% do volume de calda, o óleo vegetal Ochima®.

No final do experimento foi realizada a colheita e definida a produção em sacas por hectare. Os dados de incidência foram integrados em área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI), segundo a equação de Shaner e Finney (1977).

Foram coletadas folhas da lavoura deste experimento para realização dos experimentos *in vitro* e em casa de vegetação, o qual recebera denominação de VGA1.

### 3.5 Avaliação da incidência da ferrugem do cafeeiro

No experimento em casa de vegetação foram avaliadas 8 folhas por planta, marcou-se com fita para padronizar a avaliação sempre nas mesmas plantas. No experimento de campo, as folhas foram avaliadas aleatoriamente por método não destrutivo, no terço médio da planta, entre o primeiro e o segundo pares de folhas dos ramos plagiotrópicos, sendo amostradas 12 folhas por planta, nas 6 plantas úteis, com o total de 72 folhas.

A incidência foi obtida por meio da fórmula de Campbell e Madden (1990).

Equação para cálculo da incidência:

$$I(\%) = \left( \frac{\text{NFD}}{\text{NTF}} \right) * 100$$

No qual:

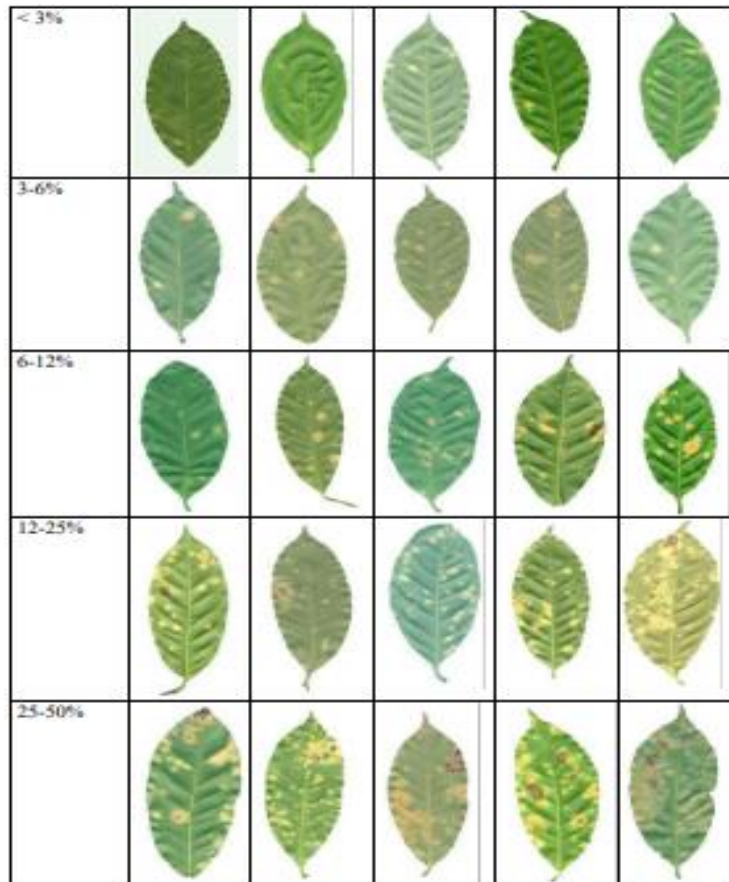
I (%) = incidência da ferrugem;

NFD = número de folhas doentes;

NTF = número total de folhas amostradas.

A severidade da doença foi avaliada por meio da escala diagramática proposta por Cunha et. al. 2001 (Figura 17).

**Figura 17:** Escala diagramática para avaliar a severidade da ferrugem do cafeeiro. (Cunha et. al. 2021).



\*Escala diagramática para avaliação de severidade da ferrugem do cafeeiro (Cunha et al 2021).

### 3.6 Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) e eficácia (E%)

Os dados das avaliações foram integralizados em Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), segundo fórmula proposta por Shaner & Finney (1977).

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{(Y_i + Y_{i+1})}{2} * (T_{i-1} - T_i)$$

No qual:

AACPD= área abaixo da curva de progresso da doença;

$Y_i$ = proporção da doença na  $i$ -ésima observação.

$T_i$ = tempo em dias na  $i$ -ésima observação.

$n$ = número total de observações.

A eficácia foi calculada entre os tratamentos por meio da equação de Abbott (1925).

$$E\% = \left(1 - \frac{n \text{ no } T \text{ após tratamento}}{n \text{ no } Co \text{ após tratamento}}\right) \times 100$$

No qual:

E% = Eficiência

n= Incidência da doença.

T= Tratamento com fungicida; Co= Controle

Co= Controle

### 3.7 Análise estatística

Foram realizados os testes de Shapiro-Wilk, para avaliar a distribuição normal dos resíduos e o teste de Barlett para homogeneidade dos resíduos em todos os experimentos (BANZATTO E KRONKA, 1992). Sendo cumpridos os pressupostos, os dados foram submetidos a análise de variância. As análises foram realizadas no *software* R<sup>®</sup> (R Core Team, 2019) com o uso do pacote EMM's (Estimated Marginal Means) (LENTH, 2020).

Tanto o experimento *in vitro* quanto o de mudas foram repetidos no tempo e submetidos a análise conjunta dos dados para verificar se houve alterações entre os ensaios.

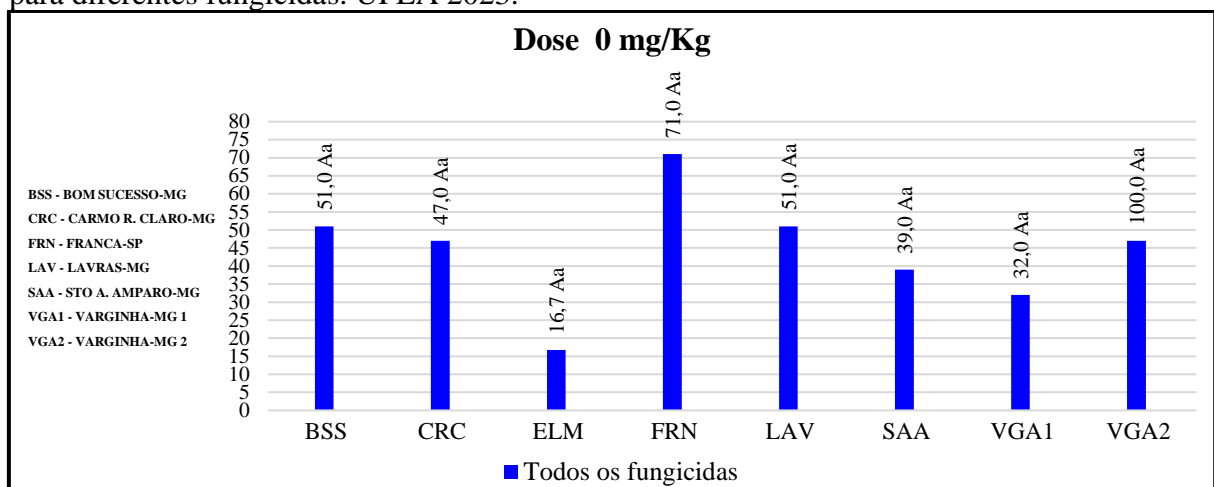
A porcentagem da germinação dos esporos, os valores da E<sub>c</sub>50, as avaliações da incidência e da severidade da ferrugem em mudas e no campo e a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) foram comparadas no teste F da análise de variância. As variáveis significativas no teste F, foram submetidas ao teste de Scott-Knott quando qualitativas, e as quantitativas ou doses ajustadas a modelos de regressão. As análises foram realizadas nos *softwares* R<sup>®</sup> (R Core Team, 2019), SISVAR versão 5.6 (FERREIRA, 2019) e SigmaPlot versão 12.3 (Systat Software, San Jose, CA).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Avaliação *in vitro* da germinação dos esporos de *Hemileia vastatrix*

Houve alteração na sensibilidade aos fungicidas entre os isolados na germinação de uredósporos, dependendo da dose empregada, ou seja, houve interação tripla entre os isolados, fungicidas e doses de fungicidas empregadas para a avaliar porcentagem de germinação dos esporos *in vitro* ( $p < 0,05$ ) (Tabela 2A – Anexos). Na análise conjunta dos dados, não houve alteração entre os ensaios repetidos ao longo do tempo. Dessa forma, os dados abaixo referem-se a média desses experimentos. Na germinação, somente em água, houve alteração entre os isolados ( $p < 0,05$ ) (Figura 18).

**Figura 18** – Porcentagem de germinação de uredósporos, em água, de 8 isolados de *H. vastatrix* para diferentes fungicidas. UFLA 2023.



\*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si por meio do teste de agrupamento de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Fonte: Do autor (2023)

Sendo assim, para as doses avaliadas, foi feita a germinação relativa, em relação ao valor obtido em água.

De 0,125 até 2 mg/Kg ocorreu alteração entre os isolados para todos os fungicidas. A partir das doses de 8 e 32 mg/Kg não houve alteração entre os isolados para o fungicida mancozebe e hidróxido de cobre, respectivamente. Somente não houve alteração, para os fungicidas triazóis dentro de cada isolado, na maior dose, de 128 mg/Kg (Tabela 5).

**Tabela 5** - Porcentagem de germinação relativa, em relação a testemunha, de uredósporos de isolados de *Hemileia vastratrix* em diferentes doses de fungicidas. UFLA 2023.

<b>Dose 0,125 mg/Kg-L</b>							
	Epoxiconazol	Ciproconazol	Flutriafol	Mancozebe	Hidróx. cobre		
BSS	92,2 Aa	88,2 Aa	88,2 Aa	94,1 Da	76,5 Aa		
CRC	106,4 Aa	95,7 Aa	104,3 Aa	106,4 Ca	25,5 Cb		
ELM	82,0 Bb	72,0 Bb	86,0 Ab	144,0 Aa	86,0 Ab		
FRN	90,2 Aa	85,9 Aa	69,0 Ba	78,9 Da	12,7 Cb		
LAV	70,6 Ba	11,8 Cb	76,5 Ba	7,8 Fb	15,7 Cb		
SAA	94,9 Ab	92,3 Ab	89,7 Ab	120,5 Ba	59,0 Bc		
VGA1	78,1 Ba	81,3 Aa	78,1 Ba	90,6 Da	18,8 Cb		
VGA2	70,2 Ba	63,8 Ba	61,7 Ba	57,5 Ea	23,4 Cb		
<b>Dose 0,5 mg/Kg-L</b>							
	Epoxiconazol	Ciproconazol	Flutriafol	Mancozebe	Hidróx. cobre		
BSS	62,8 Bc	74,5 Ab	80,4 Ab	96,1 Aa	39,2 Bd		
CRC	97,9 Aa	91,5 Ab	80,9 Ab	110,6 Aa	10,6 Cc		
ELM	72,0 Bb	56,0 Bc	78,0 Ab	94,0 Aa	56,0 Ac		
FRN	66,2 Bb	84,5 Aa	67,6 Bb	40,9 Cc	2,8 Cd		
LAV	72,6 Ba	3,9 Cc	51,0 Bb	3,9 Dc	3,9 Cc		
SAA	69,2 Bb	61,5 Bb	66,7 Bb	94,9 Aa	35,9 Bc		
VGA1	59,4 Bb	84,4 Aa	93,8 Aa	71,9 Bb	6,3 Cc		
VGA2	72,3 Ba	61,7 Ba	57,5 Ba	53,2 Ca	10,6 Cb		
<b>Dose 2 mg/Kg-L</b>							
	Epoxiconazol	Ciproconazol	Flutriafol	Mancozebe	Hidróx. cobre		
BSS	66,7 Aa	64,7 Ba	58,8 Ca	74,5 Aa	11,8 Bb		
CRC	80,9 Aa	87,2 Aa	78,7 Ba	36,2 Bb	2,1 Bc		
ELM	46,0 Ba	38,0 Ca	48,0 Ca	40,0 Ba	34,0 Aa		
FRN	53,5 Bb	73,2 Aa	80,3 Ba	46,5 Bb	1,4 Bc		
LAV	58,8 Ba	3,9 Dc	23,5 Db	3,9 Cc	3,9 Bc		
SAA	59,0 Ba	56,4 Ba	56,4 Ca	46,2 Ba	23,1 Ab		
VGA1	75,0 Ab	75,0 Ab	100,0 Ab	6,3 Cc	3,1 Bc		
VGA2	63,8 Ba	61,7 Ba	68,1 Ba	12,8 Cb	8,5 Bb		
<b>Dose 8 mg/Kg-L</b>							
	Epoxiconazol	Ciproconazol	Flutriafol	Mancozebe	Hidróx. cobre		
BSS	41,2 Ca	42,1 Ca	45,1 Ba	9,8 Ab	7,8 Bb		
CRC	76,6 Aa	80,9 Aa	66,0 Aa	4,3 Ab	0,0 Bb		
ELM	14,0 Da	18,0 Da	16,0 Ca	6,0 Aa	30,0 Aa		
FRN	62,0 Ba	74,7 Aa	74,6 Aa	4,2 Ab	1,4 Bb		
LAV	49,0 Ca	2,0 Eb	3,9 Cb	3,9 Ab	2,0 Bb		
SAA	43,6 Ca	41,0 Ca	43,6 Ba	10,3 Ab	10,3 Bb		
VGA1	90,6 Aa	59,4 Bc	84,4 Aa	6,3 Ac	3,1 Bc		
VGA2	48,9 Ca	44,7 Ca	57,5 Ba	4,3 Ab	6,4 Bb		

Continuação...



Dose 32 mg/Kg-L						
	Epoxiconazol	Ciproconazol	Flutriafol	Mancozebe	Hidróx. cobre	
BSS	29,4 Ca	21,6 Ca	41,2 Ba	3,9 Ab	3,9 Ab	
CRC	48,9 Bb	78,7 Aa	61,7 Ab	2,1 Ac	0,0 Ac	
ELM	10,0 Da	8,0 Da	8,0 Da	0,0 Aa	8,0 Aa	
FRN	60,6 Ba	46,5 Ba	47,9 Ba	1,4 Ab	1,4 Ab	
LAV	31,4 Ca	0,0 Db	2,0 Db	2,0 Ab	5,9 Ab	
SAA	15,4 Db	33,3 Ca	28,2 Ca	0,0 Ab	5,1 Ab	
VGA1	75,0 Aa	43,8 Ba	75,0 Aa	3,1 Ac	0,0 Ac	
VGA2	38,3 Cb	14,9 Dc	57,5 Aa	4,3 Ac	0,0 Ac	

Dose 128 mg/Kg-L						
	Epoxiconazol	Ciproconazol	Flutriafol	Mancozebe	Hidróx. cobre	
BSS	9,8 Aa	9,8 Aa	5,9 Aa	2,0 Aa	3,9 Aa	
CRC	4,3 Aa	6,4 Aa	19,1 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	
ELM	2,0 Aa	4,0 Aa	2,0 Aa	0,0 Aa	2,0 Aa	
FRN	0,0 Aa	1,4 Aa	1,4 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	
LAV	2,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	
SAA	0,0 Aa	10,3 Aa	5,1 Aa	0,0 Aa	5,1 Aa	
VGA1	0,0 Aa	6,3 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	0,0 Aa	
VGA2	6,4 Aa	8,5 Aa	0,0 Aa	2,1 Aa	0,0 Aa	

\*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna (isolados) e minúscula na linha (fungicidas) não diferem entre si por meio do teste de agrupamento de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Fonte: Do autor (2023)

Dentre os isolados analisados, o LAV foi o de menor porcentagem comparativa de germinação em relação a testemunha, para os triazóis ciproconazol e flutriafol. A partir da dose 0,5 e 8 mg/Kg de ciproconazole de flutriafol, respectivamente, foi de 3,9% em relação à testemunha. Ou seja, o isolado LAV apresentou maior sensibilidade aos fungicidas triazóis ciproconazol e flutriafol. Já para o fungicida epoxiconazol, o isolado LAV teve menor sensibilidade e maior germinação em relação a testemunha, somente a partir da dose 32mg/Kg, houve redução na germinação.

O isolado CRC foi o de maior porcentagem comparativa de germinação para os fungicidas triazóis, epoxiconazol e ciproconazol, em relação a testemunha, com o percentual abaixo de 80% somente após a dose de 8mg/Kg para epoxiconazol e 32mg/Kg para ciproconazol.

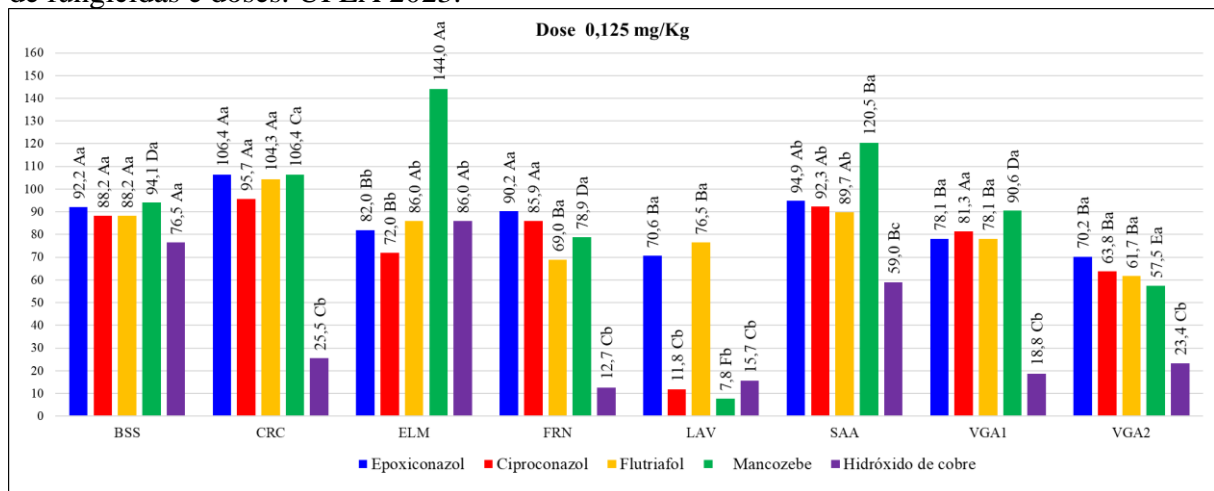
A partir da dose de 2mg/Kg, o fungicida de contato mancozebe, já não apresentou alteração significativa na porcentagem de germinação entre os isolados ao ser comparado com a testemunha. A partir dessa dose, praticamente não houve porcentagem de germinação

significativa em relação a testemunha entre todos os isolados, com o percentual abaixo de 10,3%. O isolado LAV, apresentou o menor percentual de germinação em relação a testemunha para o fungicida mancozebe, já a partir da dose de 0,125mg/Kg, sendo caracterizado como o mais sensível a essa molécula. Já para o fungicida de contato hidróxido de cobre, o mesmo ocorreu a partir da dose de 8mg/Kg.

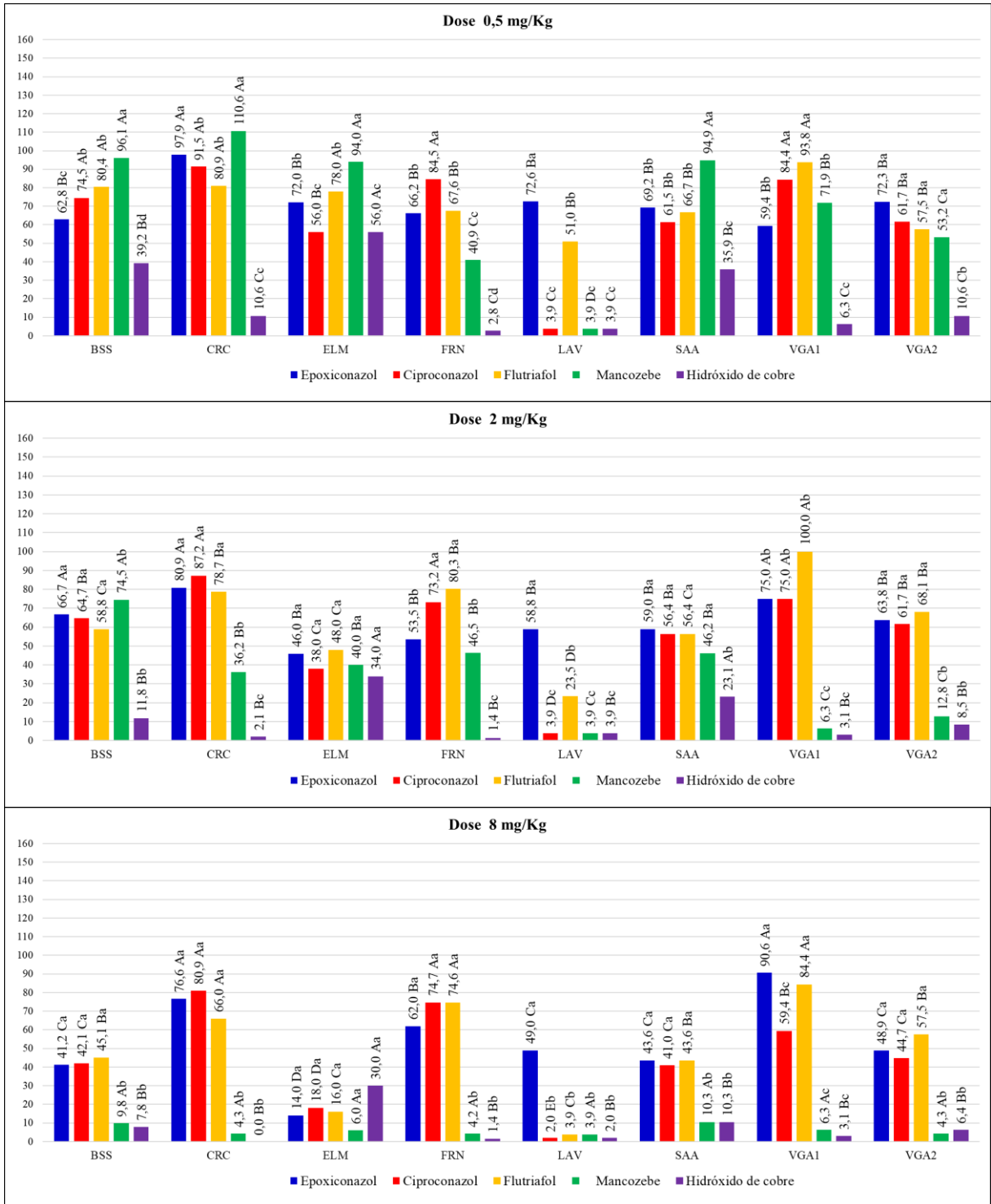
Os isolados LAV, FRN e VGA1 apresentaram os menores percentuais de germinação em relação a testemunha para o fungicida hidróxido de cobre, a partir da dose de 0,5mg/Kg, sendo os mais sensíveis a essa molécula (Figura 19).

Para todos os isolados, foi observada alteração na porcentagem de germinação em relação a testemunha, a partir da dose de 0,125mg/Kg para todos os fungicidas testados, tanto para os triazóis quanto para os de contato ou multissítios. Para todos os isolados, quanto ao grupo dos fungicidas triazóis pode-se considerar 32mg/kg, a dose resposta para avaliar a porcentagem de germinação de esporos em relação a testemunha e para os fungicidas protetores, a dose de 2mg/Kg para o fungicida mancozebe e a de 8mg/kg para o hidróxido de cobre.

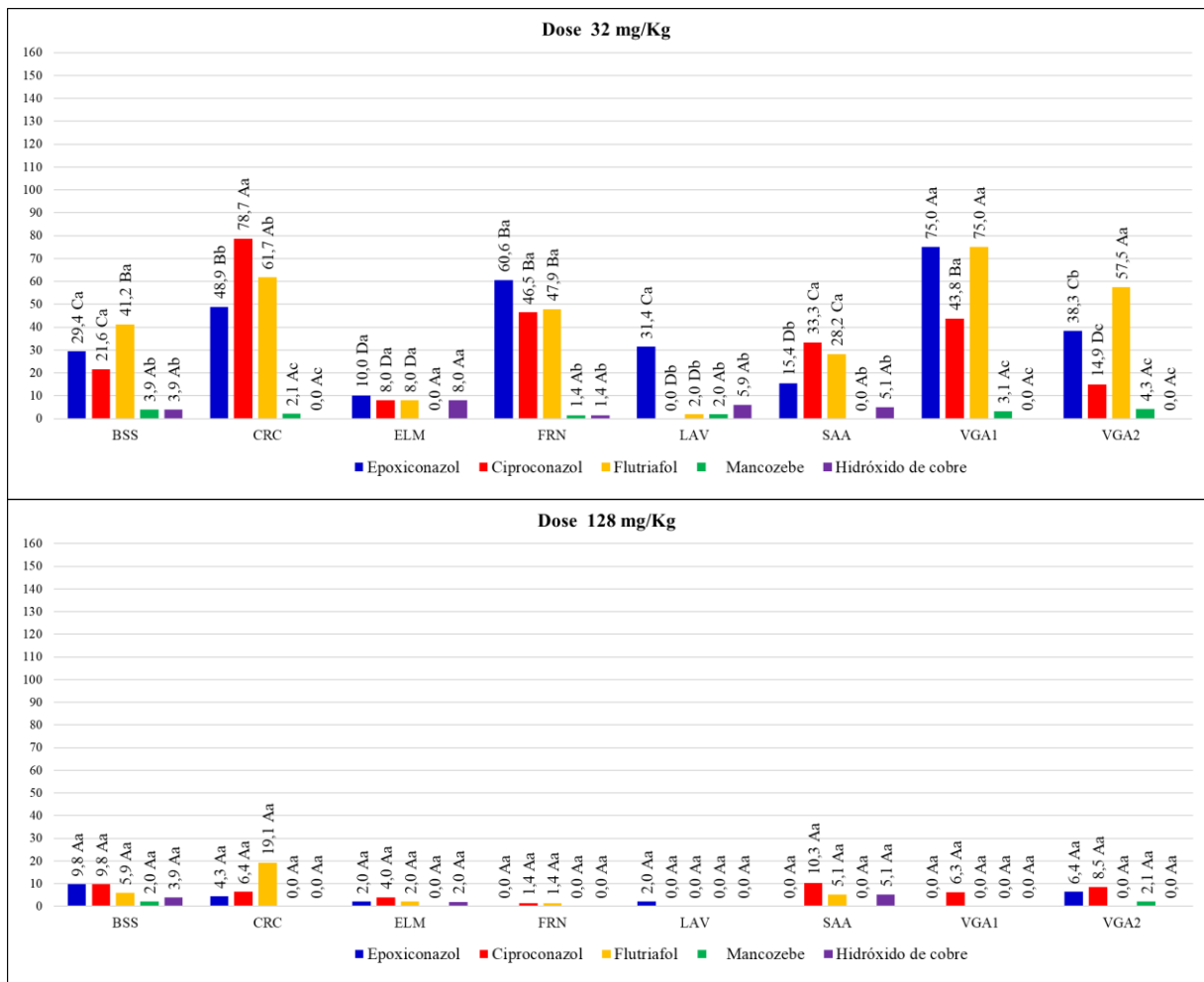
**Figura 19** - Análise do estudo do comportamento dos isolados em cada combinação de níveis de fungicidas e doses. UFLA 2023.



Continuação...



Continuação...

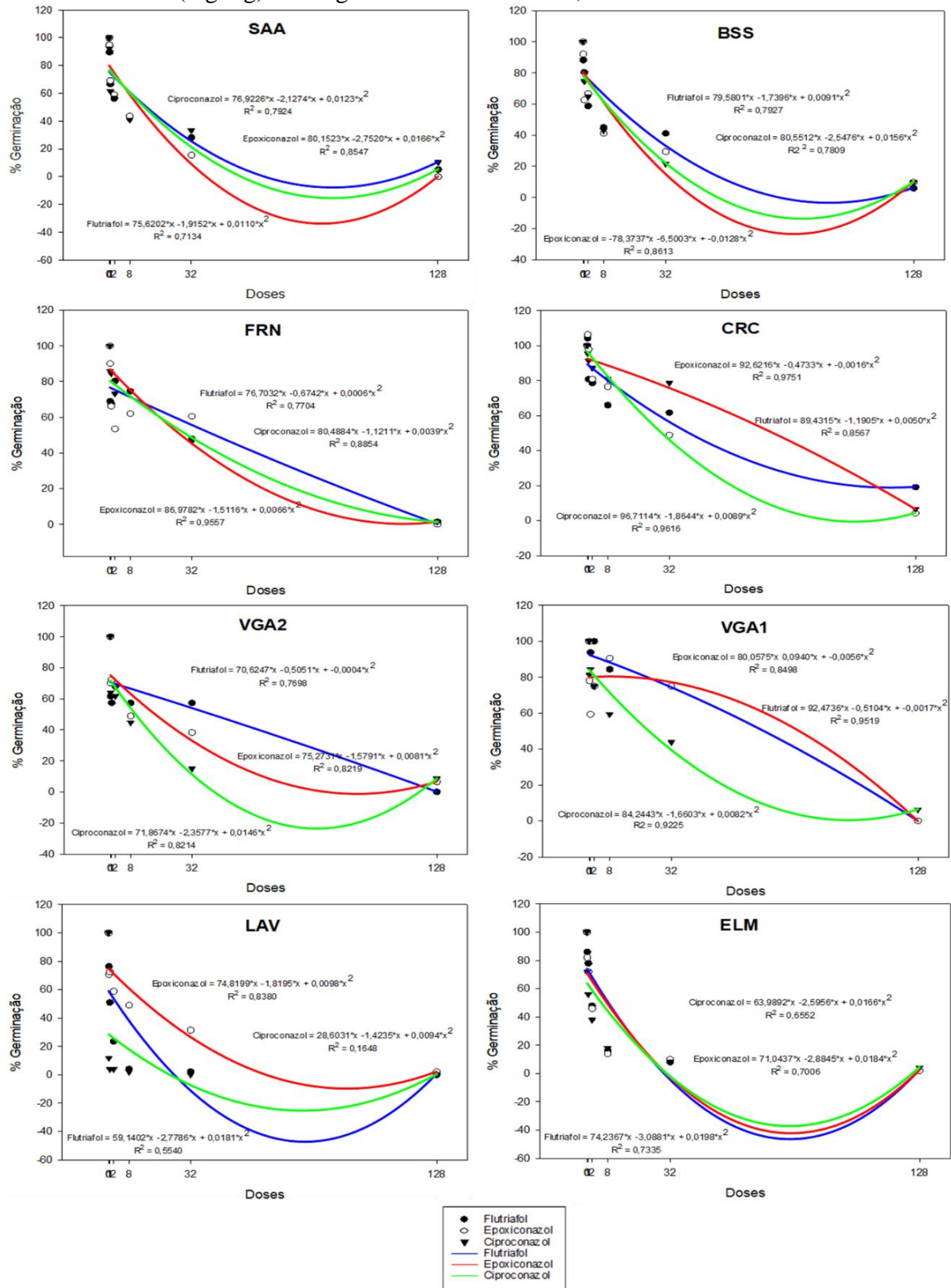


\*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si por meio do teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Fonte: Do autor (2023)

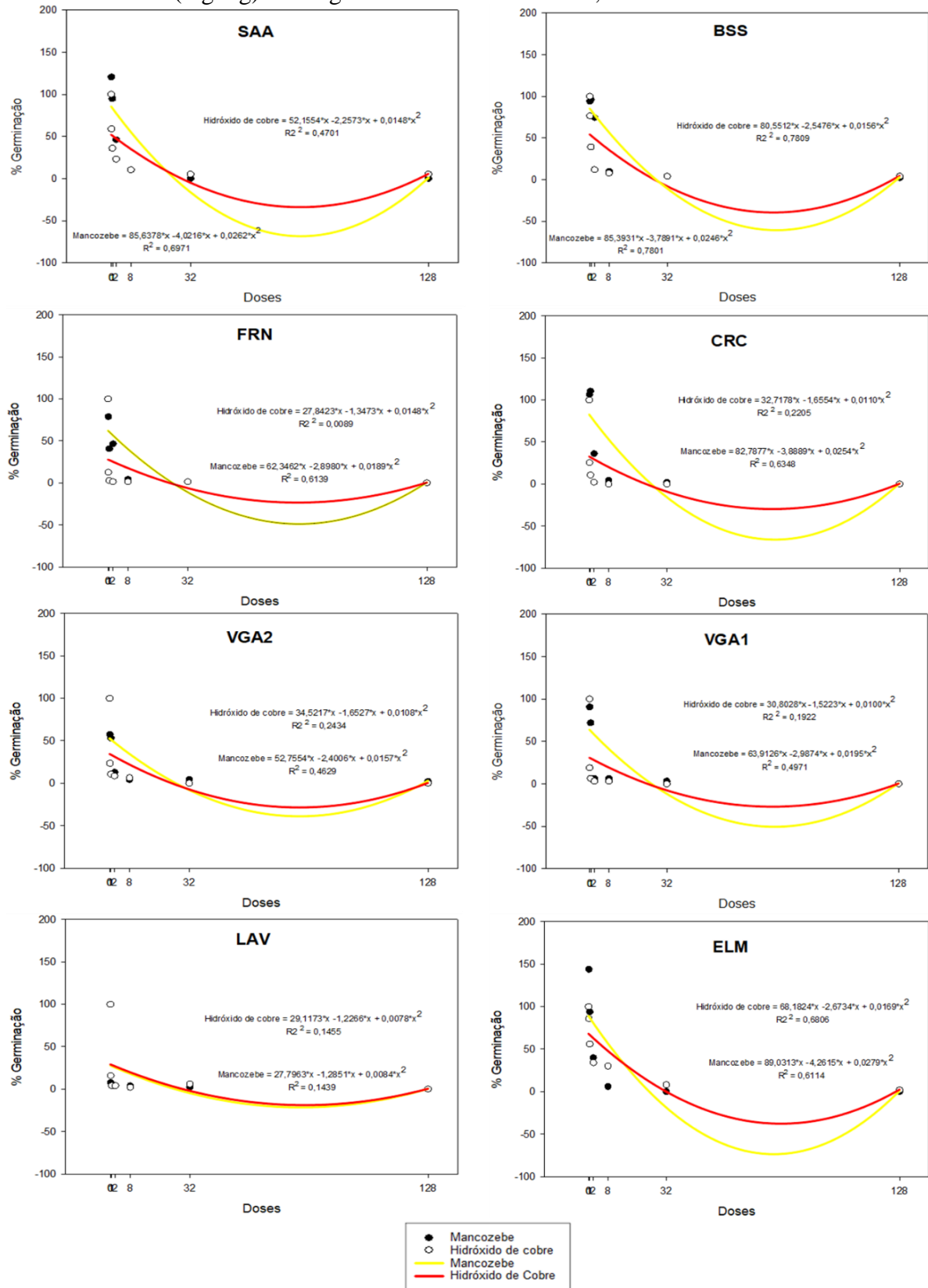
Os tratamentos com mancozebe e hidróxido de cobre, apresentaram porcentagem de germinação em relação a testemunha abaixo de 50%, em quase todos isolados já na quarta concentração, de 2 mg/Kg. Para os triazóis, essa redução ocorreu a partir da dose de 32mg/Kg, com redução abaixo de 20% na dose de 128mg/Kg. Ou seja, a sensibilidade a doses e a fungicidas foi diferente entre os isolados (Figuras 20 e 21).

**Figura 20** - Germinação dos uredósporos de *Hemileia vastatrix* para os oito isolados em diferentes doses (mg/Kg) de fungicidas triazóis. UFPA, 2023.



Fonte: Do autor (2023).

**Figura 21** - Germinação dos uredósporos de *Hemileia vastatrix* para os oito isolados em diferentes doses (mg/Kg) de fungicidas de contato. UFLA, 2023.



Fonte: Do autor (2023).

#### 4.1.1 Ec50 dos fungicidas

Houve interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre os fungicidas e os 8 isolados para a Ec50. Houve alteração ( $p < 0,05$ ) na sensibilidade dos isolados em relação ao Ec50, com variações, entre os isolados, de 1,0 a mais de 50,0 mg/kg para os triazóis.

Os ativos flutriafol, ciproconazol e epoxiconazol apresentaram alteração na sensibilidade dos isolados ( $p < 0,05$ ). Os maiores Ec50 foram observados para os isolados VGA2, FRN e VGA1 com Ec50 de 53,08, 41,37 e 34,06mg/kg para flutriafol, para os isolados CRC, FRN e VGA1 de 48,92, 21,99 e 20,98mg/kg para ciproconazol e para os isolados VGA1, LAV e CRC de 33,26, 13,98 e 11,83mg/kg para epoxiconazol. No geral, as maiores sensibilidades foram observadas nos tratamentos com hidróxido de cobre e mancozebe com Ec50 de 0,516 a 3,594mg/kg, ou seja, os multissítios ou de contato.

Para os valores obtidos na Ec50 para os fungicidas triazóis, houve alteração ( $p < 0,05$ ) na sensibilidade em todos os 8 isolados (Tabela 3I – Anexos, Tabela 6 e Figura 22).

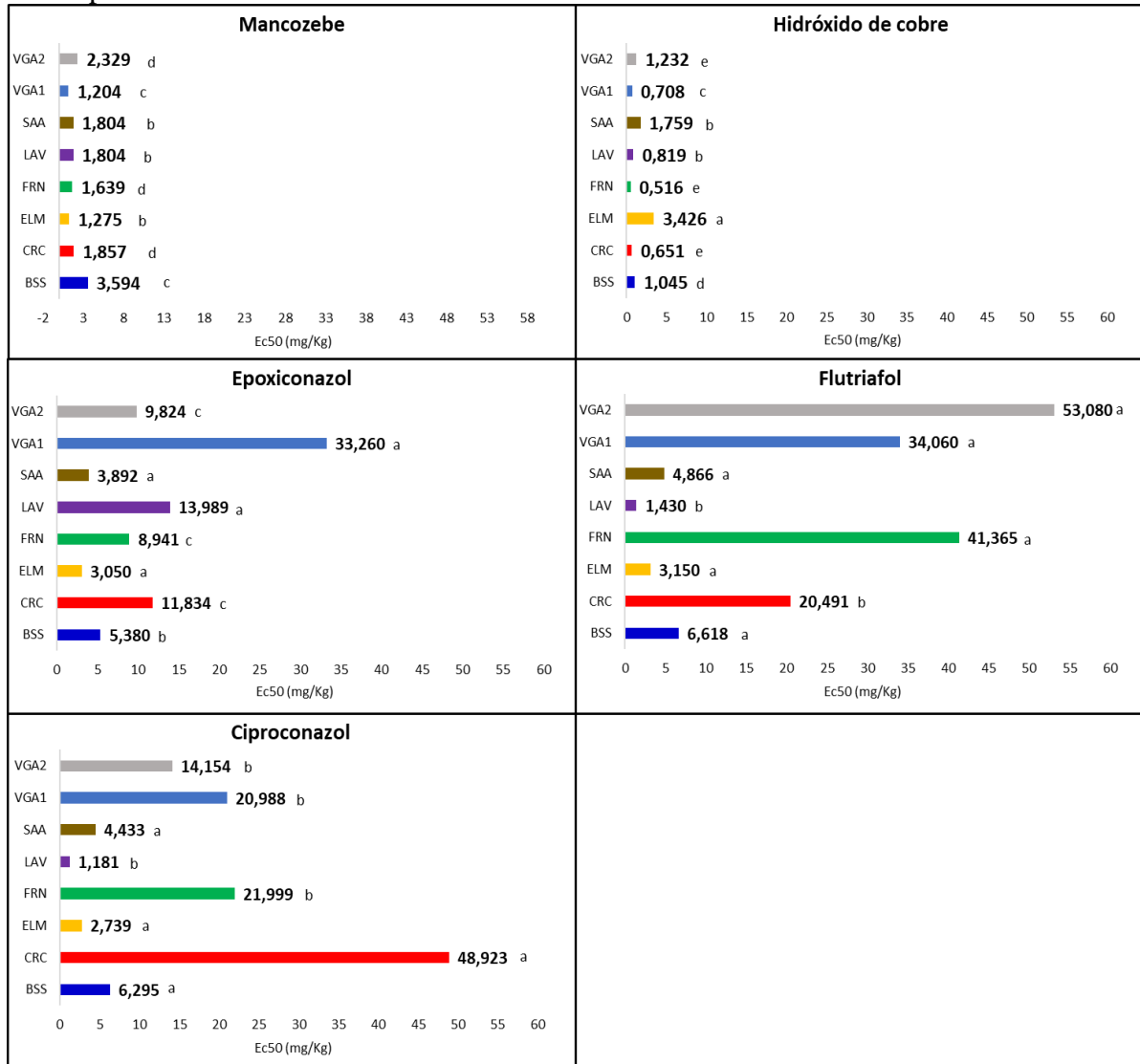
**Tabela 6:** Ec50 ou dose letal de fungicidas em mg/Kg para inibir 50% a germinação de uredósporos de oito isolados de *Hemileia vastatrix*. UFLA, 2023.

	Mancozebe	Hidróxido De Cobre	Flutriafol	Epoxiconazol	Ciproconazol
<b>BSS</b>	3,594 Dc	1,045 Ed	6,618 Aa	5,380 Cb	6,295 Ba
<b>CRC</b>	1,857 Dd	0,651 Ee	20,491 Ab	11,834 Cc	48,923 Ba
<b>ELM</b>	1,275 Db	3,426 Ea	3,150 Aa	3,050 Ca	2,739 Ba
<b>FRN</b>	1,639 Dd	0,516 Ee	41,365 Aa	8,941 Cc	21,999 Bb
<b>LAV</b>	1,804 Db	0,819 Eb	1,430 Ab	13,989 Ca	1,181 Bb
<b>SAA</b>	1,804 Db	1,759 Eb	4,866 Aa	3,892 Ca	4,433 Ba
<b>VGA1</b>	1,204 Dc	0,708 Ec	34,060 Aa	33,260 Ca	20,988 Bb
<b>VGA2</b>	2,329 Dd	1,232 Ee	53,080 Aa	9,824 Cc	14,154 Bb

\*Médias seguidas de mesma letra não são significativamente diferentes de acordo com o teste Scott-Knott ( $p < 0,001$ ). Letras maiúsculas compara a Ec50 entre os tratamentos, enquanto as letras minúsculas comparam as Ec50 dos isolados de *H. vastatrix*.

Fonte: Do autor (2023)

**Figura 22:** Ec50 ou dose letal de fungicidas em mg/Kg para inibir 50% a germinação de uredósporos de diferentes isolados de *Hemileia vastatrix*. UFLA 2023.



\*Médias seguidas de mesma letra não são significativamente diferentes de acordo com o teste Scott-Knott ( $p < 0,001$ ).

Fonte: Do autor (2023).

## 4.2 Controle da ferrugem em mudas de *Coffea arabica*

Os pressupostos da análise de variância não foram atendidos na análise de fatorial duplo, então foi realizado uma análise não paramétrica, onde foi verificada a significância ( $p \leq 0,05$ ) na interação de isolados com fungicidas (Anexo II). Houve alteração significativa ao teste de Kruskal-Wallis ( $p \leq 0,05$ ) entre os isolados CRC, VGA1 e VGA2 e os fungicidas analisados epoxiconazole, ciproconazole, flutriafol, hidróxido de cobre e o mancozebe para a AACPD ou AACPI. (Tabela 7 – 4A ANEXOS).



**Tabela 7** -Área abaixo da curva do progresso da incidência (AACPI) para ferrugem em mudas de cafeeiro. UFLA, 2023.

TRATAMENTO	Dose (mg/kg)	CRC	VGA1	VGA2
Testemunha	0	1183 a	1712 a	1183 a
Mancozebe	2.250	0 b	0 c	0 b
Hid. Cobre	1.075	0 b	995 b	0 b
Ciproconazole	300	0 b	0 c	0 b
Epoxiconazole	75	0 b	0 c	0 b
Flutriafol	250	0 b	0 c	0 b

Foi utilizada a dose comercial considerando 400 litros de calda por hectare.

\*Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem entre si por meio do teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ).

Fonte: Do autor (2023)

Houve alteração significativa no teste de Kruskal-Wallis ( $p \leq 0,05$ ) entre o fungicida hidróxido de cobre e os isolados analisados CRC, VGA1, VGA2 e LAV para a AACPD (Tabela 8).

**Tabela 8** - Área abaixo da curva do progresso da incidência (AACPI) para ferrugem em mudas de cafeeiro. UFLA, 2023

ISOLADOS	Hidróxido de Cobre
CRC	0 a
VGA1	995 b
VGA2	0 b
LAV	404 b

Foi utilizada a dose comercial considerando 400 litros de calda por hectare.

\*Médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si por meio do teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ).

Fonte: Do autor (2023)

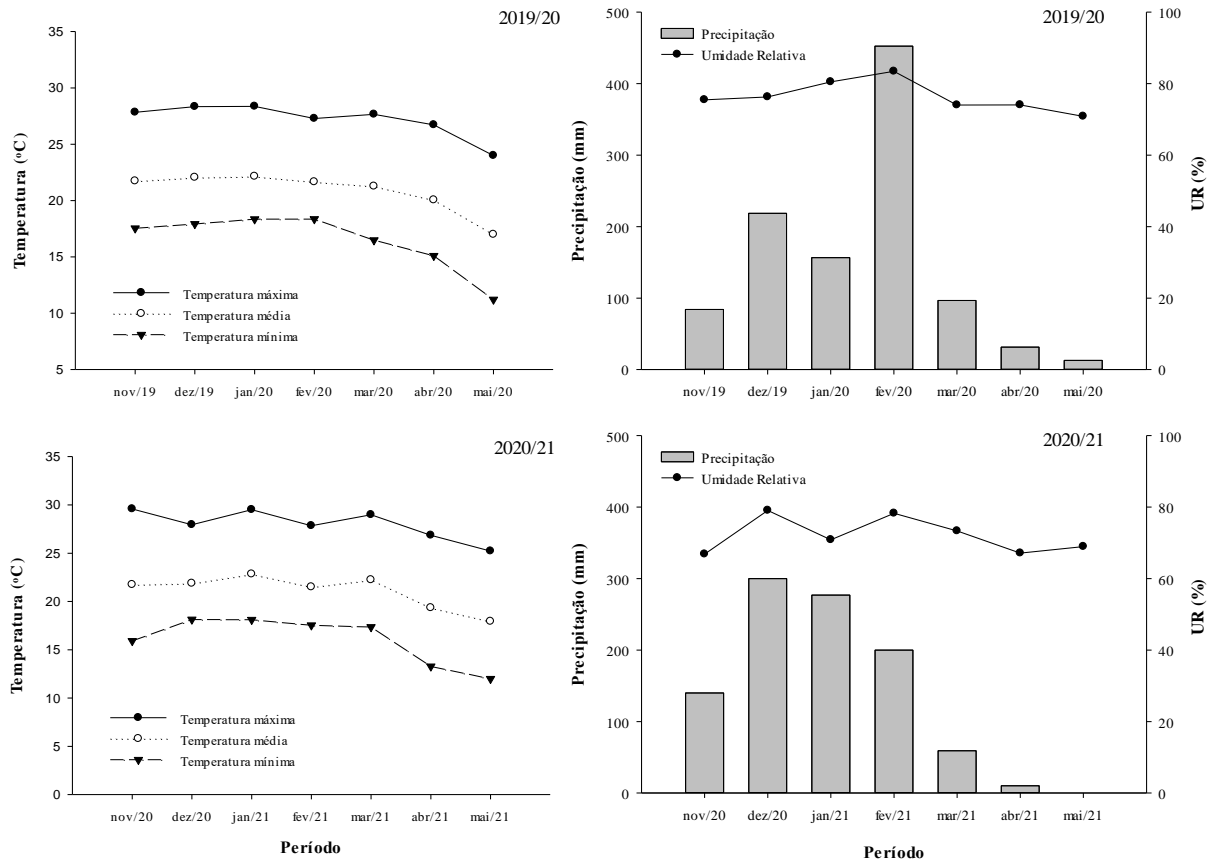
O fungicida mancozebe e a testemunha não apresentaram efeito significativo no teste de Kruskal-Wallis. E além disso, em relação aos fungicidas não ocorreu variação nos dados obtidos com valores zero e assim o teste estatístico não detectou significância ou não.

### 4.3 Controle da ferrugem em folhas de cafeeiro no campo

As variáveis ambientais foram monitoradas durante os dois anos do experimento, inserir lá no material e métodos, no campo foi instalado uma estação.... No ano de 2019/20, a temperatura variou entre 11,0 e 28,0°C, com média em torno de 21,0°C e umidade relativa média

aproximadamente 75,0%. No ano de 2020/21, a temperatura variou entre 12,0°C e 30,0°C, com média entre 21,0 °C e a umidade relativa média aproximadamente 70,0%. A maior precipitação pluviométrica foi observada em fevereiro de 2020 em 452 mm (Figura 23).

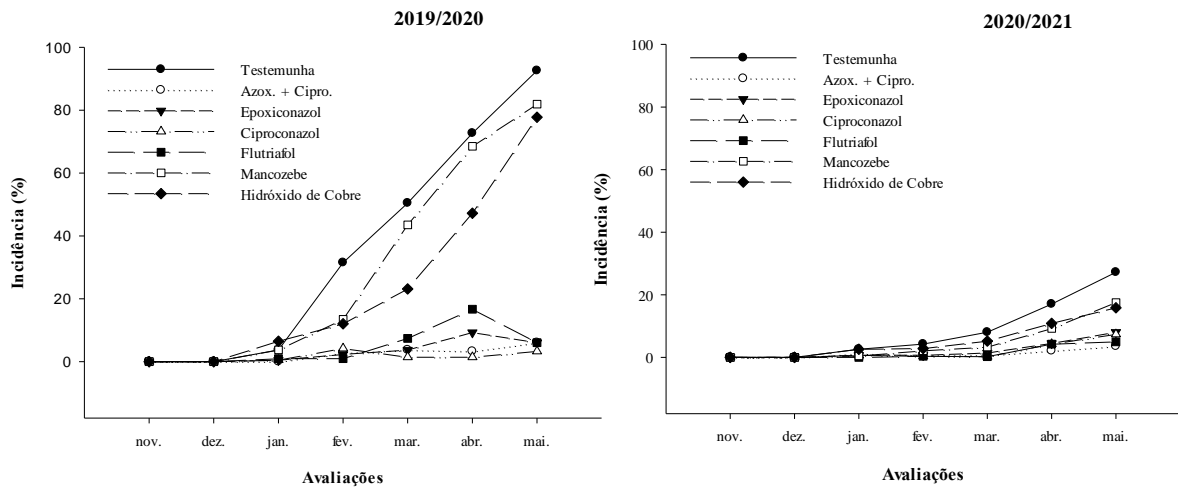
**Figura 23** - Variáveis ambientais registradas no município de Varginha – MG durante a condução do experimento. Primeiro ano (2019/20), segundo ano (2020/21). UFLA, 2023.



Fonte: INMET (2021).

Nos dois anos de condução do experimento não foi observada a incidência de ferrugem nos meses de novembro e dezembro. Nos meses seguintes, o aumento da ferrugem foi constante em todos os tratamentos. Nos dois anos, a maior incidência da ferrugem foi observada no tratamento testemunha, com valores de incidência de 92 e 27% no mês de maio do ano agrícola 2019/20 e 2020/21, respectivamente (Figura 24).

**Figura 24:** Curva de progresso da incidência da Ferrugem (*Hemileia vastatrix*) nas diferentes datas de avaliações, em função dos fungicidas aplicados nos dois anos de condução. UFLA, 2023.

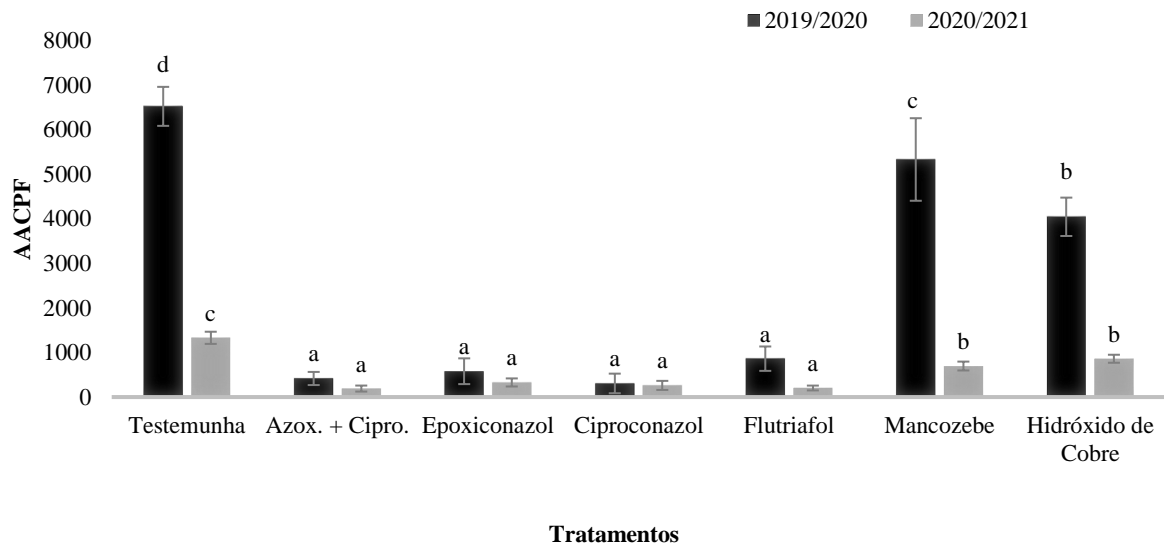


Fonte: Do autor (2023)

Houve interação significativa entre os experimentos repetidos no tempo para as variáveis analisadas ( $p < 0,05$ ), portanto, houve alteração entre os anos agrícolas para a incidência da doença (5A ANEXOS). Dessa forma, realizou-se avaliação com a separação dos dados dos dois anos de condução do experimento.

Os menores valores de AACPD foram observados nos tratamentos fungicidas, ciproconazol, azoxistrobina + ciproconazol e epoxiconazol com mais de 90% de controle da ferrugem nos dois anos de condução ( $p < 0,05$ ). Ou seja, nessa área, o fungo *Hemileia vastatrix* ainda foi sensível a esses ativos. O tratamento triazol com flutriafol foi o único entre eles, a apresentar controle abaixo de 90% da ferrugem no primeiro ano de condução. Já os maiores valores foram observados nos tratamentos testemunha, mancozebe e hidróxido de cobre. No primeiro ano, 2019/20 os tratamentos com mancozebe e hidróxido de cobre diferiram estatisticamente da testemunha, tendo 18% e 38% de eficiência no controle respectivamente, sendo inferiores aos tratamentos com os triazóis e mistura de triazol com estrobilurina. Os demais tratamentos, azoxistrobina + ciproconazol, ciproconazol, epoxiconazol e flutriafol não diferiram entre si e tiveram eficiência acima de 85%. No segundo ano, 2020/21, a testemunha obteve a maior AACPD e diferiu estatisticamente de todos os tratamentos. Os tratamentos mancozebe e hidróxido de cobre não diferiram entre eles e tiveram eficiência de 47% e 35%, respectivamente, os demais tratamentos, azoxistrobina + ciproconazol, ciproconazol, epoxiconazol e flutriafol não diferiram entre si e tiveram mais de 75% de eficiência no controle (Figura 25 e Tabela 9).

**Figura 25:** Área abaixo da curva de progresso da ferrugem (AACPF) em função dos fungicidas aplicados nos dois anos de condução. UFLA, 2023.



Fonte: Do autor (2023).

Houve alteração significativa ( $p < 0,05$ ) entre os fungicidas nas diferentes datas de avaliação. O início do aparecimento dos sinais da ferrugem foi identificado nas avaliações do mês de janeiro. No primeiro ano, em todas as avaliações, a incidência da ferrugem na testemunha e nos tratamentos com mancozebe e hidróxido de cobre foi superior aos demais tratamentos. No segundo ano, os maiores valores de incidência nas diferentes datas das avaliações, também, foram nos tratamentos testemunha, mancozebe e hidróx. de cobre. O fungo *Hemileia vastarix* se mostrou sensível aos ativos ciproconazol, epoxiconazol e flutriafol, estes, juntamente com o fungicida de mistura, foram os mais eficientes no controle da ferrugem em todas as avaliações (Anexo II).

No geral, a incidência da ferrugem no segundo ano de condução do experimento foi inferior ao primeiro ano (Tabela 9).

**Tabela 9** - Incidência da ferrugem do cafeeiro nas diferentes datas de avaliação e área abaixo da curva de progresso da ferrugem (AACPF) em função dos diferentes fungicidas nos 2 anos. UFLA 2023.

2019/2020																		
Tratamentos	jan	E (%)	fev	E (%)	mar	E (%)	abr	E (%)	mai	E (%)	AACPF	E (%)						
Testemunha	3,7	b	---	31,5	b	---	50,5	c	---	72,7	c	---	92,6	b	---	6521,8	d	---
Azox. + Cipro.	0	a	100	2,8	a	91,2	3,7	a	92,7	3,2	a	95,5	6	a	93,5	416,7	a	93,6
Epoxiconazol	0,5	a	87,5	2,3	a	92,6	3,7	a	92,7	9,3	a	87,3	6	a	93,5	579,4	a	91,1
Ciproconazol	0,5	a	87,5	4,2	a	86,8	1,4	a	97,2	1,4	a	98,1	3,2	a	96,5	305,8	a	95,3
Flutriafol	0,9	a	75	0,9	a	97,1	7,4	a	85,3	16,7	a	77,1	6	a	93,5	861,6	a	86,8
Mancozebe	3,7	b	0	13,4	b	57,4	43,5	c	13,8	68,5	c	5,7	81,9	b	11,5	5330,1	c	18,3
Hidró. Cobre	6,5	b	-75	12	b	61,8	23,1	b	54,1	47,2	b	35	77,8	b	16	4044	b	38

2020/2021																		
Tratamentos	jan	E (%)	fev	E (%)	mar	E (%)	abr	E (%)	mai	E (%)	AACPF	E (%)						
Testemunha	2,6	a	---	4,3	c	---	8	b	---	17	c	---	27,2	c	---	1329,4	c	---
Azox. + Cipro.	1,2	a	54,5	0,7	a	83,3	0,7	a	91,2	2,1	a	87,5	3,6	a	87	190,8	a	85,7
Epoxiconazol	0,7	a	72,7	0,7	a	83,3	1,4	a	82,4	4,5	a	73,6	8	a	70,4	328	a	75,3
Ciproconazol	0,7	a	72,7	0,4	a	91,7	0,2	a	97,1	4,3	a	75	7,3	a	73	261,2	a	80,3
Flutriafol	0	a	100	0,4	a	91,7	0,2	a	97,1	4,3	a	75	5	a	81,7	203,6	a	84,7
Mancozebe	0,5	a	81,8	2,1	b	50	3,3	a	58,8	9,2	b	45,8	17,5	b	35,7	696,2	b	47,6
Hidró. Cobre	2,6	a	0	2,8	b	33,3	5,2	b	35,3	10,9	b	36,1	15,9	b	41,7	859,6	b	35,3

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna diferem entre si por meio do teste de Scott-Knott ( $P < 0,05$ ).

Fonte: Do autor (2023)

### 4.3.1 Produtividade

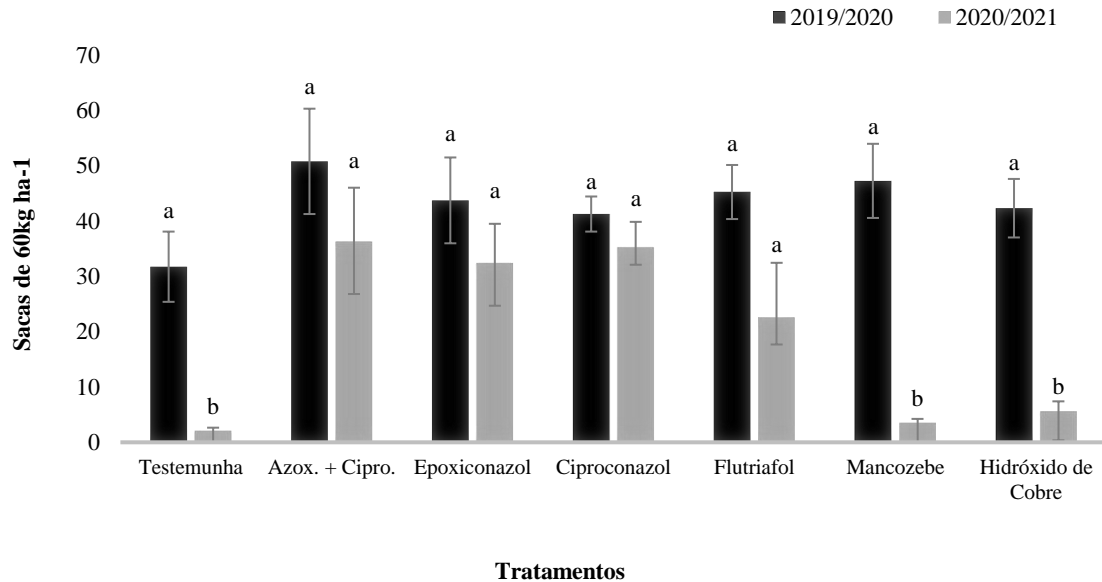
Houve alteração na produtividade ( $p < 0,05$ ), ao serem aplicados de forma isolada por dois anos consecutivos.

No ano de 2019/20, o maior valor em sacas por hectare foi observado no tratamento azoxistrobina + ciproconazol, com produtividade de 50,8 sacas. Já para o ano de 2020/21, os tratamentos com o fungicida em mistura (azoxistrobina + ciproconazol), ciproconazol e epoxiconazol obtiveram maiores valores de produtividade com 36,3, 35,3 e 32,5 sacas, respectivamente.

Nos dois anos, a menor produtividade foi observada na testemunha, como 31,8 sacas no primeiro ano e 2 no segundo ano de condução do experimento. No ano de 2019/20, ocasionalmente o de maior incidência da doença, destaca-se em produtividade os fungicidas de ação de contato ou multissítios, mancozebe e hidróxido de cobre, com produção de 47,3 e 42,3

sacas respectivamente (Figura 26).

**Figura 26** - Produtividade da lavoura em função dos produtos aplicados nos dois anos de condução do experimento. UFLA, 2023.



Fonte: Do autor (2023).

Não houve diferença estatística entre os tratamentos aplicados no primeiro ano do experimento. O maior valor de produtividade relativa foi obtido no tratamento azoxistrobina + ciproconazol, com 37,5%. Destaque para o fungicida mancozebe com produtividade relativa de 32,8%, valor superior aos apresentados com os fungicidas triazóis isolados flutriafol, epoxiconazol e ciproconazol. Já para o segundo ano, houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos. Os tratamentos com fungicida de mistura (azoxistrobina + ciproconazol) e os fungicidas isolados ciproconazol, epoxiconazol e flutriafol obtiveram maiores valores de produtividade e diferiram dos demais tratamentos com produtividade relativa acima de 50%, com destaque para a mistura azoxistrobina + ciproconazol com a única produtividade relativa a ultrapassar o valor de 60%. Os tratamentos com menores produtividades relativas em relação a testemunha no segundo ano, foram o mancozebe e hidróxido de cobre com 33,3 e 29,4% respectivamente. Se comparado os dois anos de condução a produtividade reduziu aproximadamente 94,5% na testemunha, 92,6% no tratamento com mancozebe, 86,8% no tratamento com hidróxido de cobre (Tabela 11). Portanto, a menor sensibilidade do patógeno a estes fungicidas interferiu de forma significativa na produtividade, ao serem aplicados de forma isolada por dois anos consecutivos (5B e 5C ANEXOS). Quanto aos demais tratamentos o

fungicida flutriafol apresentou produtividade reduzida em 50,1%, enquanto os demais tratamentos com triazóis isolados e a mistura de azoxistrobina e ciproconazol, não apresentaram redução de produtividade acima de 30%. Portanto, a menor sensibilidade do patógeno a este fungicida pode ter interferido, mesmo de forma não significativa na produtividade, ao serem aplicados de forma isolada por dois anos consecutivos (Tabela 10).

**Tabela 10** - Média da produtividade de cafeeiro em sacas de 60 kg/ha<sup>-1</sup> em função dos fungicidas aplicados nos dois anos agrícolas. UFLA 2023.

Tratamentos	Produtividade sacas de 60 Kg/ha					
	2019/2020	PR (%)	2020/2021	PR (%)	Biênio	PR (%)
Testemunha	31,8 a	---	2,1 b	---	16,9 b	---
Azox. + Cipro.	50,8 a	37,5	36,3 a	94,2	43,6 a	61,1
Epoxiconazol	43,7 a	27,4	32,5 a	93,5	38,1 a	55,6
Ciproconazol	41,3 a	23,1	35,3 a	94,0	38,3 a	55,8
Flutriafol	45,3 a	29,8	22,6 a	90,6	33,9 a	50,1
Mancozebe	47,3 a	32,8	3,5 b	40,0	25,4 b	33,3
Hidróxido de Cobre	42,3 a	25,0	5,6 b	62,5	24,0 b	29,4

PR (%) – Produtividade relativa;

\*Médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si por meio do teste Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Fonte: Do autor (2023)

## 5 DISCUSSÃO

Os isolados de *Hemileia vastatrix*, de diferentes locais, apresentaram variações na porcentagem de germinação. Esse fato pode ser devido a idade dos esporos, das condições edafoclimáticas onde foram produzidos, das condições de nutrição do cafeeiro e sua carga pendente e da variabilidade entre e dentro desses isolados (GULART, 2009), além de outros fatores. Devido a esse fato, os dados para estudar a variação desses isolados na sensibilidade a diferentes doses de fungicidas consideraram o quanto germinaram em relação a testemunha de cada isolado ou dose zero do princípio ativo, para padronizar os resultados.

Foram avaliadas, *in vitro*, doses sempre inferiores ou próximas aquelas utilizadas no campo, devido a diferente exposição ou contato dos esporos nos dois ambientes. No campo, o fungicida em mistura com água e ainda outros produtos no tanque de pulverização pode não atingir o alvo ou o local na folha onde deverá entrar em contato com o patógeno, sendo, muitas vezes inativado por reações químicas, sofrendo perdas por evaporação, dificuldade de atingir o

local onde o fungo está ou penetra, entre outros motivos (AZEVEDO, 2003). Já *in vitro*, os esporos ou micélio do fungo tem contato e é envolvido completamente por solução ou suspensão do produto. Embora os triazóis tenham efeito na germinação de esporos (EHR & KEMMIT, 2002), devido a sua rápida absorção e pouca exposição aos esporos e tubos germinativos de fungos, o seu maior benefício ou modo de ação no controle é seu efeito curativo e erradicante (MUELLER et al., 2013). Ou seja, precisam ser absorvidos através da cutícula e translocar nos parênquimas em direção aos vasos do xilema. Porém, sua concentração até chegar nos sítios de ação, onde estão localizados o micélio do patógeno tende a diminuir de forma drástica, devido os motivos citados acima. Por exemplo, no trabalho desenvolvido por Santos, demonstrou-se que a concentração máxima do fungicida epoxiconazol nos parênquimas da folha da soja, após 72 horas da sua pulverização foi de 56%. Na ocasião foi aplicado sobre a folha a dose de 25 g i.a./hectare, correspondente as doses por hectare utilizadas com os fungicidas triazóis neste experimento. Quanto a parte não absorvida já se notou significância logo após 24 horas de aplicado. Após avaliado o fungicida aplicado, 24% ficou na parte externa e 56% penetrou e translocou (SANTOS, 2016). Além do mais, nos estudos '*in vitro*' para avaliar a germinação, o contato dos esporos ou do tubo germinativo com o princípio ativo é total em 100% da sua superfície durante todo o tempo do ensaio, algo difícil de ocorrer no campo. Sendo assim, foi necessário primeiro determinar a dose resposta '*in vitro*' para estudos de germinação de *Hemileia vastatrix*, ou seja, a dose necessária para detectar alterações entre os princípios ativos avaliados.

Essa dose se encontra entre 32 e 128 mg/kg para os fungicidas triazóis epoxiconazol, ciproconazol e flutriafol. Menor em relação as doses recomendadas no campo, de 187,5 mg/kg para os fungicidas epoxiconazol e ciproconazol a 625,0 mg/kg para o fungicida flutriafol, devido aos motivos citados acima, ou seja, ocorrem perdas desde o preparo da calda até a absorção através das membranas dos esporos, do micélio ou das estruturas reprodutivas dos fungos.

Na literatura não há registros de doses definidas para testes de sensibilidade com esporos de *Hemileia vastatrix*. Entretanto, com os dados desse trabalho é possível definir as doses entre 32 e 128 mg/kg de ingrediente ativo como dose resposta para identificar e avaliar a alteração entre triazóis '*in vitro*' e também a existência da variação entre os níveis de sensibilidade de isolados de *Hemileia vastatrix*, entre outras variáveis.

Apesar de os ativos avaliados serem eficientes para inibir a germinação dos esporos, houve alteração na sensibilidade entre os isolados para as doses avaliadas, inclusive naquela



sugerida como dose resposta. Dessa forma, houve alteração entre os fungicidas para a germinação de esporos entre os isolados de *Hemileia vastatrix* avaliados. A existência da alteração entre os níveis de sensibilidade dos isolados ficou mais clara ao se aplicar a dose de 128 mg/Kg. Nessa dose, dois dos isolados (FRN e LAV) apresentaram germinação zero ou próxima de zero, contudo, ainda 6 dos 8 isolados (BSS, CRC, ELM, SAA, VGA1 e VGA2) destacaram dos demais, variando de 2 a 19,1% de germinação nos tratamentos com triazóis. Apesar da concentração presente no mesófilo foliar ser inferior a pulverizada e da dose sugerida corresponder a 68,2 % da dose comercial, de 187,5 mg/Kg, do epoxiconazole e do ciproconazole, ainda superior àquela encontrada, de 56% em folhas de soja, para o primeiro ativo, citado por Santos (2016), não é possível afirmar a presença de resistência em razão de a dose de 128 mg/Kg ser inferior a registrada para controlar a ferrugem. São necessários mais estudos, inclusive moleculares. Certamente, esse é um indicativo da necessidade de realizar esses trabalhos em futuro próximo.

Dessa forma, os isolados BSS e CRC foram os isolados com germinação expressiva na maior dose testada para os três triazóis e devem ser considerados para estudos futuros sobre resistência de *H. vastatrix* a fungicidas triazóis no cafeeiro. Estes se encontram armazenados no laboratório de Fitopatologia da UFLA. Os isolados CRC e BSS foram coletados em lavoura onde, no ano de 2020, o controle da doença não foi 100% eficaz, mesmo sendo aplicado fungicida de acordo com recomendação agrônômica.

Para os fungicidas de contato mancozebe e hidróxido de cobre, nota-se a atuação na porcentagem de germinação, com concentração menor, ao se comparar com os triazóis, não apresentando diferenças entre os isolados a partir da dose de 128mg/Kg. Embora na sua recomendação de campo a quantidade reforça a necessidade de se utilizar a campo, em rotação ou adicionado a outros fungicidas de modo de ação sistêmica, este grupo de fungicidas no manejo da resistência de doenças, se faz necessário devido sua ação multissítio (FRAC, 2021). No caso desses grupos de fungicidas, a dose de uso no ensaio “*in vitro*” é sempre menor comparado a dose de campo. Devido ao fato de não serem sistêmicos e necessitarem de ampla cobertura foliar ao serem utilizados no campo. No caso do cafeeiro para controle de *H. vastatrix*, a aplicação deve ocorrer tanto na superfície adaxial quanto abaxial da folha, devido a esse fungo penetrar por estômatos.

No campo a dose utilizada dos fungicidas protetores ou multissítios é muito maior ao se comparar com a dos sistêmicos, com exceção do flutriafol, pois a aplicação deve cobrir determinada área foliar e o esporo entrar em contato com a superfície tratada, o que vai acarretar

contato menor com o fungicida. Isso explica o fato de os tratamentos com hidróxido de cobre e mancozebe terem se sobressaído em relação aos triazóis. No campo, diversos fatores podem interferir na qualidade de aplicação dos fungicidas de contato, de acordo com Azevedo (2003), promovendo a queda da eficiência de controle das doenças, tais como, a tecnologia de aplicação (densidade, diâmetro e uniformidade de distribuição de gotas), as condições do ambiente no momento da aplicação, o estágio fenológico da cultura e o nível populacional do patógeno. Além do caminho percorrido da calda com o fungicida até chegar na planta, depois da saída do bico do pulverizador, podendo sofrer alterações ou perdas e interferir na qualidade e eficácia do fungicida aplicado. No teste “*in vitro*”, a exposição do esporo do fungo ao tratamento é facilitada, ou seja, o esporo fica totalmente coberto ao ser aplicado o fungicida.

Nos dados da  $Ec_{50}$ , foi observada a alteração ( $p < 0,001$ ) na sensibilidade dos isolados, para todos os triazóis testados e a variação de dose resposta entre os isolados. A redução expressiva na sensibilidade do patógeno *H. vastatrix* ao fungicida ciproconazol foi observada em relação aos isolados LAV, ELM, SAA e BSS, com valores de  $Ec_{50}$  de 1,181, 2,739, 4,433 e 6,295mg/Kg, ao epoxiconazol em relação aos isolados ELM, SAA, BSS, FRN e VGA2, com 3,050, 3,892, 5,380, 8,941 e 9,824mg/Kg e ao flutriafol para os isolados LAV, ELM, SAA e BSS, de 1,430, 3,150, 4,866 e 6,618mg/Kg, respectivamente (Tabelas 7 e Figura 7). Em experimentos realizados anteriormente por Bragança (2010) com populações de *Hemileia vastatrix* de Minas Gerais e Espírito Santo, a concentração inibitória,  $Ec_{50}$ , para outro triazol, o tebuconazol, na germinação de esporos foi entre 0,01 e 5,11 mg/Kg, ou seja, inferior às encontradas no presente trabalho para os triazóis avaliados isoladamente. Com o nível de redução da sensibilidade desses isolados observados nesse trabalho, mesmo não podendo afirmar a resistência do patógeno aos princípios ativos dos triazóis testados, o trabalho com investigação molecular se faz necessário para se obter melhor conclusão da realidade, pois os valores de  $Ec_{50}$  obtidos já foram superiores a 20mg/Kg (BAMPI et al, 2013).

De acordo com Sharvelle (1961), a  $Ec_{50}$  corresponde à dose letal capaz de inibir 50% dos esporos viáveis do fungo e é usado para descrever a potência do fungicida. Para Hassal (1990), a  $Ec_{50}$  é o índice mais sensível de toxicidade sendo usualmente adotada como padrão de comparação da toxicidade da substância. Bampi et al. (2013) sugerem, para *Phakopsora pachyrhizi*, as substâncias com  $Ec_{50} < 0,1$ mg/Kg consideradas como altamente fungitóxicas; com  $Ec_{50}$  entre 0,1 e 20 mg/Kg, fungitóxicas;  $Ec_{50}$  entre 21 e 100 mg/Kg, moderadamente fungitóxica e  $Ec_{50} > 100$  mg/Kg, substância não tóxica.

Com relação aos critérios de Bampi et al (2013) citados acima, os 8 isolados testados

nesse trabalho são classificados como altamente sensíveis ou sensíveis.

Contudo, os valores de  $Ec_{50}$  do fungicida com ativo flutriafol encontrados para os isolados VGA2 (53,080mg/Kg), FRN (41,365mg/Kg), VGA1 (34,060mg/Kg) e CRC (20,491mg/Kg), do fungicida com ativo ciproconazol para CRC (48,923mg/Kg), FRN (21,999mg/Kg) e VGA1 (20,988mg/Kg) e do epoxiconazol para VGA1 (33,260mg/Kg), se destacaram por apresentarem valores superiores aos demais isolados, ou seja, há a necessidade de se utilizar doses maiores para inibir a germinação dos uredósporos destes isolados.

No experimento realizado em casa de vegetação, houve interação entre os isolados e os fungicidas na análise não-paramétrica, para o fungicida hidróxido de cobre e os isolados VGA1 e LAV.

No experimento em casa de vegetação com mudas, ou seja, em ambiente controlado e sem mistura de tanque com outros produtos, foram pulverizados preventivamente os fungicidas e inoculado *H. vastatrix* dois dias após a aplicação dos fungicidas. Para maiores resultados em casa de vegetação, é interessante a execução de outros experimentos com metodologia diferente da utilizada no presente trabalho, como o aumento da concentração da suspensão de  $10^5$  para  $10^8$  esporos/ml. Além disso, avaliar o efeito curativo, ou seja, pulverizar o fungicida após a inoculação, fatos corriqueiros no campo.

No experimento realizado à campo, os fungicidas foram aplicados por dois anos, no qual houve alteração na intensidade da ferrugem entre esses períodos. No primeiro ano de condução, a incidência na testemunha ultrapassou 90% e no segundo ano alcançou 30%. O cafeeiro (*C. Arabica*) apresenta bienalidade na produção, ou seja, alternância anual de altas e baixas produtividades. Essa característica é comumente atribuída à diminuição das reservas das plantas, em anos de safra com altas produtividades, e isso vai ocasionar a baixa produção no ano seguinte (PEREIRA et al., 2011). Assim, Velasquez (2018) relata em cultivares de cafeeiros Icatu, Catuaí e Mundo Novo em Campos Altos variação experimental alto nos anos de produtividade baixa e coeficiente baixo nos anos de produtividade alta (VELASQUEZ, 2018). Resultados semelhantes foram encontrados por Cunha, Mendes e Chalfoun (2004). Esses autores observaram incidência acima de 80% no primeiro ano e 30% no mesmo período de avaliação do ano seguinte e atribuíram a menor incidência da ferrugem de um ano para outro, à redução da produção e as alterações do clima. Se observado os valores referentes ao clima nos dois anos, nota-se volume inferior de precipitação no mês de fevereiro do ano de 2021 (200 mm) em relação ao ano de 2020 (450 mm) e as temperaturas no período de 2019/2020 (20 a 22 °C) foram mais constantes se comparadas ao período de 2020/2021 (18 a 22 °C). Portanto, o

clima teve papel importante na influência da queda da incidência da doença no segundo ano de condução do experimento.

Nos dois anos de condução, os tratamentos com hidróxido de cobre e mancozebe tiveram os maiores valores de incidência, próximos aos encontrados na testemunha. Diferente do ocorrido no experimento “*in vitro*” onde os mesmos em baixas doses tiveram controle da germinação. Tal fato já foi explicado quanto ao modo de aplicação e a cobertura com os fungicidas aplicados serem diferentes sobre o patógeno, nas duas condições, “*in vitro*” e à campo. No experimento desenvolvido por Vilela (2020), o fungicida hidróxido de cobre isolado, também proporcionou redução no controle da ferrugem superior apenas a testemunha, sendo inferior aos demais tratamentos, com redução de 17% da doença. Vilela (2020) atribuiu a baixa eficiência do hidróxido de cobre aos aspectos extrínsecos do produto, com ação exclusivamente protetora e por possível lavagem dos ingredientes ativos, especialmente em cenários de chuvas frequentes, e a alta intensidade da doença. Com isso, fica clara a importância do uso de fungicidas sistêmicos, principalmente em épocas de alta probabilidade de chuvas, porém com estratégias para reduzir a seleção direcional de raças ou isolados dentro dessas.

Todos os triazóis foram eficientes no controle da ferrugem. Baseado nos valores médios da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) os tratamentos ciproconazol, epoxiconazol e a mistura de azoxistrobina com ciproconazol, tiveram eficiência acima dos 90% no primeiro ano (2019/20). A menor eficiência entre os triazóis foi do flutriafol, próximo de 87%. No segundo ano (2020/21), os tratamentos com flutriafol, ciproconazol e a mistura de azoxistrobina com ciproconazol, tiveram eficiência acima de 80%, e a menor eficiência foi do epoxiconazol com 75%. Em trabalho desenvolvido (evitar também) por Vilela (2020), o tratamento com ciproconazol puro proporcionou redução de 59% da incidência da ferrugem, resultado semelhante aos obtidos no presente trabalho. Vilela (2020) testou também o uso de ciproconazol combinado com estrobilurina, resultando em acréscimo de 17% na eficiência.

Com relação a produtividade, no primeiro ano de condução do experimento não houve diferença entre os tratamentos. Já no segundo ano a diferença na produtividade foi alta, tendo redução da produtividade acima de 90% na testemunha, e isso explica a redução da incidência da ferrugem no segundo ano de condução do experimento. A alta incidência da ferrugem acentua o ciclo bienal do cafeeiro devido a redução da área fotossintética da planta e quanto maior a produção da lavoura maior a incidência da ferrugem (PATRICIO e OLIVEIRA, 2014, POZZA et al., 2021). Todos os tratamentos com triazóis foram eficientes com relação a produtividade, com produtividades relativas acima de 90%. Esse resultado pode ser atribuído

ao bom controle da incidência da ferrugem para todos os triazóis testados.

De acordo com os dados de produtividade, a mistura de triazol com estrobilurina (ciproconazol e azoxistrobina), ao ser considerada a produtividade média do biênio, apresentou incremento de produção de 13% quando comparado aos tratamentos dos triazóis isolados com ciproconazol e epoxiconazol e, 22% quando comparado ao tratamento do triazol isolado flutriafol. Isso demonstra a necessidade de, assim como os protetores, estarem associados a outro princípio ativo, a fim de alcançar resultados satisfatórios. Resultados de produtividade são importantes, pois, tem consequência direta nos aspectos econômicos da cultura, e até tornar inviável a atividade. Sabendo disso, os fungicidas com mistura de ativos são opção relevante para o manejo da doença, inclusive com os protetores multissítios. Fungicidas com misturas de diferentes princípios ativos garantem eficiência no controle da ferrugem com consequente maior produtividade, como observado nos experimentos deste trabalho e por Vilela (2020), além de reduzirem o risco de ocorrer seleção de indivíduos resistentes.

Apesar dos fungicidas ainda demonstrarem controle da ferrugem do cafeeiro, a presença de indivíduos com menor sensibilidade aos princípios ativos em uso, não pode ser descartada. Ao considerar os resultados dos testes de germinação, com a existência de alteração na sensibilidade dos isolados, fica a necessidade de se realizar mais testes, como os moleculares, para elucidar a hipótese da possível existência da resistência de *Hemileia vastatrix* à triazóis. A ideia da redução da sensibilidade aos triazóis por *Hemileia vastatrix* é reforçada com os trabalhos desenvolvidos por Schmitz et al. (2014); KLOSOWSKI et al., (2016) e SIMÕES et al. (2017), tem que padronizar as citações. Esses autores relataram a resistência de *Phakopsora pachyrhizi* à estrobilurinas, patógeno causador da ferrugem da soja. De acordo com GISI et al. (2000), a resistência a QoI está principalmente relacionada a mutações no gene do citocromo b (CYTB). O trabalho desenvolvido (evitar) por KLOSOWSKI et al. (2016) mostra a existência da mutação F129L associada à resistência a QoI para o fungo *Phakopsora pachyrhizi*.

Quanto as características populacionais, a alta variabilidade genética nas populações de *H. vastatrix* é considerado fator de interferência na resistência a triazóis e estrobilurinas (NUNES et al., 2009). Do ponto de vista genético-evolutivo, fatores como o tamanho da população, recombinação, migração e seleção direcional por uso inadequado de fungicidas podem aumentar o risco de surgir indivíduos resistentes (GISI et al., 2002). O patógeno tem alta taxa de multiplicação e grande quantidade de esporos é produzida durante o ciclo da doença, isso contribui para aumentar as chances de gerar indivíduos resistentes.

É essencial para os fungicidas considerados potencialmente vulneráveis, em termos de

pressão de seleção e resistência, o constante trabalho de monitoramento da sensibilidade dos patógenos alvos, haja visto a questão das resistências já citadas, ocorridas na cultura da soja, envolvendo os mesmos produtos avaliados nesse trabalho. Sendo assim, esse trabalho poderá também contribuir para ações e decisões técnicas mais assertivas no futuro.

## **6 CONCLUSÕES**

Ocorre variação na sensibilidade à triazóis entre os isolados, inclusive com diferença para o EC50, entre isolados e entre os princípios ativos avaliados.

A dose entre 32 e 128 mg/Kg pode ser usada como dose resposta para testes de sensibilidade de *Hemileia vastatrix* à triazóis e para os fungicidas multissítios, de 2mg/Kg para o mancozebe e 8mg/Kg para o hidróxido de cobre.

## REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of insecticide. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v.18, p.265-267, 1925.
- AGROFIT – Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>> ACESSO em: 21 de outubro 2021.
- ALVIM Jr., M, G., F. C. et al. Avaliação de fungicidas registrados no MAPA no controle da ferrugem da soja. **Tropical Plant Pathology**. 2019.
- AMORIM, L. et al. **Manual de Fitopatologia**. 4 ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. 704 p.
- AMORIM, L. et al. **Manual de Fitopatologia** Vol. 1 5ª Ed. 573p. 2018.
- AVELINO, J. et al. The coffee rust crises in Colombia and Central America (2008–2013): impacts, plausible causes and proposed solutions. **Food Security**. v. 7, n. 2, p. 303-321. 2015.
- AZEVEDO, L. A. S. **Fungicidas protetores: fundamentos para o uso racional**. São Paulo, 319 p., 2003
- BALARDIN, R. **Fungicidas sistêmicos: benzimidazóis, triazóis e estrobilurinas**. Disponível em: <<https://elevagro.com/materiais-didaticos/fungicidas-sistemicos-benzimidazois-triazois-e-estrobilurinas/>>. Data de acesso: 13 de novembro de 2019.
- BAMPI, D. et al. Sensibilidade de *Stenocarpella macrospora* a fungicidas sensibility of *Stenocarpella macrospora* to fungicide. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 4, p. 787-795, 2013.
- BANZATTO, David Arioaldo; KRONKA, S. do N. **Experimentação agrícola**. Jaboticabal: Funep, 1992.
- BARBOSA, D. H. S. G.; SOUZA, R. M.; VIEIRA, H. D. Field assessment of coffee (*Coffea arabica* L.) cultivars in *Meloidogyne exigua*-infested-free fields in Rio de Janeiro State, Brazil. **Crop. Protection**, Guildford, v. 29, n. 2, p. 175-177, 2010.
- BARBOSA JR, M. P. et al. Irrigação por gotejamento e manejo do fósforo no progresso da ferrugem do cafeeiro. **Coffee Science**, Lavras, v. 12, n. 2, p. 39-48, 2017.
- BARTELEGA, V. **Sensibilidade de *Hemileia vastatrix* a Estrobilurinas e metodologia para avaliar germinação de esporos em microplacas de “Elisa”**. Lavras-MG. 2022
- BLUM, M. M. C., REIS, E. M. *Phakopsora pachyrhizi in vitro* sensitivity to fungicides. *Summa Phytopathol.*, Botucatu, v. 39, n. 3, p. 215-216. 2013
- BRAGANÇA, C.A.D. **Sensibilidade de isolados de *Hemileia vastatrix* a azoxistrobina e tebuconazol**. Viçosa MG. 2010.

BEARD, C.; LOUGHMAN, R.; SPEIJERS, J. **Baseline sensitivity to three triazole fungicides in *Pyrenophora tritici-repentis***. Australasian Plant Pathology. 38 (2): 168 – 172. DOI:[10.1071/AP08094](https://doi.org/10.1071/AP08094). 2009.

BERKELEY, B. *Hemileia vastatrix* Berk. & Broome. **Gardeners' Chronicle**, London, England, v.6, p.1157, 1869.

BRENT, K; HOLLOMON, D.H. **Sensitivity baselines in fungicide resistance research and management**. FRAC Monograph V. 2. CropLife International, Brussels, 56 pp. 2007.

BRITO, G. G.; CAIXETA, E. T.; GALLINA, A. P.; ZAMBOLIM, E. M.; ZAMBOLIM, L.; DIOLA, V.; LOUREIRO, M. E. **Inheritance of coffee rust resistance and identification of AFLP markers linked to the resistance gene**. Euphytica, Wageningen, v. 173, n. 2, p. 255-264, May. 2010.

CAMARGO, A. P.; CARMARGO, M. B. P. Definição e esquematização das fases fenológicas do cafeeiro arábica nas condições tropicas do Brasil. **Bragantia**, Campinas, v. 60, n. 1, p. 65-68, mar. 2001.

CAMARGO, A. P. de. The impact of climatic variability and climate change on arabic coffee crop in Brazil. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 1, p. 239-247, Mar. 2010.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. Crop loss assessment and modeling. In.: CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley & Sons, p. 393-422, 1990.

CAÑAS-GUTIÉRREZ, G. P., ANGARITA-VELÁSQUEZ, M. J., RESTREPO-FLÓREZ, J. M., RODRÍGUEZ, P., MORENO, C. X., ARANGO, R. **Analysis of the CYP51 Gene and Encoded Protein in Propiconazole-Resistant Isolates of *Mycosphaerella fijiensis***. *Pest Manag. Sci.* 65, 892–899. doi: 10.1002/ps.1770, 2009.

CAPUCHO, A. S.; ZAMBOLIM, L.; LOPES, U. N.; MILAGRES, N. S. Chemical control of coffee leaf rust in *Coffea canephora* cv. *conilon*. **Australasian Plant Pathol.**, v. 42, n. 6, p. 667-673, 2013.

CARVALHO, A. Taxonomia de *Coffea arabica* L. – V: algumas recombinações genéticas, **Bragantia**, Campinas, v. 12, n. 4/6, p. 171-178, jun. 1952.

CARVALHO, A. Novas variedades mais produtivas. **Agricultura Hoje**. São Paulo, v. 6, n. 68, p. 32-34, mar. 1981.

CARVALHO, A. Evolução nos cultivares de café. **O Agrônomo**. Campinas, v 37, n. 1. P 7-11, jan/abr. 1985

CARVALHO, V.L.; CHALFOUN, S.M.; CUNHA, R.L. Manejo de doenças do cafeeiro. In: Reis, P.R.; Cunha, R.L. **Café arábica: do plantio a colheita**. Lavras: EPAMIG, 2010. v.1, p.689-756.



CARVALHO, C. R., GUILHERME, C. F., CARVALHO, M. A., BARRETO, W., EVANS, H. C., **Cryptosexuality and the Genetic Diversity Paradox in Coffee Rust, *Hemileia vastatrix***. November 15, 2011 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026387>. 2015.

CARVALHO, A. M. de; CARDOSO, D. A.; CARVALHO, G. R.; CARVALHO, V. L.; PEREIRA, A. A.; FERREIRA, A. D.; CARNEIRO, L. F. Comportamento de cultivares de cafeeiro sob a incidência das doenças da ferrugem e cercosporiose em dois ambientes de cultivo. **Coffee Science**, Lavras, v. 12, n. 1, p. 100-107, jan/mar. 2017.

CASTRO, F., R. **Reavaliação do ciclo de vida de *Hemileia vastatrix* no Brasil**. Viçosa-MG. 64 p. Universidade Federal de Viçosa – UFV. 2007

CHONG, A. P. A. **The Origin, Versatility and Distribution of Azole Fungicide Resistance in the Banana Black Sigatoka Pathogen *Pseudocercospora Fijiensis***. PhD Thesis (Wageningen: Wageningen University). doi: 10.18174/387237, 2016.

COLARES, M. R. N. **Modelagem de perdas de produtividade do cafeeiro relacionada à ferrugem**. Dissertação Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil, 2018. 87 p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de café: safra 2020: quarto levantamento**. Brasília, 2020a. Disponível em: [https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/34932\\_f1feea7816de1bd2f9528cac2d9a19b1](https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/34932_f1feea7816de1bd2f9528cac2d9a19b1). Acesso em: 24 jul. 2021.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de café: safra 2020: quarto levantamento**. Brasília, 2020b. 45 p.

COSTA, R.V. da; COTA, L.V.; SILVA, D.D. da; MEIRELLES, W.F.; LANZA, F.E. Viabilidade técnica e econômica da aplicação de estrobilurinas em milho. **Tropical Plant Pathology**, v.37, p.246-254, 2012. DOI: 10.1590/S1982-56762012000400003.

COUTINHO, H. D. M., SANTANA, W. J., SOUZA, L. B. S., BORGES, R. G., SOUZA, I. A. M., JR, I. D.S., **Características gerais da ação, do tratamento e da resistência fúngica ao fluconazole**. *Scientia Médica*, Porto Alegre: PUCRS, v. 15, n. 3, jul./set. 2005

CRUZ, F.J.; CHAVES, G.M. **Efeito da adubação N, P, K e micronutrientes (F.T.E) na incidência da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.)**. In: Congresso brasileiro de pragas e doenças do cafeeiro, Vitória, 1973. Resumos, Rio de Janeiro, IBC-GERCA, 60 p.1973.

CUNHA, R. L.; POZZA, E. A.; DIAS, W. P.; BARRETTI, P. B. Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para avaliar a severidade da Ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeeiro. In: **Simpósio Brasileiro de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2.**, 2001, Vitória. Resumos. Vitória: Embrapa Café. p. 77-78. 2001.

DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. D. C. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 1, p. 55-81, jan./Mar. 2006.

DEISING.; H., B. REIMMAN.; S. PASCHOLATI.; S.; F. Mechanisms and significance of fungicide resistance. **Brazilian journal of microbiology**. V. 39, p. 286 – 295, 2008.

DELIOPOULOS, T.; KETTLEWELL, P. S.; HARE, M. C. Fungal disease suppression by inorganic salts: a review. **Crop Protection**. Newport, v. 29, n. 10, p. 1059-1075, May 2010.

DE OLIVEIRA PIRES, MIRYAN SILVA; DE CARVALHO ALVES, MARCELO; Pozza, Edson Ampélio. **Multispectral radiometric characterization of coffee rust epidemic in different irrigation management systems**. International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation, v. 86, p. 102016, 2020.

DIAZ-TRUJILLO, C., CHONG, P., STERGIOPOULOS, I., CORDOVEZ, V., GUAMAN, M., De WIT, P., et al. **A New Mechanism for Reduced Sensitivity to Demethylationinhibitor Fungicides in the Fungal Banana BLS D Pathogen *Pseudocercospora Fijiensis***. *Mol. Plant Pathol.* 19, 1491–1503. doi: 10.1111/mpp.12637, 2008.

DORIGAN, A. F., CARVALHO, G., POLONI, N. M., NEGRISOLI, M. M., MACIEL, J. L. N., CERESINI, P. C. **Resistance to triazole fungicides in *Pyricularia* species is associated with invasive plants from wheat fields in Brazil**. <http://periodicos.uem.br/ojs/acta> Doi: 10.4025/actasciagron. v41i1.39332. Acta Scientiarum. Agronomy, v. 41, e39332, 2019.

EHR, R.J.; KEMMITT, G. **Periodic table of the fungicides**. Indianapolis: Dow Agrosiences. 2002

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION. **Fungicide resistance and use of terms**. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, v.18,4, p.569-571, 1988

FAZUOLI, L. C. et al. Cultivares de café arábica do IAC. **O Agrônomo**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 12-15, 2007.

FERREIRA, D.F. SISVAR: **A computer analysis system to fixed effects split plot type designs**. Revista brasileira de biometria, [S.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, dec. 2019.

FLORL, L.C. **Triazole Antifungal Agents in Invasive Fungal Infections**. *Drugs* 71, 2405–2419 <https://link.springer.com/article/10.2165%2F11596540-000000000-00000> , 2011.

FORCELINI, C.A. Fungicidas inibidores da síntese de esteróis. I. triazoles. **RAPP**, Passo Fundo, v.2, p.335-355, 1994.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO Statistical Pocketbook Coffee**. Roma: Editora, **FAO**, p. 198, 2015.

FRAC-BR (Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas). **Recommendations for fungicide mixtures designed to delay resistance evolution**. <http://www.frac.info>, 2010.

FRAC-BR (Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas). **Recomendações para a cultura do Café**. Disponível em: < <https://www.frac-br.org/cafe>>. Acesso em nov. de 2021.

FRAC-BR (Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas). **SDHI Guidelines—Cereals**.

Available: <http://www.frac.info/working-group/sdhi-fungicides/general-use-recommendations/cereals-and-soybeans>, 2015.

GARCIA, A. **Fungicidas I: utilização no controle químico de doenças e sua ação contra os fitopatógenos**. Porto Velho: EMBRAPA-CPAF Rondônia, 32p. dez de 1999.

GARCIA JÚNIOR, D. et al. Incidência e severidade da cercosporiose do cafeeiro em função do suprimento de potássio e cálcio em solução nutritiva. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 286-291, maio/jun. 2003.

GHINI, R. **Fungos Resistentes**. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariuna-SP. 28. ed. 2001.

GHINI, R.; HAMADA, E.; PEDRO JÚNIOR, M. J.; GONÇALVES, R. R. V. Incubation period of *Hemileia vastatrix* in coffee plants in Brazil simulated under climate change. **Summa Phytopathol.**, v. 37, n. 2, Apr. /June, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052011000200001>.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariuna-SP. 2. ed. 78 p. 2014.

GILIOLI, F.; POZZA, E. A. Capítulo III – Fungicidas Triazóis na agricultura tropical: Passado, presente e futuro. **Manejo de doenças de plantas: controle genético, químico e biológico, nas perspectivas acadêmica e empresarial**. UFRP – Universidade Federal Rural de Pernambuco. 1 ed. Recife-PE, p. 40 a 55. 168 p. 2023.

GISI, U. et al. Recent developments in elucidating modes of resistance to phenylamide, MI and strobilurin fungicides. **Crop protection** 19: 863-872. 2000.

GISI U.; SIEROTZKI H.; COOK A.; MCCAFFERY A. Mechanisms influencing the Evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. **Pest Management Science**, 58: 859- 867. 2002.

GRIFFIN, M. J., KING, J. E. Benzimidazole Resistance in *Pseudocercospora Herpotrichoides*: **Results of ADAS Random Surveys and Fungicide Trials in England and Wales 1982-1984**. *Bull. OEPP* 15, 485–494. doi: 10.1111/j.1365-2338.1985.tb00259.x, 1985.

GODOY, C. V., et al. Variação da sensibilidade de populações de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas inibidores da desmetilação no Brasil. **Summa Phytopathol.** 41 (3) Jul-Sep 2015. Londrina-PR. EMBRAPA SOJA. Maio 2015.

GODOY, C. V., et al. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2020/2021**: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Circular Técnica 174. P. 9. Londrina-PR. EMBRAPA SOJA. Agosto 2021.

GRASSO, V.; SIEROTZKI, H.; GARIBALDI A.; GISI, U. Characterization of the cytochrome b gene fragment of Puccinia species responsible for the binding site of Qo1 fungicides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.84, n.2, p.72-82, 2006.

GULART, C. A. **Sensibilidade in vitro e in vivo de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* (sacc & magn.) Briosi & cav., a fungicidas sistêmicos**. Universidade Federal

de Santa Maria, RS. 2009.

HOLLOMON, D.; W. Fungicide resistance: Facing the challenge. **Plant Protect.** V. 51, n. 4, p. 170-176, 2015.

ISHII, H., BRYSON, P. K., KAVAMORI, M., MYAMOTO, T., YAMAOKA, Y., SCHNABEL, G. **Cross-Resistance to the New Fungicide Mefentrifluconazole in DMI-Resistant Fungal Pathogens.** *Pestic. Biochem. Phys.* 171, 104737. doi: 10.1016/j.pestbp.2020.104737. 2021.

JORGENSEN, L. N., HEICK, T. M. **Azole Use in Agriculture, Horticulture, and Wood Preservation – Is It Indispensable?** Department of Agroecology, Aarhus University, Slagelse, Denmark. Review article <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2021.730297/full>. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.730297>. Set. 2021.

KARROUCHI, K., RADI, S., RAMLI, Y., TAOUFIK, J., MABKHOT, Y. N., AL-AIZARI, F. A., ANZAR, M. Synthesis and Pharmacological Activities of Pyrazole Derivatives: A Review. **Molecules** 2018, 23(1), 134; <https://doi.org/10.3390/molecules23010134>. Jan 2018.

KLEINKAUF, N., VERWEIJ, P. E., ARENDRUP, M. C., DONNELLY, P. J., ESTRELLA, M. C., FRAAIJE, B., MELCHERS, W. J. G., ADRIANSSENS, N., KEMA, G. H. J., ULLMANN, A., BOWYER, P., DENNING, D. W. **Risk assessment on the impact of environmental usage of triazoles on the development and spread of resistance to medical triazoles in *Aspergillus* species.** European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Technical Report. Stockholm: ECDC; doi 10.2900/76274 Feb. 2013.

KLOSOWSKI, A.C.; BRAHM, L.; STAMMLER, G. Competitive Fitness of *Phakopsora pachyrhizi* Isolates with Mutations in the CYP51 and CYTB Genes. **Phytopathology**. 106: 1278-1284. doi: 10.1094/PHYTO-01-16-0008-R. 2016.

KIMATI, H. Controle químico. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.1, 704p. 2011.

KUSHALAPPA, A.C.; ESKES, A.B. **Advances in coffee rust research.** Annual Review of Phytopathology, v.27, p.503-531, 1989.

LEADBEATER. **Fungicide Resistance – an overview.** ScienceDirect Topics. Encyclopedia of Agriculture and Food Systems. 2014.

LEAL, F. D. S. **Nanopartículas metálicas no controle da ferrugem do cafeeiro.** 2020. 72 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2021.

MALOY, OC Plant Disease Management: **Gestão de doenças de plantas - APS.** DOI: 10.1094 / PHI-I-2005-0202-01, Departamento de Fitopatologia, Washington State University, Pullman, WA. 2005

MALOY, OC Plant Disease Control: **Principles and Practice.** Wiley, Nova York. 1993

MARQUES, L. **Modo e mecanismo de ação dos fungicidas triazóis e triazolintiona.** Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – IJUÍ. Ijuí-RS. 2022.

MATIELLO, J.B.; SANTINATO, R.; GARCIA, A.W.R.; ALMEIDA, S.R.; FERNANDES, D.R. Cultura de Café no Brasil- Manual de recomendações. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento- SARC/PROCAFÉ-SPA/DECAF. **Fundação PROCAFÉ**, 2015, Cap. 5, p. 351-379.

MEIRA, C.A.A. **Processo de descoberta de conhecimento em bases de dados para a análise e o alerta de doenças de culturas agrícolas e sua aplicação na ferrugem do cafeeiro** 2008. 478p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Acesso em: 30 abr. 2013.  
» <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=vtls000443483&fd=y>

MESQUITA, C. et al. **Manual do café: distúrbios fisiológicos, pragas e doenças do cafeeiro** (Coffea arábica L.). Belo Horizonte: EMATER-MG, 62p. 2016.

MCCOOK, S.; VANDERMEER, J. The big rust and the red queen: long-term perspectives on coffee rust research. **Phytopathology**, Estados Unidos, v. 105, n. 9, p. 1164-1173, Sept. 2015.  
MCGRATH, M.T. 2004. **What are Fungicides.** *The Plant Health Instructor*. Trans. Piérri Spolti, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. DOI: 10.1094/PHI-I-2004-0825-01. 2012.

MENDES, A. N. G.; GUIMARÃES, R. J.; SOUZA, C. A. S. Classificação botânica, origem e distribuição geográfica do cafeeiro. In: GUIMARÃES, R. J.; MENDES, A. N. G.; SOUZA, C. A. S. (Ed). **Cafeicultura**. Lavras UFLA/FAEPE, 2002. P. 39-99.

MOREIRA, M. I. M. C. G., **Azóis: Farmacologia e interações medicamentosas.** Univ. Fernando Pessoa. Licenciatura em ciências farmacêuticas. Porto, p. 17, 2010.

MUELLER, D.S., WISE, K.A., DUFAULT, N.S., BRADLEY, C.A. and CHIVERS, M.I. 2013. **Fungicides for Field Crops.** APS Press, St Paul, MN.

MUNIZ, J. A., LIMA, P. R., FERREIRA, D. F., QUEIROZ, L. A. F., PEREIRA, J. M. **Tamanhos mínimos amostrais para detectar a presença de nematóides em viveiros de produção de muda de café.** Universidade federal de Lavras – UFLA. 2019.

NETTO, A.V.G.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E. **A química supramolecular de complexos pirazólicos.** Departamento de Química Geral e Inorgânica, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara - SP, Brasil. 2008.

NUNES, C.C.; MAFFIA, L.A.; MIZUBUTI, E.S.G.; BROMMONSCHENKEL, S.H.; SILVA, J.C. Genetic diversity of populations of *Hemileia vastatrix* from organic and conventional coffee plantations in Brazil. **Austral Plant Pathol** 38:445-452. 2009.

OIC – International Coffee Organization **Coffe Market Report September 2021.** <https://www.ico.org/documents/cy2020-21/cmr-0921-e.pdf>, 2021.

PATRÍCIO, F.R.A.; OLIVEIRA, E.G. Desafios do manejo no controle de doenças do café. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 12, p.51-54, 2013.

PEREIRA, A. A. et al. Cultivares: origens e suas características. In: REIS, P. R.; CUNHA, R. L. DA (ed). **Café arábica: do plantio à colheita**. Lavras: EPAMIG, 2010. V. 1., p.163-222.

PEREIRA, S. P. et al. **Crescimento, produtividade e bienalidade do cafeeiro em função do espaçamento de cultivo**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, DF, v. 46, n. 2, p. 152-160, fev. 2011.

PÉREZ, C.D.P.; POZZA, E.A.; POZZA, A.A.A.; de Freitas, A.S.; Silva, M.G.; da Silva Gomes Guimarães, D. **Impact of Nitrogen and Potassium on Coffee Rust**. Eur. J. Plant Pathol. 2019, 155, 219–229.

PÉREZ, C.D.P.; POZZA, E.A.; POZZA, A.A.A.; ELMER, W.H.; PEREIRA, A.B.; DA GUIMARÃES, D.S.G.; MONTEIRO, A.C.A.; DE REZENDE, M.L.V. **Boron, Zinc and Manganese Suppress Rust on Coffee Plants Grown in a Nutrient Solution**. Eur. J. Plant Pathol. 2020, 156, 727–738.

PEREZ, C. D. P., **Nanoparticles of essential and nonessential elements in the management of plant diseases**. 98 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

POISSON, S. D., **Recherches sur la probabilité des jugements en matière criminelle et en matière civile**. <http://books.google.com/books?id=vqnKMvTuXo4C&oe=UTF-8>, 1837.

POZZA, E. A. **Manejo integrado de doenças do cafeeiro**. Lavras: UFLA, 2004. 111 p. Apostila.

POZZA, E. A.; CARVALHO, V. L.; CHALFOUN, S. M. Sintomas de injúrias causadas por doenças em cafeeiro. In: GUIMARÃES, R. J.; MENDES, A. N. G.; BALIZA, D. P. (Ed.). **Semiologia do cafeeiro: sintomas de desordens nutricionais, fitossanitárias e fisiológicas**. Lavras: Editora UFLA, p. 69-101, 2010.

POZZA, E. A.; POZZA, A. A. A. Relação entre a nutrição e as doenças de plantas: implicações práticas. In: MACHADO, A. K. F. M. et al. (Ed.). **Avanços da otimização no uso de defensivos agrícolas no manejo fitossanitário**. São Carlos: Suprema Grafica e Editora, 2012. p. 259-282.

POZZA, E.A. **Diagnose e Controle de Doenças**, Cap. 13, p. 347-430. IN: CARVALHO, G.R.; FERREIRA, A.D.; ANDRADE, V.T.; BOTELHO, C.E.; CARVALHO, J.P. **Cafeicultura do Cerrado**. Ed. Epamig., Belo Horizonte, 563P. 2021.

POZZA, E. A. **Diagnose e controle de doenças**. In.: CARVALHO, G. R.; FERREIRA, A. D.; ANDRADE, V. T.; BOTELHO, C. E.; CARVALHO, J. P. F. (Ed.). **Cafeicultura do cerrado**. Belo Horizonte: EPAMIG, p. 349-429, 2021.

PINTO, A. C. S.; POZZA, E. A.; SOUZA, P. E.; POZZA, A. A. A.; TALAMINI, V.; BOLDINI, J. M.; SANTOS, F. S. Descrição da epidemia da ferrugem do cafeeiro com redes neuronais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 5, p. 517-524, set./out. 2002.

RAYNER, R. W. Rust disease of coffee. 2. Spread of the disease. **World Crops**, v. 12, p. 222-224, 1960

RAYNER, R. W. Germination and penetration studies on coffee rust (*Hemileia vastatrix* B. & Br.). **Annals of Applied Biology**, v. 49, p. 497–505, 1961

RIBEIRO, L. S. **Cultura in vitro de embriões e segmentos nodais do cafeeiro** (*Coffea arabica* L.). 2001. 73 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

RODRIGUES, M.A.T. Classificação de fungicidas de acordo com o mecanismo de ação proposto pelo FRAC **Tese (Mestrado em Agronomia)** – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 200.

RODRIGUES, M.A.T. Avaliação do efeito fisiológico do uso de fungicidas na cultura da soja. 200, 198f. **Tese (Doutorado em fitotecnia)** – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

RUSSELL, P. E. **Sensitivity baselines in fungicide resistance research and management.** FRAC Monograph. CropLife International, Brussels, 56 pp. 2003.

RUSSELL, P. E. **A Century of Fungicide Evolution.** *J. Agric. Sci.* 143, 11–25. doi: 10.1017/S0021859605004971, 2005

SANTOS, L. A.; Resistência de *Cercospora Coffeicola* a fungicidas. Tese (**Doutorado em Fitotecnia**) – Universidade federal de Lavras, Lavras, 2015.

SANTOS, P. S.; **Estudo da sistemicidade e tenacidade de epoxiconazol, piraclostrobina e fluxapiroxade em plantas de soja e videira.** Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Pág 83. Piracicaba-SP. 2016

SANTOS, L. A., POZZA, E. A.; SOUZA, P. E.; STIVANIN, O. H.; BOTELHO, D. M. S.; BARTELEGA, V.; **Sensibilidade de isolados de *Cercospora coffeicola* a azoxistrobin.** Universidade federal de Lavras, Lavras, 2022.

SHANER, G.; FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slowmildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology, Saint Paul**, v. 67, n. 8, p. 1051-1056, ago. 1977.

SILVA, M. C.; VÁRZEA, V.; GUERRA-GUIMARÃES, L.; AZINHEIRA, H. G.; FERNANDES, D.; PETITOP, A-S.; BERTRAND, B.; LASHERMES, P.; NICOLE, M. Coffee resistance to the main disease: leaf rust and coffee Berry disease. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v. 18, n. 1, p. 119-147, 2006.

SIMÕES, K.; HAWLIK A.; REHFUS A.; GAVA F.; STAMMLER G. First detection of a SDH variant with reduce SDHI sensivity in *Phakopsora pachyrhizi*. **J. Plant Dis. Prot.** doi: 10.1007/s41348-017-0117-5. 2017.

SOUZA, P. E.; DUTRA, M.R. **Fungicidas no controle e manejo de doenças de plantas.** ed. UFLA, 2003. 174p.

STROBEL, D., BRYSON, R., SEMAR, M., STAMMLER, G., KIENLE, M., SMITH, J. “Mefentrifluconazole (Revysol the First Isopropanol-Azole),” in **Modern Fungicides and Antifungal Compounds IX.** Eds. Deising, H. B., Fraaije, B., Mehl, A., Oerke, E. C., Sierotzki,



- H., Stammler, G. (Braunschweig: Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft), 259–264. 2020.
- TALHINHAS, P.; BATISTA, D.; DINIZ, I.; VIEIRA.; SILVA, D. N.; LOUREIRO, A.; TAVARES, S.; PEREIRA, A. P.; AZINHEIRA, H. G.; GUERRA-GUIMARÃES, L.; VÁRZEA, V.; SILVA, M. C. The coffee leaf rust pathogen *Hemileia vastatrix*: one and a half centuries around the tropics. **Molecular Plant Pathology**, v. 18, n. 8, p. 1039-1051, 2017.
- TOMLIN, C.D.S. The pesticide manual: a world compendium. Surrey, Uk: **British Crop Protection Council**, 12 ed., 2002.
- VALLIERI, C. et al. Deleterious Effect of the Q<sub>o</sub> Inhibitor Compound Resistance-Confering Mutation G143A in the Intron-Containing Cytochrome *b* Gene and Mechanisms for Bypassing. **Microbiology**. V. 77, n. 6, p- 2088 - 2093, 2011.
- VAN DEN BOSCH F.; et al. Evidence-based resistance management: a review of existing evidence. In: Ishii H, Hollomon DW, editors. **Fungicide resistance in plant pathogens**. Tokyo: Springer; 2015. p. 63–76.
- VAN DER VOSSSEN, H. A. M. 2005. State-of-the-art of developing durable resistance to biotrophic pathogens in Crop Plants, such as coffee leaf-rust. In: ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM, E. M. & VÁRZEA, V. M. P. **Durable Resistance to Coffee Leaf Rust**. DFP, UFV: Viçosa, Brasil. 1-29. 2005.
- VASCO, G. B. **Análise espaço temporal da ferrugem do cafeeiro e sua relação com o clima e a nutrição mineral com K e B**. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, 2016.
- VELASQUEZ, G. A. **Influência da interação genótipos por ambientes no melhoramento do cafeeiro**. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras. p. 65. 2018.
- VILELA, X. M. S. **Fungicidas sistêmicos para ferrugem do cafeeiro: controle e eficiência na mistura com cúpricos e fertilizantes foliares**. Universidade Federal de Lavras, UFLA, 2020.
- WELLMAN, F. L. The rust *Hemileia vastatrix* now firmly established on coffee in Brazil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 54, n. 7, p. 539-541, Sept. 1970.
- ZADOKS, J. C.; SCHEIN, R. D. **Epidemiology and plant disease management**. New York: Oxford University Press. 1979.
- ZAMBENEDETTI, E. B., ALVES, E., POZZA, E. A., ARAÚJO, D. V. Germination of urediniospores from *Phakopsora pachyrhizi* on different techniques of preservation. **Summa phytopathol.** 33. Mar 2007 <https://doi.org/10.1590/S0100-54052007000100013>.



## ANEXOS

**Tabela 1A** - Quantidades das soluções estoque e suspensão de esporos pipetadas nos poços das placas. UFLA, 2023.

Fungicida	Concentração	Estoque	Esporos
<b>Flutriafol</b>	0,125	1,2	298,8
	0,5	4,8	295,2
	2	2,4	297,6
	8	9,6	290,4
	32	38,4	261,6
	128	153,6	146,4
<b>Epoxiconazol</b>	0,125	1,2	298,8
	0,5	0,6	299,4
	2	2,4	297,6
	8	9,6	290,4
	32	38,4	261,6
	128	153,6	146,4
<b>Ciproconazol</b>	0,125	0,75	299,25
	0,5	3	297
	2	12	288
	8	48	252
	32	192	108
	128	192	108
<b>Mancozebe</b>	0,125	0,5	299,5
	0,5	2	298
	2	0,8	299,2
	8	3,2	296,8
	32	12,8	287,2
	128	51,2	248,8
<b>Hidróx. Cobre</b>	0,125	0,43	299,57
	0,5	1,71	298,29
	2	6,86	293,14
	8	27,43	272,57
	32	109,71	190,29
	128	73,14	226,86

Fungicida	Solução Estoque	
	1	2
Flutriafol	0,25 ml/l	2ml/l
Epoxiconazol	0,25ml/l	2ml/l
Ciproconazol	0,5ml/l	2ml/l
Mancozebe	0,1 g/l	1g/l
Hidróxido Cobre	0,25ml/l	1ml/l

**Tabela 2A** - Quadro da Análise de Variância para o fatorial triplo (*in vitro*):

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F calculado	p-value
Isolados	7	53083	7583,2	306,5	2,2x10 <sup>-16</sup> ***
Fungicidas	4	30862	7715,5	311,9	2,2x10 <sup>-16</sup> ***
Doses	6	144899	24149,9	976,2	2,2x10 <sup>-16</sup> ***
Isolados x fungicidas	28	18003	643,0	25,9	2,2x10 <sup>-16</sup> ***
Isolados x doses	42	23840	567,6	22,9	2,2x10 <sup>-16</sup> ***
Fungicidas x doses	24	18735	780,6	31,5	2,2x10 <sup>-16</sup> ***
Isolados x fungicidas x doses	168	18507	110,2	4,4	2,2x10 <sup>-16</sup> ***
Resíduo ou erro	560	13853	24,7		
Total	839	321782			

Signif. codes: 0 '\*\*\*'

**Tabela 3A** Resumo da análise de variância do experimento *in vitro* com isolado BSS. UFLA, 2022.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	4	2307.942857	576.985714	65.181	0.0000
DOSES	6	29518.628571	4919.771429	555.774	0.0000
FUNGICIDAS*DOSES	24	3167.657143	131.985714	14.910	0.0000
erro	68	601.942857	8.852101		
CV (%) =	11.05				

**Tabela 3B:** Resumo da análise de variância do experimento *in vitro* com isolado CRC. UFLA, 2022.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	4	10836.857143	2709.214286	153.347	0.0000
DOSES	6	20882.228571	3480.371429	196.996	0.0000
FUNGICIDAS*DOSES	24	7860.342857	327.514286	18.538	0.0000
erro	68	1201.371429	17.667227		
CV (%) =	15.17				

**Tabela 3C:** Resumo da análise de variância do experimento *in vitro* com isolado ELM. UFLA, 2022.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	4	51.523810	12.880952	3.986	0.0058
DOSES	6	4245.447619	707.574603	218.970	0.0000
FUNGICIDAS*DOSES	24	347.409524	14.475397	4.480	0.0000
erro	68	219.733333	3.231373		
CV (%) =	22.74				

**Tabela 3D:** Resumo da análise de variância do experimento *in vitro* com isolado FRN. UFLA, 2022.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	4	18927.771429	4731.942857	55.788	0.0000
DOSES	6	42593.828571	7098.971429	83.694	0.0000
FUNGICIDAS*DOSES	24	12253.028571	510.542857	6.019	0.0000
erro	68	5767.771429	84.820168		
CV (%) =	26.23				

**Tabela 3E:** Resumo da análise de variância do experimento *in vitro* com isolado LAV. UFLA, 2022.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	4	6038.228571	1509.557143	130.078	0.0000
DOSES	6	26286.000000	4381.000000	377.508	0.0000
FUNGICIDAS*DOSES	24	4538.571429	189.107143	16.295	0.0000
erro	68	789.142857	11.605042		
CV (%) =	23.02				

**Tabela 3F:** Resumo da análise de variância do experimento *in vitro* com isolado VGA1. UFLA, 2022.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	4	4803.942857	1200.985714	89.885	0.0000
DOSES	6	8389.028571	1398.171429	104.643	0.0000
FUNGICIDAS*DOSES	24	3903.257143	162.635714	12.172	0.0000
erro	68	908.571429	13.361345		
CV (%) =	21.3				

**Tabela 3G:** Resumo da análise de variância do experimento *in vitro* com isolado VGA2. UFLA, 2022.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	4	4765.200000	1191.300000	65.589	0.0000
DOSES	6	18359.828571	3059.971429	168.473	0.0000
FUNGICIDAS*DOSES	24	3231.600000	134.650000	7.413	0.0000
erro	68	1235.085714	18.163025		
CV (%) =	20.60				

**Tabela 3H:** Resumo da análise de variância do experimento *in vitro* com isolado SAA. UFLA, 2022.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	4	1133.657143	283.414286	26.003	0.0000
DOSES	6	18464.400000	3077.400000	282.352	0.0000
FUNGICIDAS*DOSES	24	1940.742857	80.864286	7.419	0.0000
erro	68	741.142857	10.899160		
CV (%) =	16.67				

**Tabela 3I:** Resumo da análise de variância do Ec50 do experimento *in vitro*. UFLA, 2022.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F calculado	p-value
Isolados	7	5039.9	719.99	2028.3	2,2x10 <sup>-16***</sup>
Fungicidas	4	6762.4	1690.61	4762.6	2,2x10 <sup>-16***</sup>
Isolados x fungicidas	28	10599.8	378.57	1066.5	2,2x10 <sup>-16***</sup>
Resíduo ou erro	80	28.4	0.35		
Total	119	22430.7			
CV (%) =	5,93%				

**Tabela 4A:** Resumo da análise de variância do experimento em mudas de cafeeiro com fungicidas e isolados. UFLA, 2022

Sun	Sq	Df	F value	Pr>Fc
Bloco	4363	3	2.67	0.0545717976377661299
ISOLADOS	22163	3	11.14	0.0000047616389246328
FUNGICIDAS	46135	5	34.92	0.0000000000000000125
ISOLADOS: FUNGICIDAS	33209	15	4.98	0.0000017715796297754

**Tabela 5A:** Resumo da análise de variância para a interação das variáveis fungicidas em relação ao ano de condução do experimento em campo. UFLA, 2022.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	76219225.682081	15243845.136416	68.193	0.0000
ANO	1	52323835.702136	52323835.702136	234.069	0.0000
TRATAMENTO*ANO	5	37673007.193414	7534601.438683	33.706	0.0000
erro	24	5364956.804467	223539.866853		
CV (%) =	26.91				

**Tabela 5B:** Resumo da análise de variância do experimento em campo no ano 2019/20. UFLA, 2022.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	110179148.122600	22035829.624520	52.184	0.0000
BLOCOS	2	974676.316133	487338.158067	1.154	0.3540
erro	10	4222726.906667	422272.690667		
CV (%) =	21.93				

**Tabela 5C:** Resumo da análise de variância do experimento em campo no ano 2020/21. UFLA, 2022.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	6	4184947.666040	697491.277673	64.033	0.0000
BLOCOS	2	52719.870217	26359.935108	2.420	0.1309
erro	12	130712.961967	10892.746831		
CV (%) =	21.28				