



**JÚLIO CÉSAR AZEVEDO PAULA**

**FUNGICIDAS PARA PATÓGENOS NECROTRÓFICOS DO  
CAFEIRO: AVALIAÇÃO DA DOSE RESPOSTA ‘IN VITRO’  
E DOS EFEITOS FISIOLÓGICOS EM MUDAS**

**LAVRAS-MG  
2023**

**JÚLIO CÉSAR AZEVEDO PAULA**

**FUNGICIDAS PARA PATÓGENOS NECROTRÓFICOS DO CAFEIEIRO:  
AVALIAÇÃO DA DOSE RESPOSTA 'IN VITRO' E DOS EFEITOS  
FISIOLÓGICOS EM MUDAS**

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

Professores: Dr. Edson Ampélio Pozza  
Orientador

Dr. Paulo Estevão de Souza  
Coorientador

**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).

Azevedo Paula, Júlio César.

Fungicidas para patógenos necrotróficos do cafeeiro: Avaliação  
da dose resposta 'in vitro' e dos efeitos fisiológicos em mudas /  
Júlio César Azevedo Paula. - 2023.

105 p. : il.

Orientador(a): Edson Ampélio Pozza.

Coorientador(a): Paulo Estevão de Souza.

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

Bibliografia.

1. café. 2. doenças causadas por patógenos necrotróficos. 3.  
fungicidas. I. Pozza, Edson Ampélio. II. de Souza, Paulo Estevão. III.  
Título.

**JÚLIO CÉSAR AZEVEDO PAULA**

**FUNGICIDAS PARA PATÓGENOS NECROTRÓFICOS DO CAFEIEIRO:  
AVALIAÇÃO DA DOSE RESPOSTA 'IN VITRO' E DOS EFEITOS  
FISIOLÓGICOS EM MUDAS**

**FUNGICIDES FOR COFFEE PLANT NECROTROPHIC PATHOGENS:  
EVALUATION OF THE 'IN VITRO' DOSE-RESPONSE AND  
PHYSIOLOGICAL EFFECTS ON SEEDLINGS**

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 28 de fevereiro de 2023.

Dr. Leandro Alvarenga Santos, UEFS.

Dr. Luiz Henrique M. Fernandes, Syngenta.

Dr. Edson Ampélio Pozza, UFLA.

Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza  
Orientador

Prof. Dr. Paulo Estevão de Souza  
Coorientador

**LAVRAS-MG  
2023**

*Aos meus pais, Berenice Azevedo de Paula e Pedro Augusto de Paula;  
ao meu filho Henrique da Mata Azevedo Paula;  
à minha esposa Érika Ribeiro Vieira da Mata;  
ao meu irmão, Paulo Victor Augusto Azevedo de Paula.*

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me guiar e dar forças durante essa jornada.

À minha mãe Berenice, ao meu pai Pedro, ao meu irmão Paulo e a minha esposa Érika por todo carinho, incentivo e compreensão que foram essenciais para eu conseguir chegar até aqui.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade concedida para realizar o curso de Mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) por conceder recursos financeiros para executar os projetos de pesquisa e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudo.

A Syngenta por contribuir na realização da pesquisa.

Aos professores Dr. Paulo Estevão de Souza e Dr. Edson Ampélio Pozza, por toda orientação e confiança durante a realização deste trabalho.

Ao técnico do laboratório de Epidemiologia Silvio Calazans, por contribuírem etapas importantes do trabalho.

À Pós-doutoranda Dr<sup>a</sup> Deila Botelho, por todo ensinamento e colaboração.

À secretária do DFP Ariane Alvarenga por todo apoio e acolhida durante o curso.

A todos os amigos do Laboratório de Epidemiologia de Doenças de Plantas, em especial à Viviane, por sua amizade e companheirismo.

Aos colegas dos Laboratórios de Fisiologia Vegetal por me auxiliarem na execução do trabalho.

Aos parceiros que se dispuseram em ajudar na coleta de materiais para realizar essa pesquisa.

Aos demais amigos e pesquisadores do DFP, colegas de departamento que me auxiliaram e compartilharam seus conhecimentos, sendo fundamentais para realização deste trabalho.

Aos professores e funcionários do Departamento de Fitopatologia.

**MUITO OBRIGADO!**

## RESUMO

O objetivo do presente estudo é determinar, 'in vitro', a dose-resposta de fungicidas inibidores da demetilação (DMI), da quinona oxidase (QoI) e da succinato desidrogenase na inibição de crescimento micelial dos fungos *Cercospora coffeicola*, *Phoma tarda* e *Colletotrichum gloeosporioides* e avaliar, em casa de vegetação, o incremento fisiológico das plantas do cafeeiro mediante a aplicação dos fungicidas. Foram avaliados oito princípios ativos do grupo das Estrobilurinas, Triazóis, Carboxamidas e Anilida nas concentrações equivalentes a 5, 25, 50 e 100 % da dose de campo, na inibição micelial dos fungos em estudo. A avaliação foi realizada mensurando-se o diâmetro das colônias de forma perpendicular, até o fungo atingir a borda da placa. Foi calculado o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) para obter a dose resposta. Os efeitos fisiológicos dos fungicidas usados para controlar patógenos necrotróficos do cafeeiro em mudas foi implantado em casa de vegetação. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, compostos por sete tratamentos, a testemunha, Difenconazol + Pydiflumetofen, Azoxistrobina + Difenconazol, Boscalida, Trifloxistrobina + Tebuconazol, Azoxistrobina + Tebuconazol e Piraclostrobina + Fluxapiraxade e cinco repetições. Foram realizadas as avaliações de altura, diâmetro, área foliar, teor de clorofila, peso seco, fenóis totais, teores de lignina e camada de cera das plantas. Para os patógenos necrotróficos do cafeeiro (*C. gloeosporioides*, *P. tarda* e *C. coffeicola*) a dose resposta indicada para estudos do crescimento micelial e IVCM é de 5% da dose campo, sendo Azoxistrobina 11,3 ppm + Tebuconazol 18,8 ppm, Tebuconazol 20 ppm + Trifloxistrobina 10 ppm, Difenconazol 6,3 ppm + Pydiflumetofen 3,8 ppm, Azoxistrobina 10 ppm + Difenconazol 6,3 ppm, Boscalida 9,4 ppm e Piraclostrobina 25 ppm + Fluxapiraxade 12,5 ppm. Para *C. gloeosporioides* Difenconazol + Pydiflumetofen, Azoxistrobina + Difenconazol, Tebuconazol + Trifloxistrobina e Azoxistrobina + Tebuconazol obtiveram valores de IC<sub>50</sub> abaixo de 0,1 ppm, para a IC<sub>90</sub>, os valores mais baixos foram verificados para Azoxistrobina + Tebuconazol e Tebuconazol + Trifloxistrobina. Para *P. tarda*, Difenconazol + Pydiflumetofen, Azoxistrobina + Difenconazol, Boscalida e Piraclostrobina + Fluxapiraxade apresentaram doses de IC<sub>50</sub> inferiores a 1 ppm de fungicida e para IC<sub>90</sub>, Difenconazol + Pydiflumetofen, Azoxistrobina + Difenconazol e Piraclostrobina + Fluxapiraxade apresentaram doses inferiores a 1 ppm. Para *C. coffeicola* Difenconazol + Pydiflumetofen, Azoxistrobina + Difenconazol, Tebuconazol + Trifloxistrobina e Azoxistrobina + Tebuconazol, apresentaram IC<sub>50</sub> inferior a 1 ppm e para o IC<sub>90</sub>, Azoxistrobina + Difenconazol e Tebuconazol + Trifloxistrobina apresentaram dose resposta inferior a 1 ppm. Não foi observada diferença da altura, diâmetro, parte aérea e teor de clorofila nas mudas de cafeeiro. O menor peso da parte aérea das mudas secas foi encontrado no tratamento Tebuconazol + Trifloxistrobina. Aos trinta dias decorridos da pulverização, os tratamentos Azoxistrobina + Tebuconazol, Boscalida e Difenconazol + Pydiflumetofen apresentaram maiores valores de fenóis totais. O tratamento Difenconazol + Pydiflumetofen aumentou a quantidade de lignina. Em todos os tratamentos com fungicidas foi observada presença de camada de cera. Não foram observados sintomas de fitotoxidez.

**Palavras-chave:** Cafeeiro. Dose resposta. 'in vitro'. Fungicidas. *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phoma tarda*. *Cercospora coffeicola*. Incremento fisiológico.

## ABSTRACT

The objective of the present study is to determine, 'in vitro', the dose-response of fungicides that inhibit demethylation (DMI), quinone oxidase (QoI) and succinate dehydrogenase in inhibiting the mycelial growth of the fungi *Cercospora coffeicola*, *Phoma tarda* and *Colletotrichum gloeosporioides* and evaluate, in a greenhouse, the physiological increase of coffee plants through the application of fungicides. Eight active principles from the group of Strobilurins, Triazoles, Carboxamides and Anilide were evaluated at concentrations equivalent to 5, 25, 50 and 100% of the field dose, in the mycelial inhibition of the fungi under study. The evaluation was carried out by measuring the diameter of the colonies perpendicularly, until the fungus reached the edge of the plate. The mycelial growth velocity index (MGVI) was calculated to obtain the dose response. The physiological effects of fungicides used to control coffee necrotrophic pathogens on seedlings was implanted in a greenhouse. The experimental design was in randomized blocks, consisting of seven treatments, the control, Difenoconazole + Pydiflumetofen, Azoxystrobin + Difenoconazole, Boscalid, Trifloxystrobin + Tebuconazole, Azoxystrobin + Tebuconazole and Pyraclostrobin + Fluxapyroxad and five replications. Height, diameter, leaf area, chlorophyll content, dry weight, total phenols, lignin content and wax layer of the plants were evaluated. For coffee necrotrophic pathogens (*C. gloeosporioides*, *P. tarda* and *C. coffeicola*) the response dose indicated for studies of mycelial growth and MGVI is 5% of the field dose, with Azoxystrobin 11.3 ppm + Tebuconazole 18.8 ppm, Tebuconazole 20 ppm + Trifloxystrobin 10 ppm, Difenoconazole 6.3 ppm + Pydiflumetofen 3.8 ppm, Azoxystrobin 10 ppm + Difenoconazole 6.3 ppm, Boscalid 9.4 ppm and Pyraclostrobin 25 ppm + Fluxapyroxad 12.5 ppm. For *C. gloeosporioides* Difenoconazole + Pydiflumetofen, Azoxystrobin + Difenoconazole, Tebuconazole + Trifloxystrobin and Azoxystrobin + Tebuconazole obtained IC<sub>50</sub> values below 0.1 ppm, for IC<sub>90</sub>, the lowest values were verified for Azoxystrobin + Tebuconazole and Tebuconazole + Trifloxystrobin. For *P. tarda*, Difenoconazole + Pydiflumetofen, Azoxystrobin + Difenoconazole, Boscalid and Pyraclostrobin + Fluxapyroxad showed IC<sub>50</sub> doses lower than 1 ppm of fungicide and for IC<sub>90</sub>, Difenoconazole + Pydiflumetofen, Azoxystrobin + Difenoconazole and Pyraclostrobin + Fluxapyroxad showed doses lower than 1 ppm. For *C. coffeicola* Difenoconazole + Pydiflumetofen, Azoxystrobin + Difenoconazole, Tebuconazole + Trifloxystrobin and Azoxystrobin + Tebuconazole, showed IC<sub>50</sub> lower than 1 ppm and for IC<sub>90</sub>, Azoxystrobin + Difenoconazole and Tebuconazole + Trifloxystrobin showed dose response lower than 1 ppm. There was no difference in height, diameter, aerial part and chlorophyll content in coffee seedlings. The smallest aerial part weight of dry seedlings was found in the Tebuconazole + Trifloxystrobin treatment. Thirty days after spraying, the treatments Azoxystrobin + Tebuconazole, Boscalida and Difenoconazole + Pydiflumetofen showed higher values of total phenols. The Difenoconazole + Pydiflumetofen treatment increased the amount of lignin. In all treatments with fungicides, a wax layer was observed. No symptoms of phytotoxicity were observed.

**Keywords:** Coffee tree. Dose response. 'in vitro'. Fungicides. *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phoma* sp. *Cercospora coffeicola*. Physiological increment.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	10
2 OBJETIVOS .....	13
3 REFERENCIAL TEÓRICO .....	14
3.1 O Cafeeiro ( <i>Coffea arabica</i> ) e perdas causadas por doenças .....	14
3.2 Controle das doenças do cafeeiro .....	14
3.3 Grupo químico dos Triazóis, das Estrobilurinas e das Carboxamidas.....	15
3.3.1 Triazóis .....	15
3.3.2 Estrobilurinas .....	18
3.3.3 Carboxamidas .....	20
3.4 Estudos ‘in vitro’ de fungicidas no controle de fitopatógenos .....	23
3.4.1 Curvas de dose resposta.....	26
3.5 Efeitos fisiológicos dos fungicidas no cafeeiro .....	29
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
4.1 Avaliação da dose resposta ‘in vitro’ de patógenos necrotróficos do cafeeiro à fungicidas .....	32
4.1.1 Avaliação do índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Cercospora coffeicola</i> , e <i>Phoma tarda</i> ‘in vitro’, submetidos a doses de diferentes fungicidas .....	32
4.1.2 Avaliação da Dose Resposta para os IC <sub>50</sub> e IC <sub>90</sub> .....	36
4.1.4 Análise estatística – ‘in vitro’ .....	37
4.2 Efeitos morfológicos e fisiológicos dos fungicidas usados para controle de patógenos necrotróficos do cafeeiro ( <i>Coffea arabica</i> ) em mudas.....	37
4.2.1 Local de implantação e delineamento experimental .....	38
4.2.2 Altura, crescimento relativo, diâmetro, área foliar, SPAD, peso das plantas e órgãos secos, fenóis totais, teores de lignina e camada de cera .....	39
4.2.3 Análises estatísticas – casa de vegetação .....	41
5 RESULTADOS .....	42
5.1 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .....	42
5.1.1 Avaliação do Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) .....	42
5.1.2 Avaliação da Dose Resposta para os IC <sub>50</sub> e IC <sub>90</sub> .....	45
5.2 <i>Phoma tarda</i> .....	47
5.2.1 Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de <i>Phoma tarda</i> .....	47
5.3 <i>Cercospora coffeicola</i> .....	50
5.3.1 Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de <i>Cercospora coffeicola</i> .....	50
5.3.2 Avaliação da Dose Resposta para os IC <sub>50</sub> e IC <sub>90</sub> .....	52
5.4 Efeitos morfológicos e fisiológicos de fungicidas em mudas de cafeeiro ( <i>Coffea arabica</i> ).....	53
5.4.1 Altura.....	53
5.4.2 Diâmetro .....	57
5.4.3 Área foliar .....	59
5.4.4 Teor de clorofila das plantas .....	61

5.4.5 Peso da parte aérea das mudas secas .....	63
5.4.6 Fenóis totais .....	63
5.4.7 Teores de lignina .....	66
5.4.8 Camada de cera .....	67
5.4.9 Fitotoxidez .....	68
6. DISCUSSÃO .....	69
REFERÊNCIAS .....	84
ANEXOS.....	99

## 1 INTRODUÇÃO

O café está entre as mais importantes ‘commodities’ produzidas no país. Sendo o Brasil o maior produtor e exportador mundial. A área destinada à cafeicultura no país é de mais de 2,2 milhões de hectares, com produção média nos últimos 5 anos, somados conilon e arábica, de aproximadamente 50 milhões de sacas beneficiadas anuais (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2022).

Apesar de importantes eventos climáticos afetarem a produção das últimas safras, como a geada, a ocorrência de ciclos de baixa temperatura, déficit hídrico na florada e ainda excesso de pluviosidade, de novembro a janeiro nas principais regiões produtoras do país, a ocorrência de doenças ainda é responsável por perdas nesse setor, desde a fase de viveiro até a de produção. Isso porque mais de 90% das lavouras cafeeiras no Brasil, são plantadas com cultivares suscetíveis às principais doenças dessa cultura (SANTOS, 2015; POZZA, 2021). Entre elas, destacam-se as causadas por patógenos necrotróficos, tais como a cercosporiose (*Cercospora coffeicola* Berkeley & Cooke), a mancha de phoma (*Phoma tarda* (Stewart) Boerema & Bollen) e a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz. Sacc)). Essas doenças ocasionam o aparecimento de manchas e podridões, em folhas, ramos e grãos do cafeeiro (POZZA et al., 2010).

Para o manejo dessas doenças, o ideal é o emprego de cultivares resistentes, as quais, todavia, ainda não estão disponíveis, em grande escala, ao produtor. Além do mais, como cultura perene, a renovação das lavouras suscetíveis é feita de forma parcial devido à mão de obra e ao alto custo da sua implantação. No manejo integrado, ainda são empregadas técnicas de poda, o equilíbrio nutricional, com disponibilidade de água em conjunto com a fertilidade do solo para reduzir a intensidade da doença. Apesar de todas essas técnicas empregadas, os cultivares são suscetíveis e em lavouras de alta produtividade torna-se necessário o uso racional de agroquímicos. Os principais fungicidas utilizados são os sistêmicos e os mesostêmicos, do grupo dos Triazóis, das Carboxamidas e das Estrobilurinas, em mistura ou aplicados de forma alternada com os multissítios. Geralmente, são pulverizados entre os meses de agosto a março, com início na florada até o término do período chuvoso (POZZA, 2021).

A associação desses fungicidas tem proporcionado melhor controle de fitopatógenos com maior período residual, vigor da planta e incremento na produtividade do cafeeiro (HERZOG et al., 2018; VILELA, 2020). No entanto,

precisam ser avaliados para comprovar sua eficiência, tendo em vista que a aplicação de menores doses desses químicos, podem apresentar baixas toxicidades e ser ineficiente no controle dos patógenos, levando-o a adquirir resistência ao fungicida (CHAVES NETO et al., 2020).

A oportunidade de testar sua eficiência, ou fazer a primeira triagem, é em laboratório, para tornar mais rápido o processo de seleção das melhores moléculas e ainda tornar o processo sustentável, evitando pulverizações e avaliação somente em experimentos de campo. No laboratório é necessário estudar qual a dose resposta ou aquela capaz de proporcionar efeito comparativo sem inibir completamente o crescimento ou germinação do patógeno. Dessa forma, torna-se essencial estudar a concentração mínima do ingrediente ativo para inibir 50 e 90 % do crescimento micelial ou da germinação do patógeno, o  $IC_{50}$  e o  $IC_{90}$ , respectivamente.

Sendo assim, testes 'in vitro' são essenciais para estudar doses e verificar a toxicidade do fungicida ao patógeno. Essa característica é propriedade inerente a determinada substância química, considerada fungicida quando atua em baixas concentrações, reduzindo o crescimento micelial do agente causal ou sua germinação 'in vitro' (REIS et al., 2010; CHAVES NETO et al., 2020).

Alguns trabalhos já foram descritos utilizando fungicidas registrados para os mais diversos patógenos com resultados promissores (FERREIRA et al., 2009; CHAVES NETO et al., 2020; TAVARES; SOUZA, 2005). Porém, é necessário determinar qual a dose resposta para esses testes 'in vitro', geralmente menor quando comparada à de campo. Essa característica, é devido as condições 'in vitro', na qual o micélio ou os esporos do fungo estudado estão em contato direto, por todos os lados com o fungicida, sem a necessidade de transpor barreiras para encontrá-lo. Já em campo o produto é pulverizado sobre as plantas na área foliar, sendo muitas vezes perdido entre o equipamento de pulverização e o alvo, por deriva, por evaporação, além de muitas vezes, não proporcionar boa cobertura foliar. Ainda existe a interação do fungicida com outros produtos na mistura de tanque, a qualidade da água a ser utilizada na pulverização e a interação deste com os exsudatos foliares e sua absorção pela cutícula e seu comportamento dentro dos parênquimas paliádico e lacunoso, até encontrar o patógeno. Além disso, há também a falta de controle dos fatores ambientais, como temperatura, umidade relativa do ar e molhamento foliar (BARTELEGA, 2022).

Alguns estudos já determinaram as doses 'in vitro' e 'in vivo' de fungicidas para plantas e verificaram ser a dose 'in vitro' inferior à 'in vivo'. foi realizado estudo com

soja, no qual se determinou o IC<sub>50</sub> e IC<sub>95</sub> do fungicida clorotalonil ‘in vitro’ (IC<sub>50</sub> = 0,18 ppm i.a. e IC<sub>95</sub> = 1,54 ppm i.a.) e em ‘in vivo’ (IC<sub>50</sub> = 0,24 ppm i.a. e IC<sub>95</sub> = 6,81 ppm i.a.) de *Phakopsora pachyrhizi*. Esses resultados confirmam o efeito fungitóxico de menores doses ‘in vitro’ no laboratório em relação ao campo (KAJIHARA et al., 2021).

Além de avaliar a eficiência de novas moléculas, formulações, misturas e outras características físico-químicas, outro fator a ser avaliado diz respeito às questões fisiológicas das plantas. Os fungicidas além de serem utilizados para controlar patógenos, podem promover aumento da produtividade da cultura (KÖEHLE et al., 1994), com folhas mais verdes, mais clorofila e maior crescimento (altura e diâmetro) e área foliar (BASF, 2005). Todavia, a aplicação de fungicidas pode diminuir a espessura da camada de cera e causar alteração da morfologia, provocando ferimentos, podendo tornar a planta mais suscetível a doenças, pragas e estresse hídrico (LICHSTON; GODOY, 2006).

Após ter estudado as doses “in vitro” e sugerir o quanto será utilizado em pulverizações nas culturas comerciais, os estudos podem ser realizados em casa de vegetação para avaliar efeitos tanto no patógeno quanto no hospedeiro, por exemplo sua fisiologia.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar ‘in vitro’ a dose-resposta de fungicidas para reduzir o crescimento micelial de patógenos necrotróficos *Cercospora coffeicola*, *Phoma tarda* e *Colletotrichum gloeosporioides* e também avaliar, em mudas no viveiro, os efeitos fisiológicos desses tratamentos.

## 2 OBJETIVOS

Determinar, 'in vitro', a dose-resposta de fungicidas inibidores da demetilação (DMI), da quinona oxidase (QoI) e da succinato dehydrogenase (SDHI), na inibição de crescimento micelial dos fungos *Cercospora coffeicola*, *Phoma tarda* e *Colletotrichum gloeosporioides*.

Avaliar, em mudas de cafeeiro, na casa de vegetação, as mudanças morfológicas e fisiológicas e os sintomas de fitotoxidez devido à aplicação dos fungicidas citados acima.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 O Cafeeiro (*Coffea arabica*) e perdas causadas por doenças

A cultura do cafeeiro, originária da região sudeste da Etiópia e norte do Quênia, chegou ao país em 1727, com plantas da espécie *Coffea arabica*, sendo posteriormente disseminada para as diversas regiões do território brasileiro (MENDES et al., 2008). Atualmente o Brasil destaca-se como o maior produtor e exportador de café do mundo, seguido por Vietnã, Colômbia e Indonésia, respectivamente (MERGULHÃO, 2017).

Porém, o cafeeiro está sujeito a várias doenças capazes de reduzir a produtividade e a qualidade da bebida, além de aumentar o custo de produção (DE LIMA et al., 2012; POZZA et al., 2010, POZZA, 2021). Entre os principais fitopatógenos responsáveis por estes danos, estão os fungos necrotróficos causadores de manchas e podridões nos frutos como *Cercospora coffeicola*, o gênero *Phoma* (seca dos ponteiros e mancha de Phoma) (SALGADO; PFENNING, 2000) e *Colletotrichum* (antracnose, seca-de-ramos e mancha-manteigosa) (OROZCO, 2003).

#### 3.2 Controle das doenças causadas por patógenos necrotróficos no cafeeiro

O manejo integrado de doenças é baseado em três tipos de controle, o genético, realizado com a utilização de cultivares resistentes, o cultural, visa principalmente o equilíbrio entre a quantidade de água e os nutrientes fornecidos e o químico, com o emprego de fungicidas protetores e sistêmicos. Quando manipulados corretamente, reduzem tanto o inóculo inicial ( $y_0$ ) quanto a taxa de progresso ( $r$ ) de doenças no campo.

Devido a maioria da área plantada ser cultivada com variedades suscetíveis, emprega-se com frequência os fungicidas. Geralmente a mistura dos grupos sistêmicos e mesostêmicos dos Triazóis e das Estrobilurinas, respectivamente, aplicados entre os meses de agosto e março, alternados ou misturados com protetores ou multissítios (POZZA et al., 2021).

Essa associação tem proporcionado melhor controle de fitopatógenos, com maior período residual, vigor da planta e incremento na produtividade do cafeeiro (CERESINI et al., 2018; HERZOG et al., 2018; HOLLOMON, 2015; VILELA, 2020). Seus componentes são absorvidos de forma gradual e constante nas folhas, apresentando mobilidade mesostêmica ou translaminar (VENÂNCIO et al., 1999). Porém, seu uso contínuo tem resultado na perda de sua efetividade (BARBOSA JUNIOR, 2020; VALLIERI et al., 2011).

Com a impossibilidade da criação de novos produtos ou mais precisamente da descoberta de novas moléculas, as grandes empresas do ramo de defensivos agrícolas têm se mobilizado para melhorar as formulações já existentes, com o intuito de desenvolver produtos com misturas de fungicidas, como estratégia para evitar a seleção de populações resistentes, de forma a aumentar o tempo e a durabilidade de seus princípios ativos (FRAC, 2010; VAN DEN BOSCH et al. 2015).

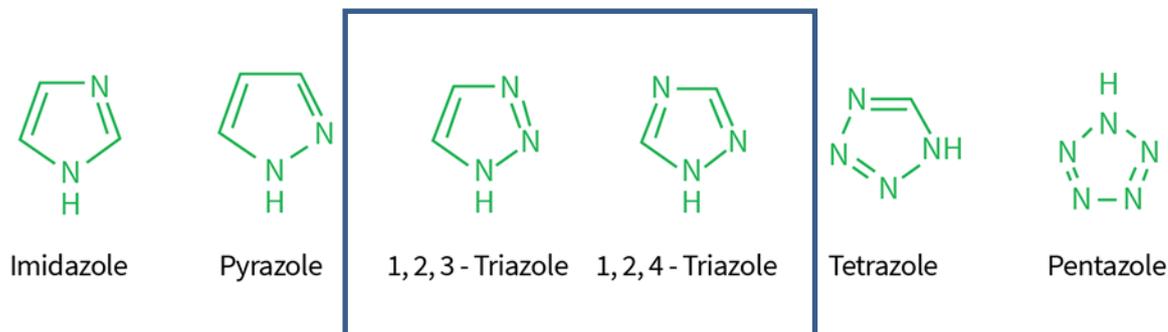
Em relação ao cafeeiro, entre os principais agentes etiológicos encontrados no campo estão a *Cercospora coffeicola*, a *Phoma tarda* e o *Colletotrichum gloeosporioides*. Para controlar esses patógenos destaca-se a utilização de fungicidas dos grupos químicos triazóis, estrobilurinas e carboxamidas, além dos de contato ou protetores.

### **3.3 Grupo químico dos Triazóis, das Estrobilurinas e das Carboxamidas**

#### **3.3.1 Triazóis**

Os triazóis são fungicidas orgânicos de ação sistêmica, ou seja, são móveis na planta, absorvidos no local de aplicação e então podem ser translocados ou movimentar-se através dos seus tecidos e vasos. A absorção se dá pelas raízes ou pela cutícula da folha da planta. Dentro da folha ou dos ramos o movimento é acropetal. Ou seja, da base em direção ao ápice, através ou dentro das células dos parênquimas (de forma também mesostêmica), até atingir os vasos do xilema. Dentro desses vasos ocorre seu deslocamento de forma sistêmica e acropetal. Apresentam alta fungitoxicidade, rápida penetração e translocação nos tecidos vegetais. Possui ação protetora e/ou curativa e/ou erradicante, com elevado efeito residual. Como protetores, atuam impedindo a germinação de esporos e a formação do tubo germinativo e do apressório. Já na ação curativa, o desenvolvimento do haustório e/ou o crescimento micelial, no interior dos tecidos do hospedeiro, são inibidos pela presença do fungicida e como erradicantes, matam os esporos produzidos nesse ciclo do patógeno (KRAMER, 1986).

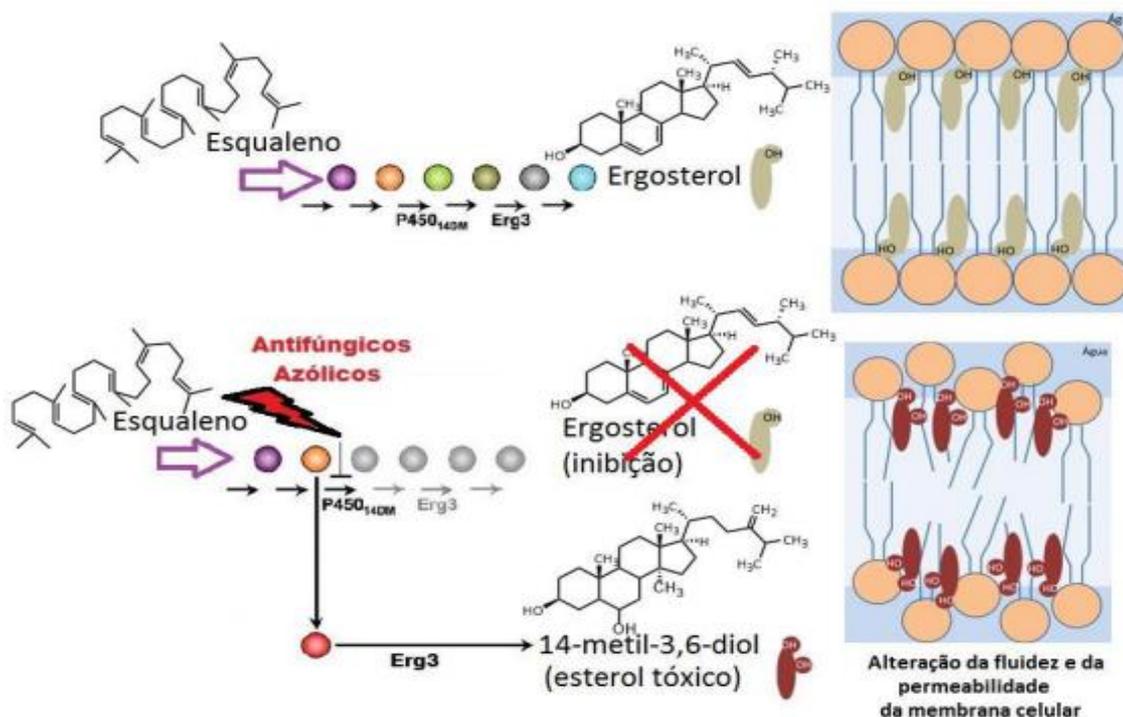
Sua denominação é devido a presença de três (tri) azóis ou átomos de N no anel heterocíclico de carbono (Figura 1). O azol é representado por uma cadeia cíclica de cinco átomos, entre os quais ao menos um é nitrogênio (SCHOFIELD; GRIMMETT; KEENE, 1976).

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

Fonte: Schofield, Grimmett e Keene (1976)

As células fúngicas, quando entram em contato com fungicidas triazóis, acumulam esteróis, como o 4,4-dimetil e o 4 $\alpha$ -metil, ambos com radical 14 $\alpha$ -metil, promovendo a inativação do processo de demetilação do lanosterol até compostos intermediários, precursores do ergosterol. Isso ocorre devido 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, sendo o primeiro passo no processo de demetilação (BARBOSA JUNIOR, 2018; FORCELINI, 1994; TOMLIN, 2002) (Figura 2).

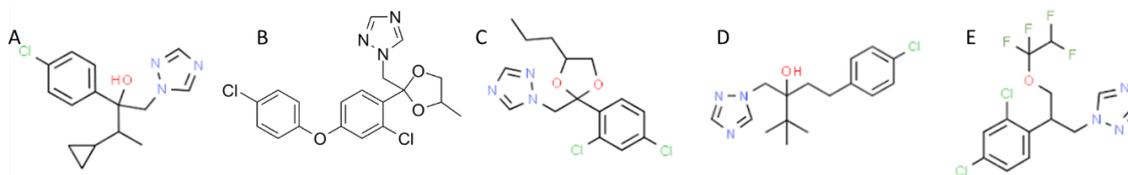
**Figura 2** - Representação esquemática do mecanismo de ação dos antifúngicos azólicos sobre a síntese de ergosterol e subsequente alteração da composição e da organização da membrana celular



Fonte: Adaptado de Shapiro (2011) e Abe (2009).

A ausência do ergosterol promove a desorganização da estrutura celular, rompimento da membrana e extravasamento de solutos iônicos (KRAMER, 1986). Esse é um dos três principais esteróis encontrados em eucariotos, sendo fundamental na constituição da membrana plasmática de fungos (DUPONT et al., 2012).

Os triazóis pertencem ao grupo de inibidores de demetilação (DMIs) (FRAC, 2021). Os DMIs compreendem grande número de moléculas de fungicidas comerciais. Para o cafeeiro são registrados, o cyproconazol ( $C_{15}H_{18}ClN_3O$ ), o difenoconazol ( $C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$ ), o propiconazol ( $C_{15}H_{17}Cl_2N_3O_2$ ), o tebuconazol ( $C_{16}H_{22}ClN_3O$ ) e o tetraconazol ( $C_{13}H_{11}Cl_2F_4N_3O$ ) (Figura 3), entre outros (RODRIGUES, 2006). O sucesso desses fungicidas é devido ao seu amplo espectro e eficácia no controle de diversos patógenos de plantas, além de serem específicos para esses organismos e pouco tóxicos a mamíferos.

**Figura 3** - Fórmula química dos Triazóis

A. cyproconazol, B. difenoconazol, C. propiconazol, D. tebuconazol, E. tetraconazol.

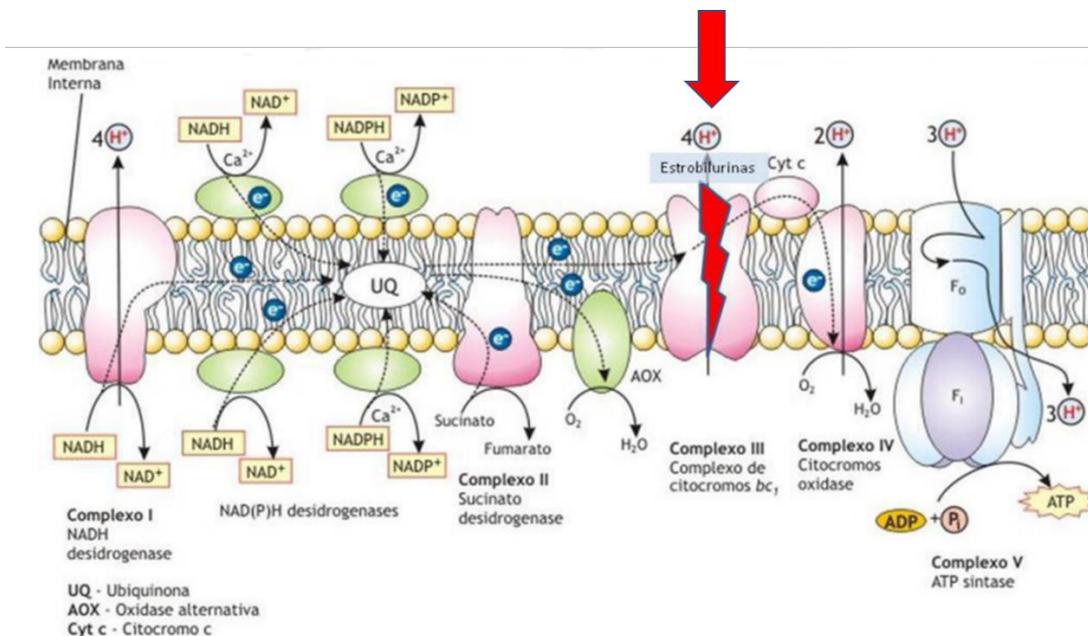
Fonte: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound>.

### 3.3.2 Estrobilurinas

O grupo químico das estrobilurinas foi descoberto na Alemanha em 1977, por Anke et al. (1977) no fungo *Strobilurus tenacellus*. Sendo então identificada a primeira substância do grupo, as estrobilurinas A e B. Teve sua comercialização como fungicida liberada em 1966, e até os dias atuais é amplamente utilizado de forma isolada ou em mistura com triazóis (RODRIGUES, 2006) e também com carboxamidas ou fungicidas do grupo dos inibidores da succinato desidrogenase (SDHI). Metabólitos desse fungo foram isolados, identificados e sintetizados e é o grupo de defensivos mais comercializado na agricultura, cuja toxicidade advém da inibição da produção de ATP na cadeia respiratória (BARTLETT et al., 2002).

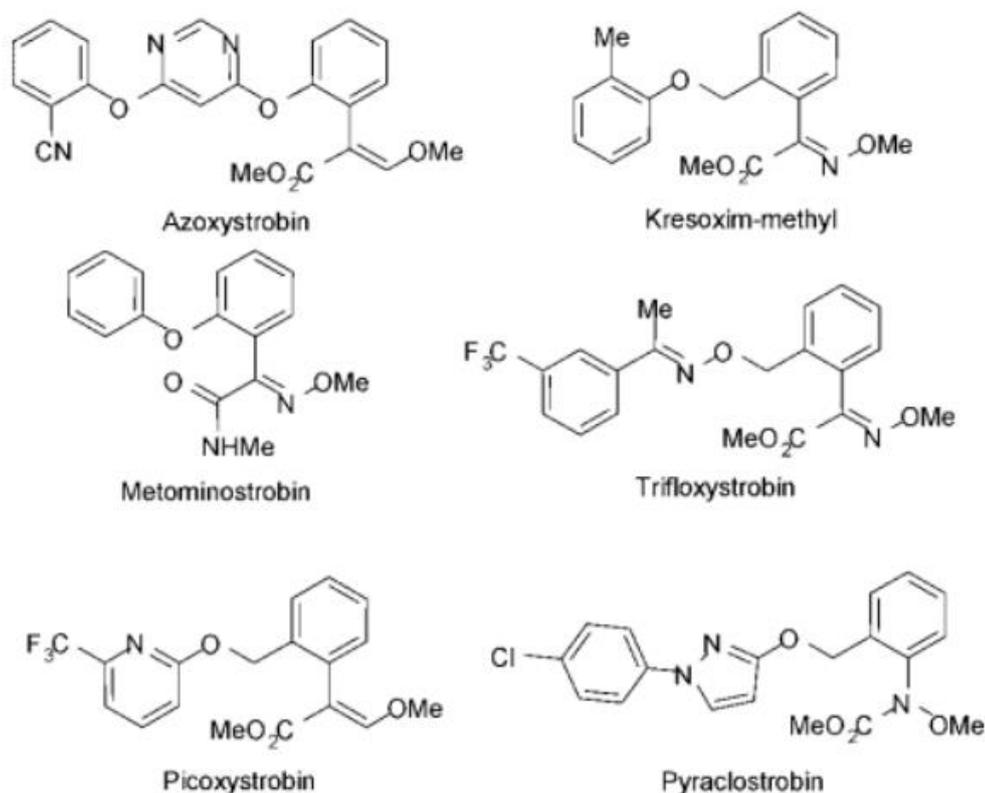
Agem inibindo a respiração mitocondrial, são inibidores da quinona (QoI's) no complexo III, bloqueando a transferência de elétrons entre os citocromos b e c1 nesse sítio específico (Figura 4). A quinona é transportadora de elétrons na membrana interna do mitocôndrio. Paralisando assim a respiração mitocondrial ou fosforilação oxidativa daí para frente, interferindo na produção de ATP, reduzindo assim a energia disponível para o patógeno germinar, infectar e colonizar o hospedeiro (RODRIGUES, 2006). Por suas características de penetração mais lenta na cutícula e menor sistemicidade na dose letal via xilema, atuam principalmente de forma preventiva, na germinação de esporos e no seu tubo germinativo. Porém também têm ação curativa, inibindo o crescimento e o desenvolvimento do fungo nos estádios iniciais (BARBOSA JUNIOR, 2018).

**Figura 4** - Representação esquemática do mecanismo de ação dos antifúngicos estrobilurinas no Complexo III da cadeia transportadora de elétrons, localizadas nas cristas mitocondriais



Fonte: Zambolim et al. (2007).

Atualmente, o grupo das estrobilurinas é comercializados no controle de patógenos de plantas. Das principais moléculas existentes no mercado, pode-se citar a azoxistrobina, a piraclostrobina, a picoxistrobina, a metominostrobin, o cresoxim-metilico e a trifloxistrobina, entre outras (Figura 5), podendo ser encontradas em fungicidas com ativo único ou em mistura com outros grupos químicos (BALARDIN, 2022).

**Figura 5** – Fórmula química das Estrobilurinas

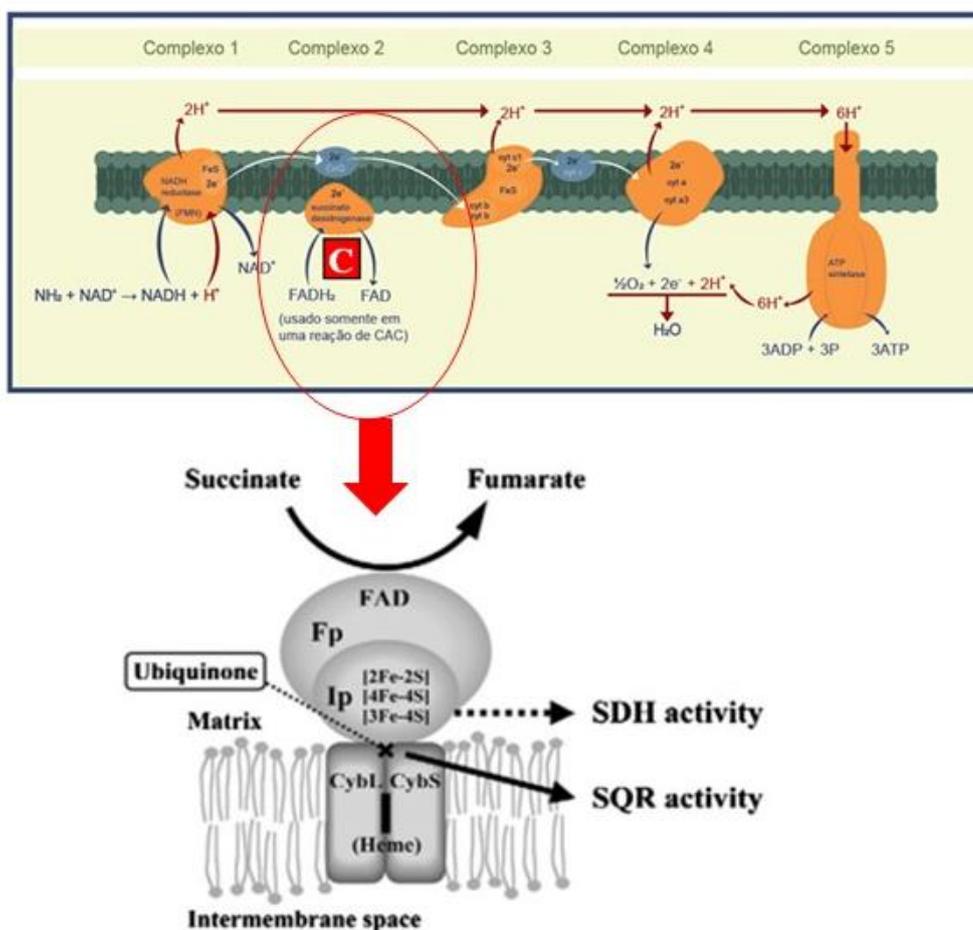
Fonte: Barlett et al. (2002)

### 3.3.3 Carboxamidas

As carboxamidas atuam no transporte de elétrons no ciclo de Krebs, na matriz mitocondrial, ligado ao complexo II da fosforilação oxidativa. Inibem a enzima succinato desidrogenase (SDH) ou a succinato ubiquinona (SQR). A succinato desidrogenase (Complexo II ou succinato-ubiquinona oxidorreductase) é o menor complexo da cadeia respiratória e transfere os elétrons derivados do succinato diretamente para o pool de ubiquinona. Esse complexo enzimático acopla a oxidação do succinato para o fumarato na matriz mitocondrial, paralisando o ciclo de Krebs e portanto, a processo de respiração desse ponto em diante (HORSEFIELD et al., 2006).

As moléculas SDHs ligam-se especificamente ao sítio da ubiquinona (Q-site) do complexo II mitocondrial e inibem a respiração do fungo (MIYAMOTOA et al., 2010) impedindo a oxidação de succinato para fumarato (Figura 6), privando assim, o patógeno do principal produto desse processo, o ATP ou a energia.

**Figura 6** – Modo de ação dos SDHI'S



Fp – flavoproteína; Ip - ferro-enxofre.

Fonte: adaptado de <https://revistacultivar.com.br/artigos/como-posicionar-corretamente-carboxamidas-contra-doencas-da-soja> e Omura e Shiomi (2007).

Além de sua função como desidrogenase no sistema respiratório, o complexo II desempenha um papel importante no ciclo do ácido tricarboxílico. O complexo SDH mitocondrial é composto por um domínio membrana periférica e um domínio de membrana âncora (Figura 6). O domínio periférico, consiste em duas subunidades hidrofílicas SDHA e SDHB, forma a parte solúvel do complexo e possui a atividade de succinato desidrogenase (oxidação de succinato em fumarato). SDHA é uma flavoproteína (Fp), cujo cofator FAD covalente da enzima faz parte do local, enquanto SDHB é uma proteína ferro-enxofre (Ip) contendo três diferentes aglomerados de ferro-enxofre [2Fe-2S], [4Fe-4S] e [3Fe-4S] para transferência de elétrons entre o FAD e a quinona da membrana (Figura 6) (OMURA; SHIOMI, 2007).

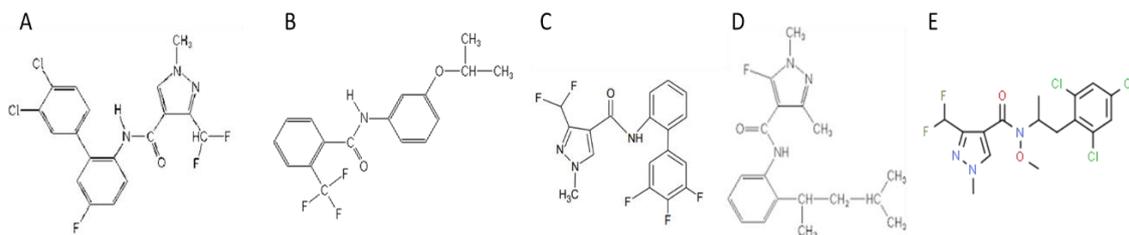
O domínio de âncora da membrana é composto por duas subunidades hidrofóbicas atravessando a membrana SDHC ou CybL e SDHD ou CybS que formam as subunidades grandes e pequenas do citocromo b, contribuindo com três K-hélices transmembranares (I, II, III e IV, V, VI). Além dos componentes proteicos, o complexo II também contém uma prótese heme b grupo complexado entre SDHC e SDHD. A região das subunidades de ancoragem da membrana contém sítios de ligação para redução de ubiquinona e inibidores de âncoras e as subunidades catalíticas (Fp e Ip) para o interior da mitocôndria, facilitando assim a transferência de elétrons para a ubiquinona (ACKRELL et al., 1992).

Devido ao seu modo e local de ação únicos, eles não apresentam resistência cruzada com outras classes químicas, como estrobilurinas, benzimidazóis ou anilino pirimidinas, portanto, são excelentes candidatos para gerenciar o desenvolvimento de resistência a fungicidas e otimizar o controle de doenças (AVENOT et al., 2007).

A presença de lipofilicidade de alguns ativos das carboxamidas os torna produtos de elevada mobilidade. Após a aplicação e deposição dos fungicidas nos tecidos da planta, sua mobilização ocorre através de transporte acropetal (xilema), de forma translaminar, do qual se acumula na face inversa da folha e mesostêmico (episistêmico e translaminar). Os fungicidas desse grupo podem ter efeito erradicante, protetor e curativo (LYR, 1995). No entanto, devido à especificidade do seu modo de ação, o uso frequente e generalizado dessas moléculas pode potencialmente causar a seleção de populações resistentes no campo (AVENOT; MICHAILIDES, 2010).

A boscalida é ingrediente ativo pertencente ao grupo dos SDH's, sendo uma anilida. É fungicida sistêmico, também com redistribuição translaminar desenvolvido para o controle de oídios, *Alternaria* spp., *Botrytis* spp. e *Monilia* spp. em grande variedade de frutíferas e olerícolas (EHR; KEMMITT, 2002; TOMLIN, 2002). Inibe o crescimento do tubo germinativo e a formação do apressório, apresentando efeito sobre o crescimento micelial e produção de esporos (RODRIGUES, 2006).

Dentre as carboxamidas, mais empregadas, estão bixafem, flutolanil, fluxaproxade, penflufen e pidiflumetofen (Figura 7).

**Figura 7 - Fórmula química das Carboxamidas**

A. bixafem, B. flutolanil, C. fluxapiroxade, D. penflufen e E. pidiflumetofen

Fonte: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.34501423.html>

### 3.4 Estudos ‘in vitro’ de fungicidas no controle de fitopatógenos

Diversos pesquisadores têm adotado a estratégia de primeiro, testar ‘in vitro’, os ingredientes ativos, para verificar sua possível ação fungitóxica. Porém, a dose capaz de inibir em 50, 90 ou 95% o crescimento ou a germinação do patógeno em laboratório ou ‘in vitro’ pode ser diferente daquela empregada no campo e não corresponder à dose necessária para reduzir a doença nessas porcentagens. O estudo de efeito de dose-resposta, ou aquela capaz de inibir em determinada porcentagem estabelecida, o crescimento do micélio ou a germinação de seus esporos, por exemplo, permite compreender de forma eficiente como ocorre a interação entre fungicida e patógeno (DIMOND et al., 1941; STREIBIG et al., 1998; STREIBIG et al., 1999).

A dose-resposta consiste em descrever o controle do patógeno em relação ao aumento crescente de doses do fungicida isolado ou em associação no meio ou local onde está sendo estudado (MARQUES, 2017). A partir desse ajuste, é possível obter estimativa da dose capaz de inibir completamente seu crescimento ou provocar 50 e 95 % do efeito total possível na variável resposta analisada, o IC<sub>50</sub> ou o IC<sub>95</sub>, respectivamente (SEEFELDT et al., 1995; BLACKSHAW et al., 1996). No caso de fungicidas, é determinar a dose requerida para inibir 50 e 95% do crescimento micelial ou da germinação do fungo avaliado, respectivamente (DIMOND et al., 1941).

A avaliação do IC<sub>50</sub> ou do IC<sub>95</sub> é o método para medir a fungitoxicidade dos fungicidas. Caracteriza-se pela toxicidade de determinada substância, presente em baixas concentrações, aos fungos. Sua função consiste na redução ou inibição do crescimento de microrganismos, pois sua capacidade é tida como propriedade inerente a determinada substância química (EDGINGTON; KHEW; BARRON, 1971).

Edgington, Khew e Barron (1971) definiram a fungitoxicidade de fungicidas de acordo com os seguintes índices:  $IC_{50} < 1$  ppm = altamente fungitóxico,  $IC_{50}$  de 1-50 ppm = moderadamente fungitóxico e  $IC_{50} > 50$  ppm = não tóxico. Quanto menor o  $IC_{50}$ , maior a toxicidade do produto químico.

Na literatura, é frequente o estudo de doses de fungicidas na inibição do crescimento micelial ou da germinação de diversos fitopatógenos. Chaves Neto et al. (2020) testaram diferentes concentrações do fungicida do grupo das carboxamidas, dos triazóis e das estrobilurinas no crescimento micelial de fungos dos gêneros *Aspergillus* sp. e *Fusarium* spp. 'in vitro'. Os autores observaram o fungicida Fluxapiróxade + Piraclostrobina promovendo menor crescimento micelial para o fungo *Aspergillus* sp. com a  $IC_{50}$  de 39,78 ppm e para o fungo *Fusarium* sp., com a mistura de Epoxiconazol + Piraclostrobina na  $IC_{50}$  de 25,56 ppm. Em relação à dose de campo, esses autores não avaliaram, todavia, a dose indicada em soja de Fluxapiróxade + Piraclostrobina é de 970,8 + 487,1 ppm i.a., para controle de *Corynespora cassiicola* (GODOY et al., 2016), sendo esta superior, cerca de 38 vezes em relação às doses avaliadas 'in vitro', por Chaves Neto et al. (2020). Os autores verificaram 65% de controle superior em relação à testemunha 'in vitro', utilizando Fluxapiróxade + Piraclostrobina, o mesmo a ser utilizado neste estudo, na dose indicada de 250,5 + 499,5 ppm i.a.,

Kajihara et al. (2021) também avaliaram aplicação 'in vitro' e 'in vivo' fungicidas utilizados na cultura da soja. O fungicida de contato, clorotalonil foi mais fungitóxico em ambos casos, e diferindo entre as condições, com valor 'in vitro' de  $IC_{50} = 0,18$  ppm e  $IC_{95} = 1,54$  ppm e com valor 'in vivo' de  $IC_{50} = 0,24$  ppm e  $IC_{95} = 6,81$  ppm. O aumento foi de 33,5% na dose de  $IC_{50}$  e 342% para a  $IC_{95}$ . Ou seja, esses resultados confirmam o efeito fungitóxico de menores doses 'in vitro' no laboratório em relação ao campo.

**Tabela 1** - Relação entre o IC<sub>50</sub> 'in vitro' de fungicidas e as doses recomendadas em campo para controlar *Bipolaris sorokiniana* em trigo

Fungicida	IC <sub>50</sub> 'in vitro' (ppm*)	Concentração de campo (ppm em água - 120 L/ha)	Concentração de IC <sub>50</sub> no campo - ppm
<b>QoI</b>			
Azoxistrobina	1,09	2083,0	1911,0
<b>DMI</b>			
Procloraz	5,03	3750,0	745,5
Ciproconazol	0,75	833,3	1111,0
Epoconazol	1,05	1041,6	992,0
Flutriafol	0,22	1041,6	4734,8
Metconazol	0,10	750,0	7500,0
Propiconazol	0,42	2083,0	4959,0
Tebuconazol	0,13	1666,7	12820,5
Triadimenol	3,35	1250,0	373,13

\*ppm ou mg/Kg

Fonte: Reis et al. (2015)

Além da soja, Reis et al. (2015) realizaram o comparativo da concentração de fungicida determinado 'in vitro' com a utilizada em campo, como no controle de *Exserohilum turcicum* em sementes de milho, do qual registraram concentração variando de 806,4 do fludioxonil (Fenilpirrol), a 500.000 vezes maior da iprodiona em relação à IC<sub>50</sub> determinada em laboratório.

Dessa forma as doses resposta obtidas em laboratórios não correspondem às utilizadas em campo, tendo em vista o fato destas serem muitas vezes superiores às determinadas 'in vitro'. Conforme verificado nos autores citados acima, esse aumento da dose vai depender do fungicida utilizado e da cultura à qual está sendo empregado.

Segundo Reis et al. (2015) os fatores a serem considerados para explicar a maior concentração utilizada em campo, em relação à determinada em laboratório, são: (i) a deposição deficiente do fungicida em campo pode levar folhas no meio e na parte inferior do dossel a apresentarem menor qualidade de cobertura, em comparação com as do topo; (ii) a pulverização derivada na aplicação não atinge o alvo, ou seja, as folhas; (iii) uma vez absorvido, o fungicida sofre diluição nos tecidos foliares, resultando em menor concentração, em relação ao IC<sub>50</sub> determinado em laboratório; (iv) uma quantidade adicional de fungicida permanece não absorvida na superfície foliar, podendo sofrer remoção, fotólise, hidrólise e sublimação; (v) a IC<sub>50</sub> é determinada para

um determinado fungo, enquanto muitos outros ocorrem na cultura, exigindo uma concentração maior à  $IC_{50}$  para ser controlada; (vi) os tecidos foliares do hospedeiro possuem atividade de desintoxicação para eliminar o xenobiótico e isso não ocorre em testes laboratoriais; (vii) a concentração do fungicida nos testes de laboratório é estável ao longo do ensaio e diminuiria no campo; (viii) a atividade metabólica de uma planta no campo é maior quando comparada a testes ‘in vivo’ conduzidos sob condições ótimas de irrigação, temperatura, umidade relativa e fotoperíodo (REIS et al., 2015, p. 52, tradução nossa).

### 3.4.1 Curvas de dose resposta

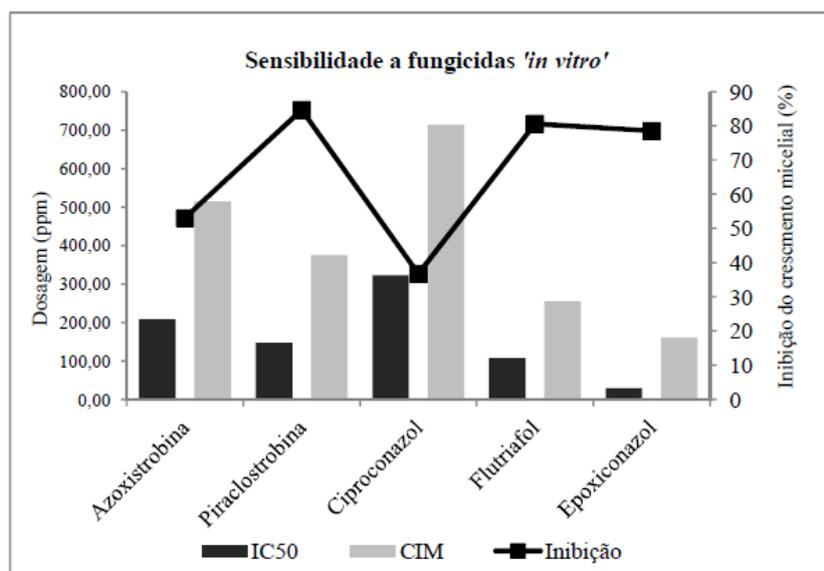
Os testes realizados para verificar a eficácia ou resistência do patógeno a determinada molécula de fungicida, são realizados em laboratórios, mediante o estudo de doses. Dentre as metodologias para descrever os efeitos ocorridos, o uso de curvas de dose-resposta tem permitido definir de forma correta o tipo de interação ocorrida e qual a dose a ser empregada em estudos de laboratório ou ‘in vitro’ (STREIBIG et al., 1998; STREIBIG et al., 1999).

A Curva de dose-resposta consiste em descrever o controle do patógeno em relação ao aumento crescente de doses do fungicida isolado ou em associação, seguindo o fator constante de diluição, de modo a se obter valores equidistantes em escala logarítmica (MARQUES, 2017). Realizando o ajuste, é possível obter estimativa da dose capaz de provocar 50% do efeito total possível na variável resposta analisada ( $IC_{50}$ ) (SEEFELDT et al., 1995; BLACKSHAW et al., 1996).

Trabalhos com dose-resposta são comuns em estudos de patógenos de plantas, pois servem como ferramenta para elucidar casos de resistência a fungicidas e determinar a eficiência de novos ingredientes ativos no controle de diversos fitopatógenos. Santos (2015) verificou ‘in vitro’ a sensibilidade do fungo *Cercospora coffeicola* aos Triazóis. Dos ingredientes ativos testados, apenas o ciproconazol apresentou valor de  $IC_{50}$  maior a 323,51 ppm, quando comparado à dose recomendada em bula, para pulverizações em campos comerciais, de 187 ppm, sugerindo resistência do patógeno ao fungicida. Apenas a piraclostrobina inibiu completamente o crescimento micelial do isolado de *C. coffeicola* na dose de campo 400 ppm, com valor de Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 374,74 ppm. De acordo com a Inibição de

Crescimento Micelial (ICM), os ingredientes ativos piraclostrobina e flutriafol inibiram mais de 75% do crescimento micelial do isolado na dose de campo (Figura 8).

**Figura 8** – Sensibilidade de *C. coffeicola* a diferentes ingredientes ativos utilizados na cafeicultura



CIM - Concentração Inibitória Mínima

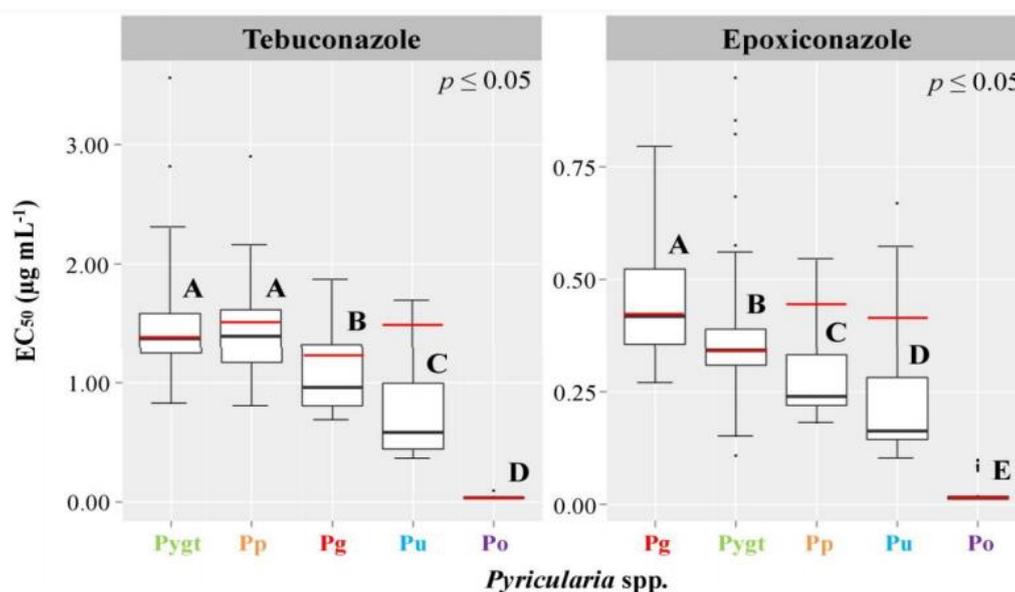
Fonte: Santos (2015, p. 43)

No mesmo estudo, foi avaliada a eficiência de casugamicina, utilizada no controle da mancha aureolada em cafeeiro (*Pseudomonas syringae pv garcae*), obtendo como resultado moderada ação fungitóxica sobre *C. coffeicola*. Além disso, observou-se redução da síntese da toxina cercosporina, fator de patogenicidade importante em fungos do gênero *Cercospora* (SANTOS, 2015).

Nessa mesma linha, Dorigan et al. (2019) realizaram estudo de dose resposta utilizando dois fungicidas para avaliar a resistência de *Pyricularia* spp., agente etiológico da brusone do trigo no Brasil, para os triazóis tebuconazol 200 000 ppm e epoxiconazol 75 000 ppm. Para a triagem de perda de sensibilidade do fungicida, foi realizada a curva dose-resposta contendo as seguintes concentrações: 0,0; 0,3; 0,75; 0,9; 1,8; 4,1 e 6,8 ppm de tebuconazol e 0,0; 0,04; 0,10; 0,30; 0,675; 1,0 e 2,0 ppm de epoxiconazol. Os autores compararam cinco espécies diferentes de *Pyricularia*: *P. grisea* (Pg), *P. pennisetigena* (Pp), *P. urashimae* (Pu), *P. graminis-tritici* (Pygt) e *P. oryzae* (Po), em todos os casos as doses 'in vitro' foram inferiores à de campo (Figura

9). Em estudo complementar desse experimento, Poloni et al. (2021) observaram alta resistência de *Pyricularia* spp. ao tebuconazol e epoxiconazol, com valores de IC<sub>50</sub> ao menos 35 a 50 vezes superiores às doses de campo recomendadas.

**Figura 9** - Dose resposta para avaliar a resistência de *Pyricularia* spp., aos triazóis tebuconazol e epoxiconazol



Fonte: Dorigan et al. (2019, p. 5).

Outro estudo com brusone do trigo foi realizado por Castroagudín et al. (2015), no qual fungicidas do grupo das estrobilurinas (QoI's) foram testados para o mesmo. Os valores de IC<sub>50</sub> foram medidos para oito isolados sensíveis (QoI-S) e sete resistentes (QoI-R) com as concentrações finais de 0; 0,02; 0,04; 0,08; 0,16; 0,32; 0,63; 1,25; 2,5; 5,0; 7,0 e 10,0 ppm de ingrediente ativo. O IC<sub>50</sub> dos QoI-S variou de 0,014 a 0,076 ppm, enquanto para o QoI-R foi superior à dose mais alta testada no ensaio, de 10 ppm.

Pinheiro (2021) também realizou estudo 'in vitro' com objetivo de caracterizar a resistência de diferentes isolados de *Alternaria alternata* patótipo tangerina à fungicidas QoI's. Foram testados azoxistrobina a 500000 ppm e piraclostrobina a 250000 ppm as doses utilizadas para determinar a IC<sub>50</sub> foram de 0 (controle); 0,1; 5; 10; 100 e 200 ppm. A maioria dos isolados foram insensíveis ou resistentes à azoxistrobina, a IC<sub>50</sub> calculada foi superior a 200 ppm. Por outro lado, isolados resistentes a piraclostrobina apresentaram valores da IC<sub>50</sub> entre 0,7831 a 45,7 ppm.

Outro estudo avaliou os princípios ativos do grupo químico das estrobilurinas e três misturas de estrobilurinas e carboxamidas para o fungo *Phakopsora pachyrhizi*,

causador da Ferrugem-asiática em soja. Foram testados seis produtos, Azoxistrobina, Picoxistrobina, Piraclostrobina, Azoxistrobina + Benzovindiflupir, Piraclostrobina + Fluxapirroxade, Picoxistrobina + Benzovindiflupir nas concentrações de 0,0; 0,001; 0,01; 0,1; 1 e 10 ppm de ingrediente ativo. O percentual de germinação de urediniósporos de *P. pachyrhizi* foi significativamente reduzido em relação à testemunha a partir da menor concentração (0,001 ppm), para todos os fungicidas testados. Os valores percentuais de germinação de urediniósporos apresentaram redução com o aumento da concentração dos fungicidas (MOREIRA et al., 2018).

Nesse sentido, os estudos ‘in vitro’ de doses de fungicidas são importantes para verificar o potencial fungitóxico e também a resistência ou falta de sensibilidade dos mais diversos ingredientes ativos no controle dos principais patógenos da cultura do cafeeiro. Contudo, percebe-se as doses respostas ‘in vitro’ sendo geralmente menores em relação às doses empregadas no campo.

### **3.5 Efeitos fisiológicos dos fungicidas no cafeeiro**

Até poucos anos atrás, os fungicidas foram utilizados exclusivamente para controlar doenças de etiologia fúngica. Todavia, foram relatados outros efeitos benéficos desses produtos nas plantas. Relacionados ao aumento de rendimento das culturas tratadas com os fungicidas, promovidos por alterações na fisiologia da planta, no seu metabolismo, influenciando seu crescimento e desenvolvimento (KÖEHLE et al., 1994).

Como exemplos, cita-se o efeito das estrobilurinas, ocasionando a elevação da produtividade, com folhas mais verdes, mais clorofila e maior crescimento (altura e diâmetro) e área foliar (BASF, 2005), resultante do aumento da fotossíntese líquida, devido à redução da respiração das plantas, além do aumento da atividade da enzima nitrato redutase ocasionando melhor balanço hormonal, com maiores teores de ácido indolilacético (IAA), isopentenil adenina (I6-ADE) e ácido abscísico (ABA) e diminuindo a produção de etileno (YPEMA; GOLD, 1999).

A estrobilurina causa leves alterações no ponto de compensação de CO<sub>2</sub> das plantas. Alguns estudos relataram aumento transitório na rota alternativa da respiração (AOX). Esse acréscimo pode sobrepor à redução esperada da emissão de CO<sub>2</sub> devido à inibição da respiração mitocondrial. Assim, ocorre diminuição nos níveis celulares de

ATP e aumento na concentração de prótons (H<sup>+</sup>) no citosol, ativando a nitrato redutase (KÖEHLE et al., 1994).

Em soja [*Glycine max* (L.) Merr.], plantas pulverizadas com piraclostrobina apresentaram aumento na fotossíntese líquida. Três horas após a sua aplicação, foi 3% maior em relação ao controle. Esse aumento tornou-se mais pronunciado 7 dias após a aplicação, sendo 17% maior em relação ao controle. Os mesmos autores verificaram diminuição na respiração das plantas tratadas com piraclostrobina, diminuindo para 76% menos quando comparado com o controle 1 dia após a aplicação. Depois disso, a diferença foi menor pronunciada, mas permaneceu até 17 dias após a aplicação (FAGAN et al., 2010).

Da mesma maneira em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (JADOSKI et al., 2015), milho (*Zea mays* L.) (BLANDINO et al., 2012), soja (FAGAN et al., 2010) e videira (*Vitis vinifera* L.) (BERKELMANN-LOEHNERTZ et al., 2001), o uso de várias estrobilurinas também aumentou a assimilação de CO<sub>2</sub>. Em trigo (INAGAKI; MORI; NACHIT, 2009), feijão (JADOSKI et al., 2015) e tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (CANTORE et al., 2016) tratados com piraclostrobina, também apresentou maior eficiência no uso da água, pois as plantas absorveram menos água em condições de solo com deficiência de água.

No entanto, resultados negativos para os efeitos fisiológicos das estrobilurinas nas trocas gasosas da planta também já foram descritos. As aplicações de estrobilurinas (cresoxim-metil, piraclostrobina, azoxistrobina, trifoxistrobina e picoxistrobina) diminuíram a condutância estomática, a transpiração, a taxa líquida de assimilação de CO<sub>2</sub> e a concentração interna de carbono na câmara subestomática em arroz (*Oryza sativa* L.) (DEBONA et al., 2016), cevada (*Hordeum vulgare* L.), trigo e soja (NASON; FARRAR; BARTLETT, 2007). Provavelmente, o bloqueio de transporte de elétrons no complexo citocromo bc1, leva à redução da produção de ATP, causando funcionamento anormal do metabolismo das células-guarda, reduzindo a turgescência e, como resultado, a abertura estomática (NASON; FARRAR; BARTLETT, 2007).

Outro exemplo de fungicida com efeitos fisiológicos positivos nas plantas é a boscalida, inibidor da succinato-desidrogenase ou SDHI (TÖFOLI, 2004), com atuação semelhante as estrobilurinas (VENTURE, 2006). De acordo com alguns estudos, as carboxamidas podem apresentar maior aumento fotossintético quando comparadas às estrobilurinas (AMARO et al., 2018). No entanto, os mecanismos envolvidos a nível

celular neste processo ainda não foram totalmente elucidados (AJIGBOYE; MURCHIE; RAY, 2014).

Além disso, a aplicação de boscalida aumentou a atividade da nitrato redutase em pepino no início da produção de frutos (35 dias após o transplante), mas esse efeito não foi encontrado nas demais avaliações (56 e 73 dias após o transplante) (AMARO et al. 2018). As carboxamidas também promovem aumento do rendimento das plantas, como observado com a coaplicação de isopirazam e epoxiconazol elevando a produção de biomassa de plantas de trigo, bem como o rendimento de grãos em 4% (AJIGBOYE; MURCHIE; RAY, 2014). Em contrapartida, a aplicação de boscalida no melão aumentou a massa da fruta fresca, o teor de sólidos solúveis e a acidez titulável (MACEDO et al., 2017).

Assim, o efeito fisiológico detectado em plantas saudáveis tratadas com estrobilurinas ou carboxamidas deve-se ao aumento na fotossíntese, este, reduz temporariamente a respiração das plantas, levando à menor perda de dióxido de carbono e, conseqüentemente, gerando energia. Além disso, o aumento das enzimas antioxidantes provoca maior tolerância ao estresse. Também resulta em maior atividade de nitrato redutase e melhor equilíbrio hormonal, aumentando a síntese de AIA e ABA, além de redução da produção de etileno, retardo da senescência e prolongamento da eficiência fotossintética, conhecido como "efeito verde". Esses efeitos, juntos, aumentam a produtividade e a qualidade dos frutos (AMARO et al., 2019).

A ação desses fungicidas na fisiologia da planta ocorre por meio da nitrato redutase, mediante a catalisação da primeira base de absorção de nitrato do solo, promovendo o aumento na biomassa das plantas tratadas, requerendo assim, grande assimilação de nitrogênio (KÖEHLE et al., 1994). O peso da planta verde e seca pode ser representada por sua quantidade de folhas. As folhas desempenham papel fundamental nas plantas, pois elas são responsáveis por captar luz, essencial para o processo de fotossíntese (MATHUR et al., 2018).

Em estudo envolvendo a aplicação de fungicidas é desejável avaliar os compostos fenólicos, lignina e calose, pois estes componentes estão relacionados as reações estruturais de defesa de plantas a patógenos (MOERSCHBACHER et al., 1988). Outro fator a ser considerado nos experimentos com fungicidas, é o teor de cera das folhas de café. A cera foliar está localizada sobre a cutícula, constituindo a interface natural entre as folhas e o meio, conferindo maior resistência à perda de água e a doenças (LICHSTON; GODOY, 2006). Porém, Lichston e Godoy (2006) verificaram

na aplicação do fungicida oxiclureto de cobre para o controle da ferrugem do café, a diminuição no teor da cera e alteração da morfologia, provocando rupturas e desaparecimento dos cristalóides, podendo tornar as plantas mais suscetíveis a doenças, pragas e estresse hídrico.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Avaliação da dose resposta ‘in vitro’ de patógenos necrotróficos do cafeeiro à fungicidas**

#### **4.1.1 Avaliação do índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Cercospora coffeicola*, e *Phoma tarda* ‘in vitro’, submetidos a doses de diferentes fungicidas**

Os isolados de *C. gloeosporioides* foram provenientes de folhas e frutos infectados coletados de uma plantação na cidade de Lavras, os quais passaram pelo processo de desinfecção superficial com álcool etílico 70%, hipoclorito de sódio 2% e água destilada. Os fragmentos foram alocados em placa de Petri contendo meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA) acrescido de cloranfenicol e incubados a 25°C com fotoperíodo de 12 horas por 7 dias. Após o crescimento das colônias, foram obtidos discos de micélio para serem cultivados para produção de conídios. Após 14 dias foi adicionado 5 mL de água destilada esterilizada na placa e os conídios foram desalojados com alça de Drigalski esterilizada. A solução foi novamente incubada em placas de Petri para obtenção de cultura monospórica.

Isolados *C. coffeicola* foram obtidos do isolado (CML 2985) depositado no Laboratório de Fisiologia de Parasitismo da UFLA.

Isolados de *P. tarda* (IBLF1324) foram obtidos da Coleção de Culturas do Laboratório de Fitopatologia, do Instituto Biológico de Carmo do Rio Claro, Minas Gerais.

O crescimento micelial, ‘in vitro’, foi avaliado incorporando os fungicidas ao meio de cultura fundente. As diferentes concentrações foram obtidas a partir de solução estoque (SE) de 1.000 ppm do produto comercial (fungicidas). Foram realizadas diluições das SE em água destilada e estéril, para obter as concentrações equivalentes a

5, 25, 50 e 100 % da dose de campo, com base na metodologia descrita por Lopes et al. (2015).

O fungicida foi adicionado aos meios fundentes, de malte para *Phoma* e *Colletotrichum* (SALGADO, 2002) e V8 para *Cercospora* (SILVA, 2014; VALE, 2020), seguido por agitação para homogeneizar e, em seguida, 20 mL dessas misturas foram vertidas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Após o meio solidificar, discos de 5 mm foram retirados da cultura contendo micélio dos fungos, com o auxílio do vazador e colocados no centro das placas de Petri contendo os 5 diferentes fungicidas nas doses 5, 25, 50 e 100 ppm mais um tratamento adicional, a testemunha, na dose 0 ppm (Tabela 2). Ou seja, em esquema fatorial de análise de variância de 6x4+1 testemunha. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com 25 tratamentos (6x4 + 1) e quatro repetições, sendo a repetição constituída por placa de Petri.

As placas foram incubadas em câmara de crescimento (BOD) a 25°C para *Colletotrichum* e *Cercospora* e a 21°C para *Phoma*, com fotoperíodo de 12 horas de luz, do tipo fluorescente, com intensidade luminosa de 276,3  $\mu\text{mol/s/m}^2$ .

A avaliação foi feita mensurando o diâmetro das colônias nos dois sentidos ortogonais de crescimento, com paquímetro graduado em milímetros (mm), até o fungo atingir a borda da placa. Para *Colletotrichum gloeosporioides* foram realizadas avaliações diárias, totalizando sete avaliações. Para *Phoma tarda* foram realizadas avaliações com intervalo de 2 dias entre elas, totalizando-se sete avaliações e para a *Cercospora coffeicola*, devido ao lento crescimento deste patógeno, foram realizadas avaliações com intervalo de três dias, totalizando-se oito avaliações.

Ao final das avaliações, calculou-se o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), utilizando-se a fórmula de Maguire (1962);

$$\text{IVCM} = \frac{C_1}{N_1} + \frac{C_2}{N_2} + \dots + \frac{C_n}{N_n}$$

em que:

C1, C2 e Cn: crescimento micelial das colônias na primeira, segunda até a última avaliação;

N1, N2 e Nn: número de dias após a incubação.

**Tabela 2** - Tratamentos utilizados no experimento de crescimento micelial ‘in vitro’ de patógenos do cafeeiro, UFLA, Lavras, MG, 2021

Ingrediente ativo	Formulação	Produto	Concentração i.a* (g/L ou g/kg)	Dose comercial** (L ou Kg / ha)	Dose comercial (ppm ou mg/L de i.a)
Testemunha	---	---	---	---	---
Difenoconazol + Pydiflumetofen	SC	Miravis Duo®	125 + 75	0,4	125 + 75
Azoxistrobina + Difenoconazol	SC	Priori Top®	200 + 125	0,4	200 + 125
Boscalida	WG	Cantus®	500	0,15	187,5
Trifloxistrobina + Tebuconazol	SC	Nativo®	100 + 200	0,8	200 + 400
Azoxistrobina + Tebuconazol	SC	Azimut®	120 + 200	0,75	225 + 375
Piraclostrobina + Fluxapirroxade	SC	Orkestra®	333 + 167	0,6	499,5 + 250,5

\*i.a.: Ingrediente Ativo. \*\*Dose comercial: quantidade do produto para volume de calda de 400 litros por hectare.

Fonte: do autor (2023)

As características dos princípios ativos de fungicidas utilizados nesse experimento estão descritas a seguir.

#### DIFENOCONAZOL (Difeno)

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

Grupo Químico: Triazol

Concentração: 125g/L do ingrediente ativo

Tipo de formulação: Suspensão concentrada (SC)

Classe Toxicológica: III – (Medicamente tóxico)

PYDIFLUMETOFEN (Pydiflu)

3-(Difluoromethyl)-N-methoxy-1-methyl-N-[(RS)-1-methyl-2-(2,4,6-trichlorophenyl)ethyl]-1H-pyrazole-4-carboxamide CAS-name: 1H-Pyrazole-4-carboxamide, 3-(difluoromethyl)-N-methoxy-1-methyl-N-[1-methyl-2-(2,4,6-trichlorophenyl)ethyl]- Other CAS name: 3-(Difluoromethyl)-N-methoxy-1-methyl-N-[1-methyl-2-(2,4,6-trichlorophenyl)ethyl]-1H-pyrazole-4-carboxamide

Grupo Químico: Carboxamida

Concentração: 75g/L do ingrediente ativo

Tipo de formulação: Suspensão concentrada (SC)

Classe Toxicológica: III – (Medicamente tóxico)

AZOXISTROBINA (Azoxis)

Nome Químico: Methyl(E)-2-{2-[6-(2-cyanophenoxy)pyrimidin-4-yloxy]phenyl}-3-methoxyacrylate

Químico: Estrobilurina

Concentração: 200 g/L produto comercial

Formulação: Suspensão concentrada (SC)

Classe Toxicológica: III (medicamente tóxico)

BOSCALIDA

Nome Químico: (2-chloro-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl) nicotinamide

Grupo Químico: Anilida

Concentração: 500g/Kg do ingrediente ativo

Dosagem: 0,15 Kg/ha

Tipo de formulação: Granulado dispersível (WG)

Classe Toxicológica: III – (Medicamente tóxico)

TRIFLOXISTROBINA (Trifloxis)

Nome Químico: methyl (E)-methoxyimino-{(E)-a-[1-(a,a,a-trifluoro-m-tolyl)ethylideneaminoxy]-o-tolyl}acetate

Grupo Químico: Estrobilurina

Concentração: 100g/L

Dosagem: 0,8 L/ha

Tipo de formulação: Suspensão concentrada (SC)

TEBUCONAZOL (Tebuco)

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

Grupo Químico: Triazol

Concentração: 200g/L do ingrediente ativo

Dosagem: 0,8 L/ha

Tipo de formulação: Suspensão concentrada (SC)

PIRACLOSTROBINA (Pira)

Nome Químico: 3-(difluoromethyl)-1-methyl-N-(3',4',5'-trifluorobiphenyl-2-yl)pyrazole-4-carboxamide

Grupo Químico: Estrobilurina

Concentração: 333 g/L do ingrediente ativo

Tipo de formulação: Suspensão Concentrada (SC)

Classe Toxicológica: III – (Medicamente tóxico)

FLUXAPIROXADE (Fluxa)

Nome Químico: methyl N-{2-[1-(4-chlorophenyl)-1H-pyrazol-3-ylloxymethyl]phenyl}(N-methoxy)carbamate

Grupo Químico: Carboxamida

Concentração: 167 g/L do ingrediente ativo

Tipo de formulação: Suspensão Concentrada (SC)

Classe Toxicológica: III – (Medicamente tóxico)

#### 4.1.2 Avaliação da Dose Resposta para os IC<sub>50</sub> e IC<sub>90</sub>

Foi realizado o cálculo da dose capaz de matar 50% dos patógenos, a concentração inibitória (IC) IC<sub>50</sub> e IC<sub>90</sub> dos fungicidas para os isolados, sendo classificado em quatro categorias de sensibilidade, de acordo com a escala de Edgington, Khew e Barron (1971), em que: IC<sub>50</sub><1 ppm = altamente fungitóxico, IC<sub>50</sub> de 1-50 ppm = moderadamente fungitóxica e IC<sub>50</sub>>50 ppm = não tóxico. Quanto menor

o IC<sub>50</sub>, maior a toxicidade do produto químico. Para cálculo utilizou-se o software R<sup>®</sup> (R CORE TEAM, 2019).

A Curva de dose-resposta foi plotada para descrever o controle do patógeno em relação ao aumento crescente de doses do fungicida isolado ou em associação, seguindo o fator constante de diluição, de modo a obter valores equidistantes em escala logarítmica (MARQUES, 2017). Realizando o ajuste, é possível obter estimativa da dose capaz de alcançar 50% do efeito total possível na variável resposta analisada ou nesse caso 50% da inibição do crescimento micelial (IC<sub>50</sub>), por exemplo (SEEFELDT et al., 1995; BLACKSHAW et al., 1996). Para obter os IC<sub>50</sub> e IC<sub>90</sub> foi utilizado o software R com Log-logístico (log (IC<sub>50</sub>) como parâmetro) com limite inferior em 0 (3 parâmetros) em 'drc': LL2.3.

Tanto o ensaio do IVCM quanto para avaliar o IC<sub>50</sub> e 90 foram repetidos no tempo.

#### **4.1.4 Análise estatística – ‘in vitro’**

Foram realizados os testes de Shapiro-Wilk, para avaliar a distribuição normal dos resíduos e o teste de Bartlett para homogeneidade. Sendo cumprida essa premissa, foi realizada a análise conjunta dos dados dos experimentos repetidos no tempo, para avaliar se houve diferença entre os ensaios. As análises foram realizadas no software R<sup>®</sup> (R Core Team, 2019) e SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2019).

Cumprindo os pressupostos avaliados acima, foi realizada a análise de variância. Se as variáveis foram significativas no teste F, foram submetidas ao teste de Tukey, com 5% de probabilidade quando qualitativas e as quantitativas 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).

O IVCM do tratamento adicional, a testemunha ou a dose zero do fungicida foi comparado aos tratamentos fungicidas por método de contraste ortogonal utilizando-se o software Sisvar (FERREIRA, 2019), pois quando foi incluído o zero na análise de variância não houve ajuste de modelos de regressão.

## **4.2 Efeitos morfológicos e fisiológicos dos fungicidas usados para controle de patógenos necrotróficos do cafeeiro (*Coffea arabica*) em mudas**

#### 4.2.1 Local de implantação e delineamento experimental

O trabalho foi implantado em mudas na casa de vegetação no dia 15/10/2020 e encerrou-se no dia 17/12/2020. O experimento foi realizado em ambiente controlado, com temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa média de 75%. A irrigação foi realizada duas vezes ao dia, de forma automática, por aspersão de 8 mm/dia. Foram utilizadas mudas do cultivar Catuaí 99, suscetíveis à *Phoma tarda*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Cercospora coffeicola*.

Foram realizadas duas aplicações via foliar sendo a primeira no início do experimento 15/10/2020 e a segunda no dia 12/11/2020. Utilizou-se borrifador com volume da calda de 1L de água para distribuição uniforme nas folhas das mudas de cafeeiro até ponto de escorrimento. O volume de calda utilizado é equivalente à calda de 400 litros por hectare usada em campo. Foi utilizada a dose de bula dos produtos (Tabela 3).

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, compostos por sete tratamentos e cinco repetições, totalizando 35 parcelas experimentais (Tabela 3).

**Tabela 3** - Fungicidas (tratamentos) aplicados em casa de vegetação 2020. UFLA, Lavras, MG, 2020

Tratamento	Produto	Ingrediente ativo	Concentração (g.i.a/l ou kg)	Formulação	Dose	
					ppm ou mg/L	g ou ml p.c ha <sup>-1</sup>
1	Testemunha	---	---	---	---	---
2	Miravis Duo	Pydiflumetofen + Difenconazol	75+125	SC	75+125	400
3	Priori Top	Azoxistrobina + Difenconazol	200+125	SC	200+125	400
4	Cantus	Boscalida	500	WG	187,5	150
5	Nativo	Trifloxistrobina + Tebuconazol	100 + 200	SC	400 + 200	800
6	Azimut	Azoxistrobina + Tebuconazol	120 + 200	SC	225 + 375	750
7	Orkestra	Piraclostrobina + Fluxapiróxade	333 + 167	SC	499,5 + 250,5	600

g.i.a/l ou kg gramas do ingrediente ativo por litro ou quilo, g ou ml p.c.: gramas ou mililitros de produto comercial.

Fonte: do autor (2023)

A parcela experimental foi composta por 8 plantas, sendo 280 plantas no total (35 parcelas x 8 mudas por parcela). Das 8 plantas constituintes da parcela, 2 foram usadas para avaliar altura, diâmetro, expansão da área foliar e peso da parte aérea da planta seca; 5 foram destinadas à coleta das folhas para quantificar o fenol nos tempos 0, 12, 24, 48 e 72 horas e 30 dias após a segunda aplicação dos fungicidas e 1 muda foi destinada para aferir lignina e camada de cera ao final do experimento.

#### **4.2.2 Altura, crescimento relativo, diâmetro, área foliar, SPAD, peso das plantas e órgãos secos, fenóis totais, teores de lignina e camada de cera**

No ensaio conduzido em casa de vegetação foram feitas cinco avaliações sendo a primeira no início do experimento, dia 15/10/2020, as demais nas seguintes datas: 29/10/2020, 12/11/2020, 03/12/2020 e 17/12/2020, no final do experimento. Avaliou-se altura e diâmetro, com régua e paquímetro, respectivamente. Para obter o valor médio da área foliar, em centímetros quadrados por planta, foi realizada estimativa a partir da metodologia proposta por Huerta (1962) e Barros, et al. (1973), confirmada por Gomide et al. (1977). Esta consiste em medir o maior comprimento e a maior largura de uma das folhas do par da muda, desde que esta não possua comprimento inferior a 2,5 centímetros. O valor obtido da folha da muda foi multiplicado pela constante 0,667 somados e multiplicados por dois para obter a área foliar da muda. O “incremento do diâmetro” se refere à diferença entre o diâmetro do colo do caule na quinta e na primeira avaliação.

Também nos dias 15 e 29/10/2020, 12 e 03/11/2020 e 17/12/2020, o teor de clorofilas a, b e total foi calculado indiretamente (Equação 1), a partir das leituras feitas com o medidor portátil de clorofila SPAD-502<sup>®</sup> (*Soil Plant Analysis Development*). As avaliações foram feitas na primeira folha completamente expandida, a partir do primeiro par de folhas e fez-se a diferença entre a segunda e primeira avaliação (SPAD relativo). Equação 1:

$$\text{clorofila } a = (0,0008 * \text{Valor} - 0,0053)$$

$$\text{clorofila } b = (0,0004 * \text{Valor} - 0,0032)$$

$$\text{clorofila total} = (\text{clorofila a} + \text{clorofila b})$$

Em 17/12/2020, após o término das avaliações, foram coletadas as plantas, sem o sistema radicular, de todas as parcelas e logo em seguida foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa a 60° C, até atingirem peso constante, para posterior avaliação do peso da parte aérea das plantas secas em balança.

Visando avaliar o efeito dos fungicidas foliares na atividade dos compostos fenólicos totais, as amostras das folhas das mudas de cafeeiro foram coletadas nos tempos 0, instantes antes da segunda aplicação dos tratamentos e nos tempos de 12, 24, 48, 72 horas e 30 dias após a segunda aplicação dos tratamentos. Para quantificar a lignina, a amostra foliar foi coletada 30 dias após a segunda aplicação. As folhas coletadas foram acondicionadas em papel alumínio, congeladas em nitrogênio líquido e, em seguida, armazenadas em freezer, a -80 °C, até o início das análises.

Para obter o extrato enzimático e determinar a atividade dos compostos fenólicos, amostras de 1 g de tecido foliar fresco foram maceradas com N<sub>2</sub> líquido em almofariz, com a adição de polivinilpirrolidona (PVP) 1% (p/v), até a obtenção de pó fino, e liofilizadas por 48 horas. O pó obtido foi homogeneizado em 2 ml de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0) contendo 10 mM de β- mercaptoetanol e 30 mg foram separados para a determinação da lignina. O restante do homogeneizado foi centrifugado a 14.000 rpm, por 25 minutos, a 4 °C e o sobrenadante foi utilizado para a determinação da atividade dos compostos fenólicos totais.

A atividade dos compostos fenólicos foi iniciada após a adição de 5 µL do extrato na mistura contendo 145 µL de tampão Tris-HCl 100 mM (pH 8,8) e 50 µL de L-fenilalanina 50 mM. A mistura da reação foi incubada em espectrofotômetro de microplacas, a 30 °C, durante 1 hora. Após a incubação, a absorbância dos derivados do ácido trans-cinâmico foi medida a 290 nm e o coeficiente de extinção molar de 104 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> (ZUCKER, 1965) foi utilizado para calcular a atividade dos compostos fenólicos, a qual foi expressa em µM min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína.

Para determinar o teor de lignina solúvel total, as folhas foram trituradas em nitrogênio líquido até a obtenção de pó fino e liofilizadas por 48 horas. Uma alíquota de 30 mg do material liofilizado foi transferida para microtubos de 2,0 mL e homogeneizadas, com 1,5 mL de metanol 80%, por 16 horas, para a despigmentação do tecido. Após centrifugação, a 12.000 rpm, por 5 minutos, o resíduo sólido foi utilizado para a determinação de lignina solúvel. Foram adicionados ao resíduo sólido 1,5 mL de

água, homogeneizando-se e centrifugando-se, a 12.000 rpm, por 5 minutos, a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e o resíduo foi seco em estufa, a 65 °C, por 15 horas. Posteriormente, foram acrescentados 1,5 mL de solução de ácido tioglicólico em HCl 2M (1:10). Em seguida, os microtubos foram suavemente agitados para hidratar o resíduo e colocados em banho-maria, em fervura por quatro horas. Na sequência, os microtubos foram centrifugados, a 12.000 rpm, por 10 minutos, a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado, com 1,5 mL de água ultrapura e novamente centrifugado, a 12.000 rpm, por 10 minutos, a 4 °C. A seguir, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi ressuspensão em 1,5 mL de NaOH 0,5 M e mantido em agitador rotativo, por 15 horas, à temperatura ambiente. A mistura foi centrifugada, a 12.000 rpm, por 10 minutos, a 4 °C e o sobrenadante transferido para novo microtubo, ao qual foram adicionados 200 µL de HCl concentrado. A suspensão obtida foi mantida em câmara fria (4 °C), por quatro horas, para permitir a precipitação da lignina ligada ao ácido tioglicólico. A seguir, a mistura foi centrifugada, a 12.000 rpm, por 10 minutos, a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspensão em 2,0 mL de NaOH 0,5 M. A absorvância desta solução foi determinada em espectrofotômetro, a 280 nm, e os valores calculados com base na curva de lignina e expressos em µg de lignina solúvel por miligrama de massa seca (DOSTER; BOSTOCK, 1988).

A camada de cera nas folhas das mudas de cafeeiro foi avaliada 30 dias após a segunda aplicação dos tratamentos. Foi coletado o 2º par de folhas completamente expandidas, processadas por método do dessecador e observadas ao microscópio eletrônico de varredura (MEV). Essas folhas foram cortadas em fragmentos de 3x3 mm, acondicionadas em ‘stubs’ com auxílio de fita dupla face e, em seguida, foi realizada a metalização com banho de ouro. As amostras foram observadas em aumento de 700 vezes e geradas as imagens (ALVES, 2004).

#### **4.2.3 Análises estatísticas – casa de vegetação**

Os dados das variáveis teores de clorofila total, altura, peso da parte aérea seca, área foliar, fenóis totais e teor de lignina foram submetidos ao teste de normalidade e comparados no teste F da análise de variância. As variáveis significativas no teste F, foram submetidas ao teste de Tukey, com 5% de probabilidade quando qualitativas.

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).

## 5 RESULTADOS

Não ocorreu diferença estatística entre os experimentos repetidos no tempo ( $p < 0,05$ ). Dessa forma, os resultados descritos abaixo são a média dos dois ensaios.

### **Crescimento micelial ‘in vitro’ de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Cercospora coffeicola* e *Phoma tarda* a fungicidas**

Ocorreu diferença ( $p < 0,05$ ), no contraste ortogonal, entre o tratamento adicional ou testemunha ou dose zero e os fungicidas, para todos os patógenos avaliados ‘in vitro’. Ou seja, houve diferença, no crescimento micelial, entre as doses do fungicida e a testemunha. O crescimento micelial ou IVCN sempre foi maior na testemunha ( $p < 0,05$ ), para todos os ingredientes ativos avaliados.

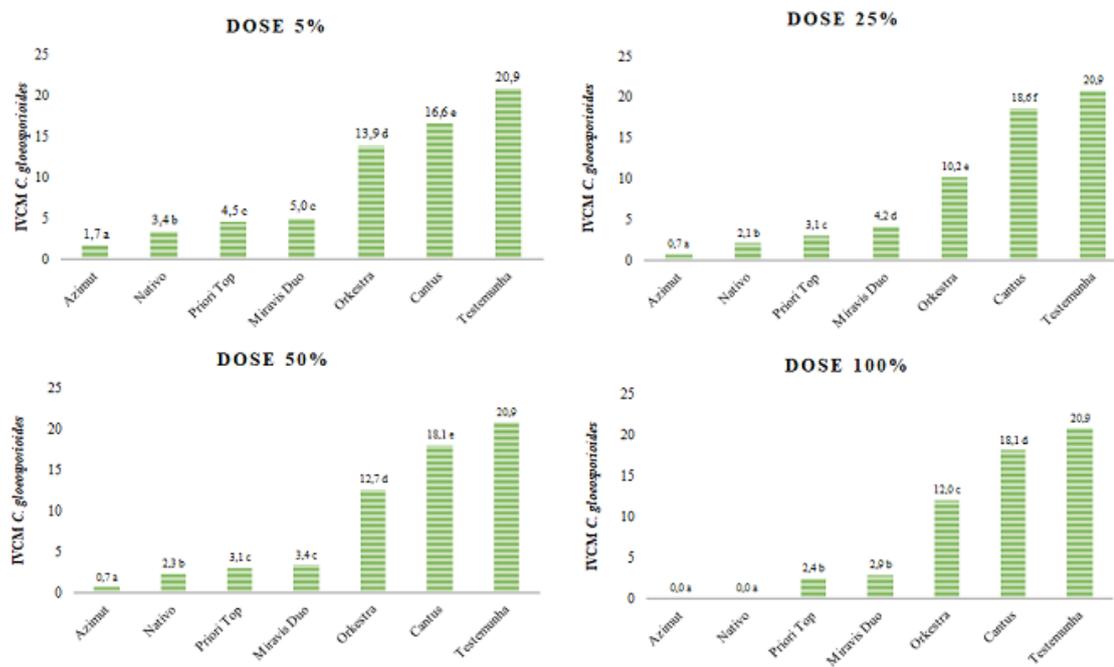
#### **5.1 *Colletotrichum gloeosporioides***

##### **5.1.1 Avaliação do Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM)**

Verificou-se interação entre fungicidas e doses ( $p < 0,05$ ) para o IVCN de *C. gloeosporioides* (Anexo Tabela 1A).

Para *C. gloeosporioides*, em todas as doses avaliadas houve diferença entre os fungicidas ( $p < 0,05$ ) (Figura 11).

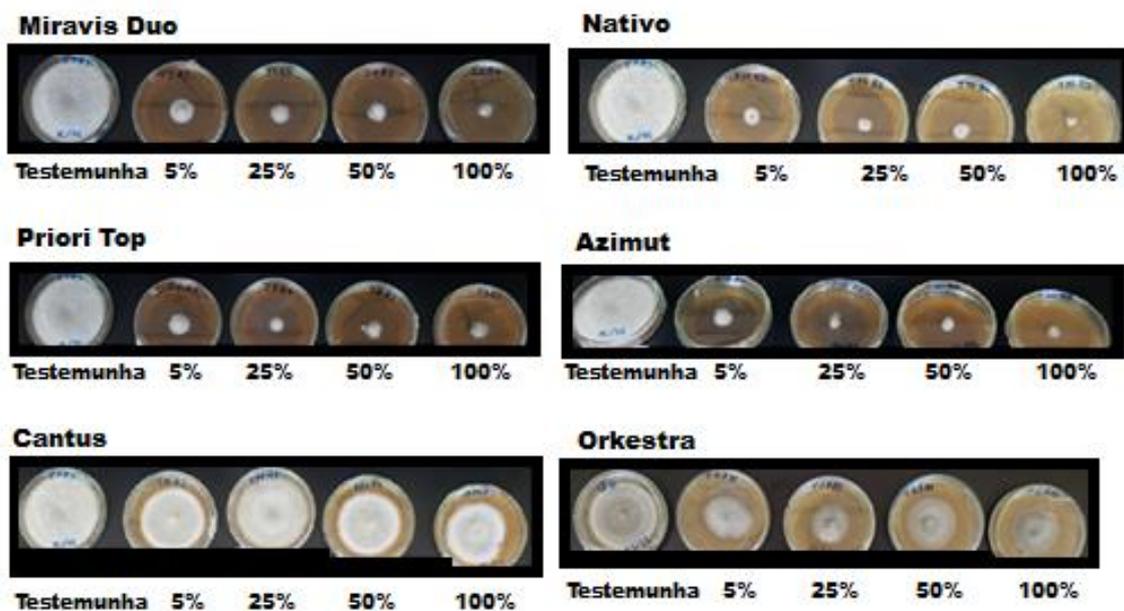
**Figura 11** – Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de *C. gloeosporioides* para 5, 25, 50 e 100% das doses de campo dos fungicidas, UFLA, Lavras, MG, 2020



Fonte: do autor (2023)

O menor crescimento micelial foi obtido com o fungicida Azoxys + Tebuco, seguido por Tebuco + Trifloxys, Azoxis + Difeno e Difeno + Pydiflu. Os maiores crescimentos miceliais, foram de Boscalida e Pira + Fluxa em média 727,88% e 497,16%, respectivamente, superiores aos demais fungicidas, com diferença entre eles (Figuras 11 e 12).

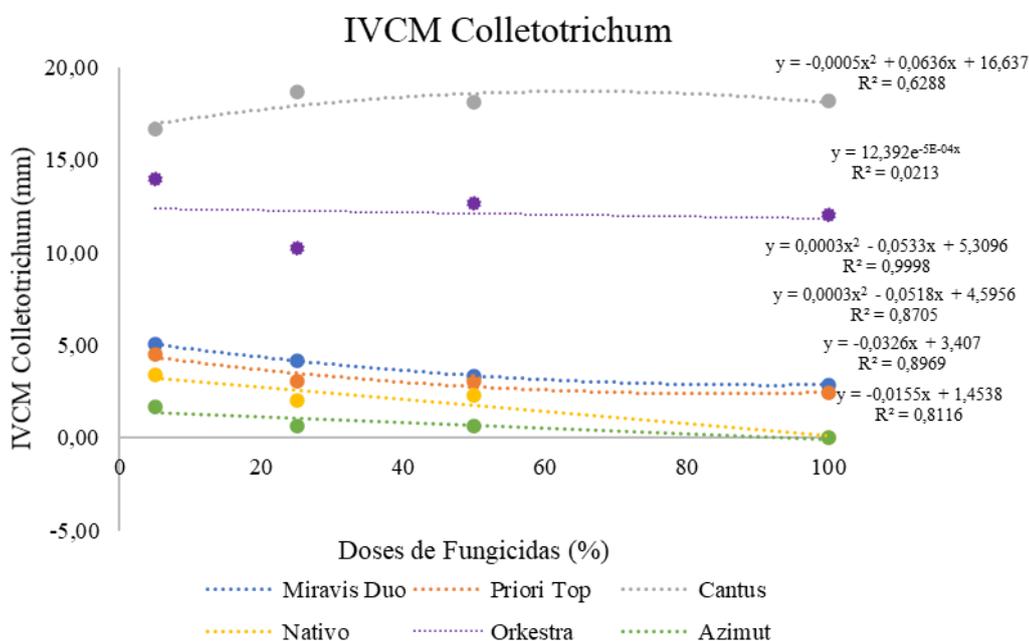
**Figura 12** – Crescimento micelial ‘in vitro’ de *C. gloeosporioides* no tratamento sem fungicida (testemunha) e com os diferentes fungicidas nas doses de 5, 25, 50 e 100%, UFLA, Lavras, MG, 2020



Fonte: do autor (2023)

Com o aumento das doses dos fungicidas Azoxys + Tebucos, Tebucos + Trifloxys, Azoxis + Difeno e Difeno + Pydiflu ocorreu discreta redução do crescimento micelial do *C. gloeosporioides*. Ou seja, nas menores doses já houve redução significativa do crescimento. Já para o fungicida Pira + Fluxa e Boscalida não houve redução do crescimento micelial, com maiores crescimentos do patógeno (Figura 13).

**Figura 13** – IVCM do *Colletotrichum gloeosporioides* em meio de cultura contendo diferentes fungicidas em diferentes doses, UFLA, Lavras, MG, 2020



Fonte: do autor (2023)

### 5.1.2 Avaliação da Dose Resposta para os IC<sub>50</sub> e IC<sub>90</sub>

No cálculo do IC<sub>50</sub> de *C. gloeosporioides*, os fungicidas Difeno + Pydiflu, Azoxis + Difeno, Tebuco + Trifloxys e o Azoxys + Tebuco obtiveram valores abaixo de 0,1 ppm do i.a. enquanto Boscalida e Pira + Fluxa não apresentaram inibição do crescimento micelial inferior a 50%. Já para a IC<sub>90</sub>, os valores mais baixos foram verificados para os fungicidas Azoxys + Tebuco e Tebuco + Trifloxys, sendo que o Boscalida e Pira + Fluxa não atingiram inibição de 90% com as doses utilizadas (Tabela 5).

Tabela 4 – Dados relativos ao IC<sub>50</sub> e IC<sub>90</sub> calculado de *C. gloeosporioides*

Fungicida	Ingrediente Ativo	ppm ou mg/Kg i.a. (dose comercial)	ppm ou mg/Kg i.a. (IC <sub>90</sub> )	ppm ou mg/Kg i.a. (IC <sub>50</sub> )
Miravis Duo	Difenoconazol	120	132,79	0,04
	Pydiflumetofen	75	83,00	0,03
Priori Top	Azoxistrobina	200	68,94	0,05
	Difenoconazol	125	43,09	0,03
Cantus	Boscalida	187,5	Não atingiu*	Não atingiu*
Nativo	Tebuconazol	400	26,64	0,0704
	Trifloxistrobina	200	13,32	0,0352
Azimut	Azoxistrobina	225	4,75	0,00000572
	Tebuconazol	375	7,91	0,00000954
Orkestra	Piraclostrobina	333	Não atingiu*	Não atingiu*
	Fluxapiroxade	167	Não atingiu*	Não atingiu*

i.a = ingrediente ativo. \*Não atingiu inibição superior a 50%.

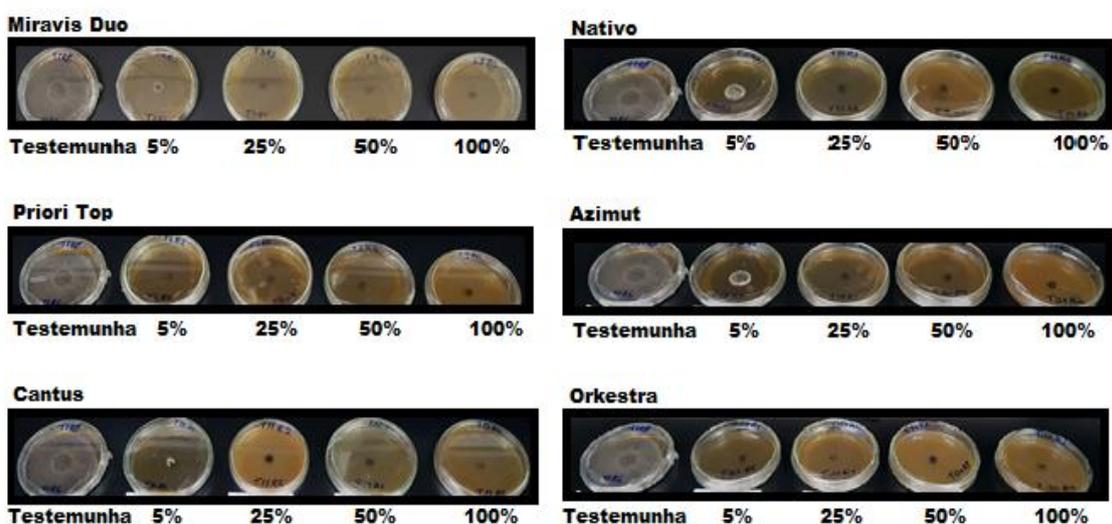
Fonte: do autor (2023)



Fonte: do autor (2023)

Nas demais concentrações (25%, 50% e 100%) o crescimento micelial foi zero para todos os fungicidas, com 100% de eficiência (Figuras 14, 15 e 16).

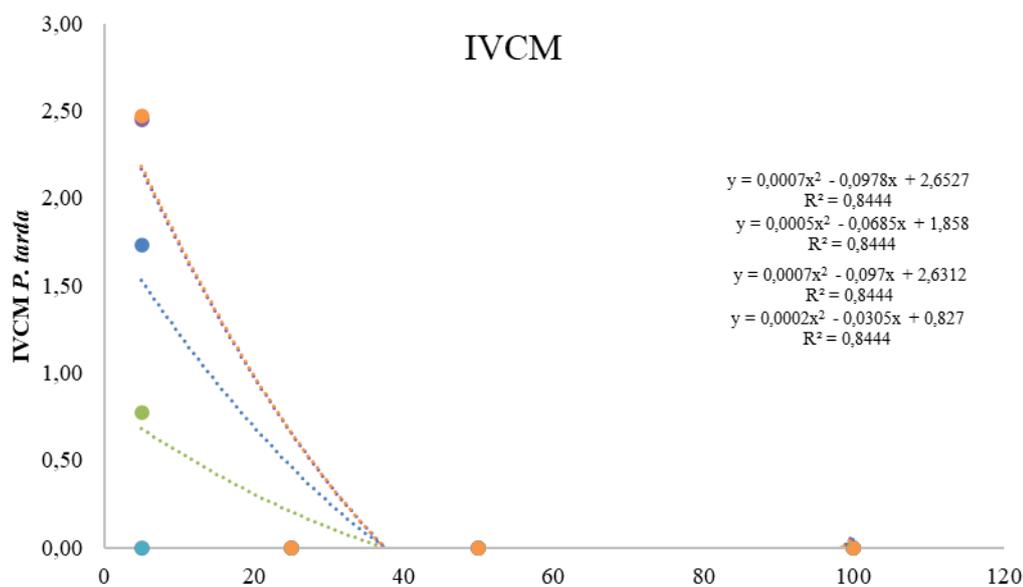
**Figura 15** – Crescimento micelial ‘in vitro’ de *P. tarda* no tratamento sem fungicida (testemunha) e com os diferentes fungicidas nas doses de 5, 25, 50 e 100%, UFLA, Lavras, MG, 2020



Fonte: do autor (2023)

Na análise de regressão, para o ajuste de doses, verificou-se eficiência no controle do crescimento micelial com doses inferiores a 40%, para todos os fungicidas (Figura 16).

**Figura 16** – IVCM do *Phoma tarda* em meio de cultura contendo diferentes fungicidas em diferentes doses, UFLA, Lavras, MG, 2020



Fonte: do autor (2023)

### 5.2.2 Avaliação da Dose Resposta para os IC<sub>50</sub> e IC<sub>90</sub>

Na avaliação da IC<sub>50</sub> de *P. tarda*, os fungicidas Difeno + Pydiflu, Azoxis + Difeno, Boscalida e Pira + Fluxa apresentaram doses inferiores a 1 ppm de fungicida. Já para IC<sub>90</sub>, Difeno + Pydiflu, Azoxis + Difeno e Pira + Fluxa ainda apresentaram dose inferiores a 1 ppm (Tabela 5).

**Tabela 5** – Dados relativos ao IC<sub>50</sub> e IC<sub>90</sub> calculado de *P. tarda*

Fungicida	Ingrediente Ativo	ppm i.a. ou mg/Kg (dose comercial)	ppm i.a. ou mg/Kg (IC <sub>90</sub> )	ppm i.a. ou mg/Kg (IC <sub>50</sub> )
Miravis	Difenoconazol	120	0,69	0,41
Duo	Pydiflumetofen	75	0,43	0,26
Priori Top	Azoxistrobina	200	*Inferior a menor dose testada	*Inferior a menor dose testada
	Difenoconazol	125		
Cantus	Boscalida	187,5	1,05	0,17
Nativo	Tebuconazol	400	2,40	1,47
	Trifloxistrobina	200	1,20	0,73
Azimut	Azoxistrobina	225	1,35	0,80
	Tebuconazol	375	2,25	1,34
Orkestra	Piraclostrobina	333	*Inferior a menor dose testada	*Inferior a menor dose testada
	Fluxapiraxade	167		

i.a = ingrediente ativo. \*IC<sub>50</sub> e IC<sub>90</sub> muito inferior a menor dose testada.

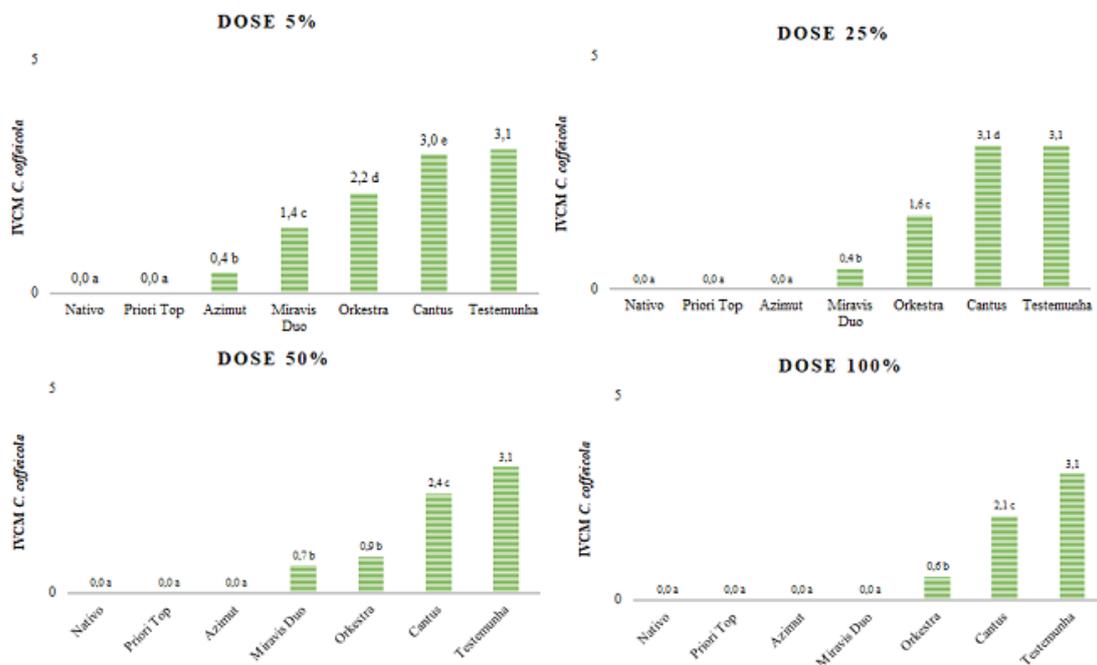
Fonte: do autor (2023)

### **5.3 *Cercospora coffeicola***

#### **5.3.1 Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Cercospora coffeicola***

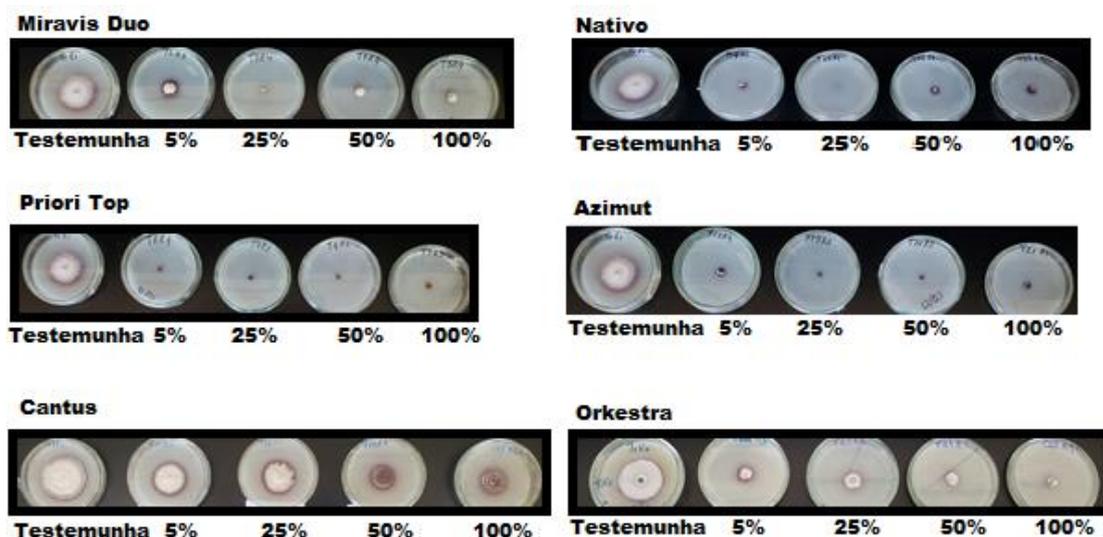
Verificou-se interação ( $p < 0,05$ ) entre doses e fungicidas para o IVCM de *Cercospora coffeicola* (Anexo Tabela 5A). Com o aumento da dose dos fungicidas Difeno + Pydiflu, Pira + Fluxa e Azoxys + Tebuco ocorreu a redução significativa ( $p < 0,05$ ) do crescimento micelial de *C. coffeicola* (Figura 17, 18 e 19).

**Figura 17** – Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de *C. coffeicola* para doses de 5, 25, 50 e 100% dos fungicidas, UFLA, Lavras, MG, 2020



Fonte: do autor (2023)

**Figura 18** – Crescimento micelial ‘in vitro’ de *C. coffeicola* no tratamento sem fungicida (testemunha) e com os diferentes fungicidas nas doses de 5, 25, 50 e 100%, UFLA, Lavras, MG, 2020

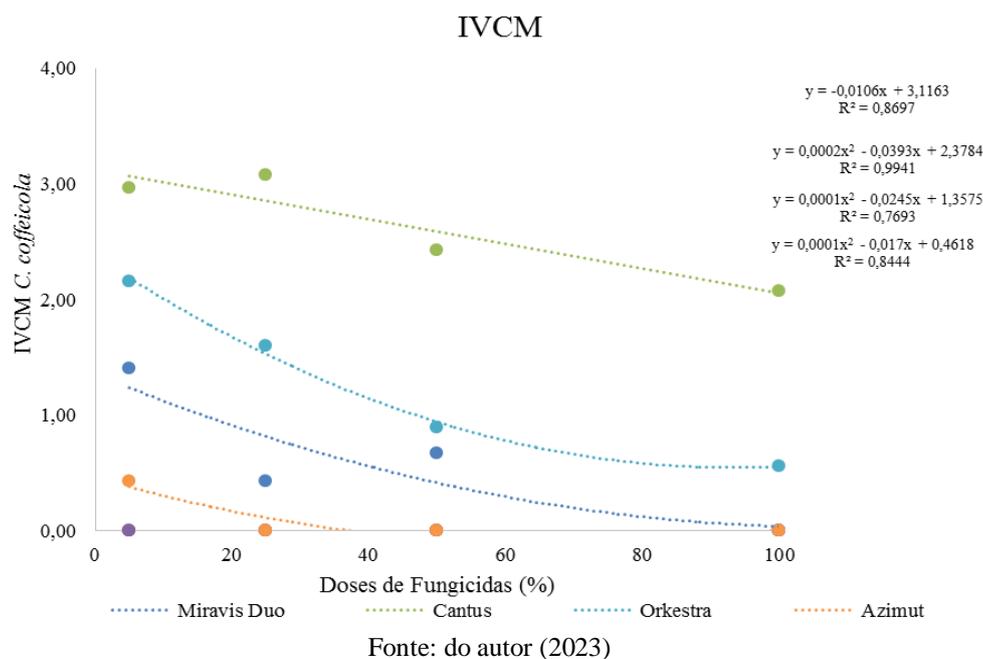


Fonte: do autor (2023)

A dose de 5% inibiu o crescimento micelial com os fungicidas Tebucó + Trifloxy e Azoxys + Difeno. Na dose de 25% houve completa inibição também do Azoxys + Tebucó. A dose de 100% de Boscalida e Pira + Fluxa não inibiu completamente o crescimento do fungo, obtendo inibição completa para os demais

princípios ativos. O maior crescimento micelial, em média 647,6% superior aos demais fungicidas foi o de Boscalida (Figuras 19).

**Figura 19** – IVCM do *Cercóspora coffeicola* em meio de cultura contendo diferentes fungicidas em diferentes doses, UFLA, Lavras, MG, 2020



### 5.3.2 Avaliação da Dose Resposta para os IC<sub>50</sub> e IC<sub>90</sub>

No cálculo da IC<sub>50</sub>, os fungicidas Difeno + Pydiflu, Azoxis + Difeno, Tebucó + Trifloxys e Azoxys + Tebucó, apresentaram dose resposta inferior a 1 ppm. No IC<sub>90</sub>, Azoxis + Difeno e Tebucó + Trifloxys apresentaram dose resposta inferior a 1 ppm (Tabela 6).

**Tabela 6** – Dados relativos ao IC<sub>50</sub> e IC<sub>90</sub> calculado de *C. coffeicola*

Fungicida	Ingrediente Ativo	ppm i.a ou mg/Kg (dose comercial)	ppm i.a ou mg/Kg (IC <sub>90</sub> )	ppm i.a ou mg/Kg (IC <sub>50</sub> )
-----------	-------------------	-----------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------

Miravis	Difenoconazol	120	8,53	0,14
Duo	Pydiflumetofen	75	5,33	0,09
Priori Top	Azoxistrobina	200	*Inferior a menor dose testada	*Inferior a menor dose testada
	Difenoconazol	125		
Cantus	Boscalida	187,5	1,1	18,6
Nativo	Tebuconazol	400	*Inferior a menor dose testada	*Inferior a menor dose testada
	Trifloxistrobina	200		
Azimut	Azoxistrobina	225	5,99	0,00001997
	Tebuconazol	375	9,98	0,00003328
Orkestra	Piraclostrobina	333	105,96	1,15
	Fluxaproxade	167	88,63	0,97

i.a = ingrediente ativo. \*Ec50 e 90 muito inferior a menor dose testada.

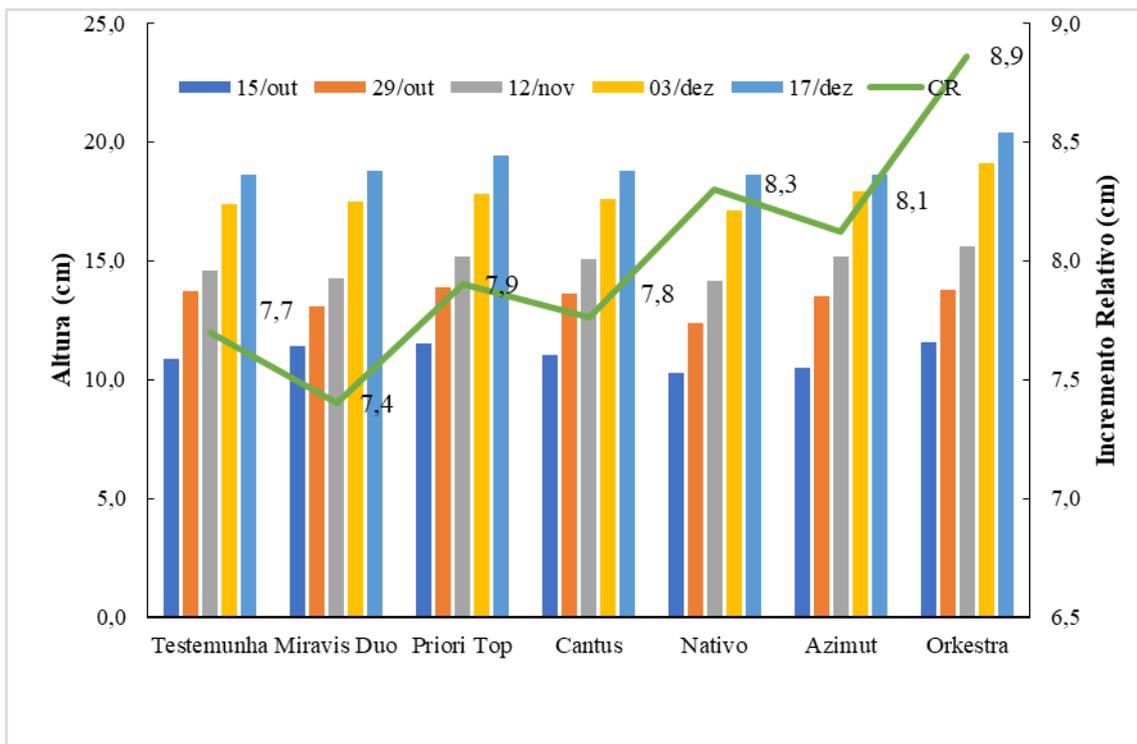
Fonte: do autor (2023)

## 5.4 Efeitos morfológicos e fisiológicos de fungicidas em mudas de cafeeiro (*Coffea arabica*)

### 5.4.1 Altura

Não ocorreu diferença entre os tratamentos e as datas de avaliação ( $p > 0,05$ ) para a altura das mudas (Figura 20, Tabela 7) (Anexo Tabelas 7A – 11A).

**Figura 20** – Altura das mudas de cafeeiro e crescimento relativo (CR), em função dos tratamentos aplicados. UFLA, Lavras/MG, 2020



Fonte: do autor (2023)

**Tabela 7** – Altura das mudas de cafeeiro em função dos tratamentos aplicados, em diferentes datas. Lavras-MG, 2020

Tratamentos	15/out	29/out	E(%)	12/nov	E (%)	03/dez	E (%)	17/dez	E (%)	CR	E (%)
Testemunha	10,9 a	13,7 a	-	14,6 a	-	17,4 a	-	18,6 a	-	7,7 a	-
Difeno + Pydiflu	11,4 a	13,1 a	-4,58	14,26 a	-2,38	17,5 a	0,57	18,8 a	1,06	7,4 a	-4,05
Azoxis + Difeno	11,5 a	13,9 a	1,44	15,2 a	3,95	17,8 a	2,25	19,4 a	4,12	7,9 a	2,53
Boscalida	11,06 a	13,6 a	-0,74	15,06 a	3,05	17,6 a	1,14	18,8 a	1,06	7,76 a	0,77
Tebuco + Trifloxys	10,3 a	12,4 a	-10,48	14,16 a	-3,11	17,1 a	-1,75	18,6 a	0,00	8,3 a	7,23
Azoxys + Tebuco	10,52 a	13,5 a	-1,48	15,2 a	3,95	17,9 a	2,79	18,6 a	0,00	8,12 a	5,17
Pira + Fluxa	11,56 a	13,8 a	0,72	15,6 a	6,41	19,1 a	8,90	20,4 a	8,82	8,86 a	13,09

E (%) – Porcentagem de Eficácia de Abbott; CR – Crescimento relativo; médias seguidas por mesmas letras na linha não diferem entre si por meio no teste Tukey ( $p < 0,05$ ). O

CR referente à testemunha é relativo ao crescimento inicial e não à testemunha.

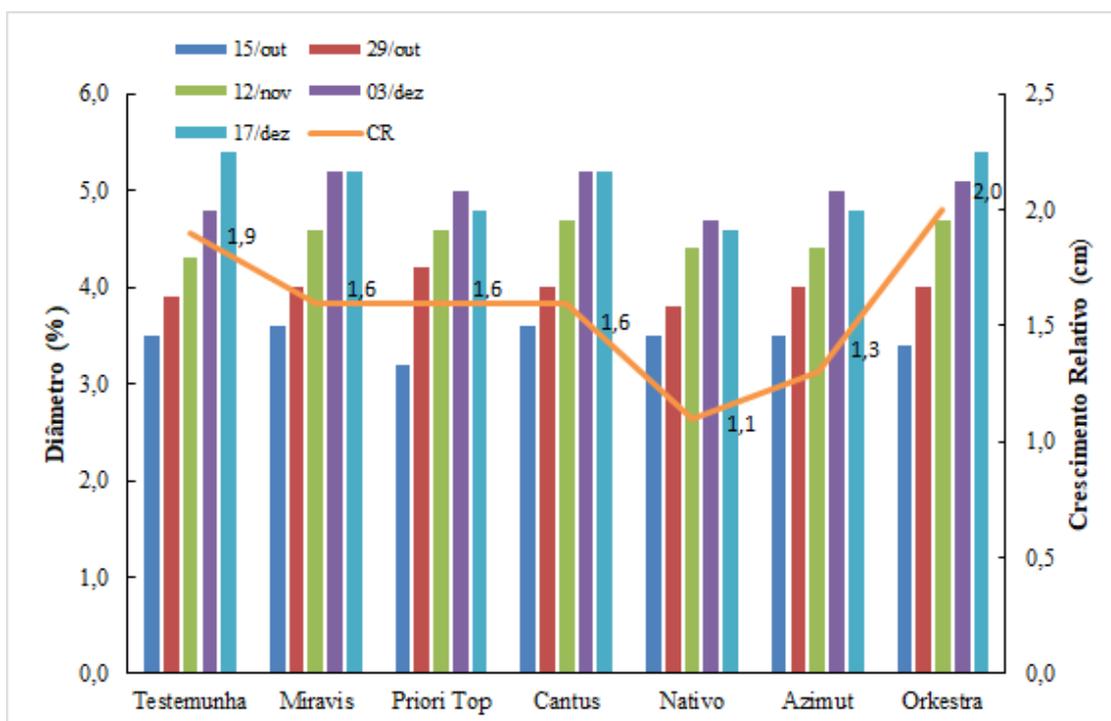
Fonte: do autor (2023)



### 5.4.2 Diâmetro

Foram realizadas cinco avaliações do diâmetro das mudas, em 15/10/2020, 29/10/2020, 12/11/2020, 03/12/2020 e 17/12/2020. Não houve diferença ( $p < 0,05$ ) no diâmetro das mudas entre os tratamentos, em todas as datas avaliadas (Figura 21 – Anexo Tabela 13A - 17A).

**Figura 22** – Diâmetro das mudas de cafeeiro, em função dos tratamentos aplicados. UFLA, Lavras/MG, 2020



Fonte: do autor (2023)

O tratamento com maior diâmetro em relação à testemunha foi Pira + Fluxa com incremento de 5,0% (Tabela 8), porém não houve diferença significativa entre os tratamentos.

**Tabela 8** – Diâmetro das mudas de cafeeiro em função dos tratamentos aplicados. Lavras-MG, 2020

<b>Tratamentos</b>	<b>AVAL 1</b>	<b>AVAL 2</b>	<b>E(%)</b>	<b>AVAL 3</b>	<b>E (%)</b>	<b>AVAL 4</b>	<b>E (%)</b>	<b>AVAL 5</b>	<b>E (%)</b>	<b>CR</b>	<b>E (%)</b>
Testemunha	3,5 a	3,9 a	-	4,3 a	-	4,8 a	-	5,4 a	-	1,9 a	-
Difeno + Pydiflu	3,6 a	4,0 a	2,50	4,6 a	6,52	5,2 a	7,69	5,2 a	-3,85	1,6 a	-18,75
Azoxis + Difeno	3,2 a	4,2 a	7,14	4,6 a	6,52	5,0 a	4,00	4,8 a	-12,50	1,6 a	-18,75
Boscalida	3,6 a	4,0 a	2,50	4,7 a	8,51	5,2 a	7,69	5,2 a	-3,85	1,6 a	-18,75
Tebuco + Trifloxys	3,5 a	3,8 a	-2,63	4,4 a	2,27	4,7 a	-2,13	4,6 a	-17,39	1,1 a	-72,73
Azoxys + Tebuco	3,5 a	4,0 a	2,50	4,4 a	2,27	5,0 a	4,00	4,8 a	-12,50	1,3 a	-46,15
Pira + Fluxa	3,4 a	4,0 a	2,50	4,7 a	8,51	5,1 a	5,88	5,4 a	0,00	2,0 a	5,00

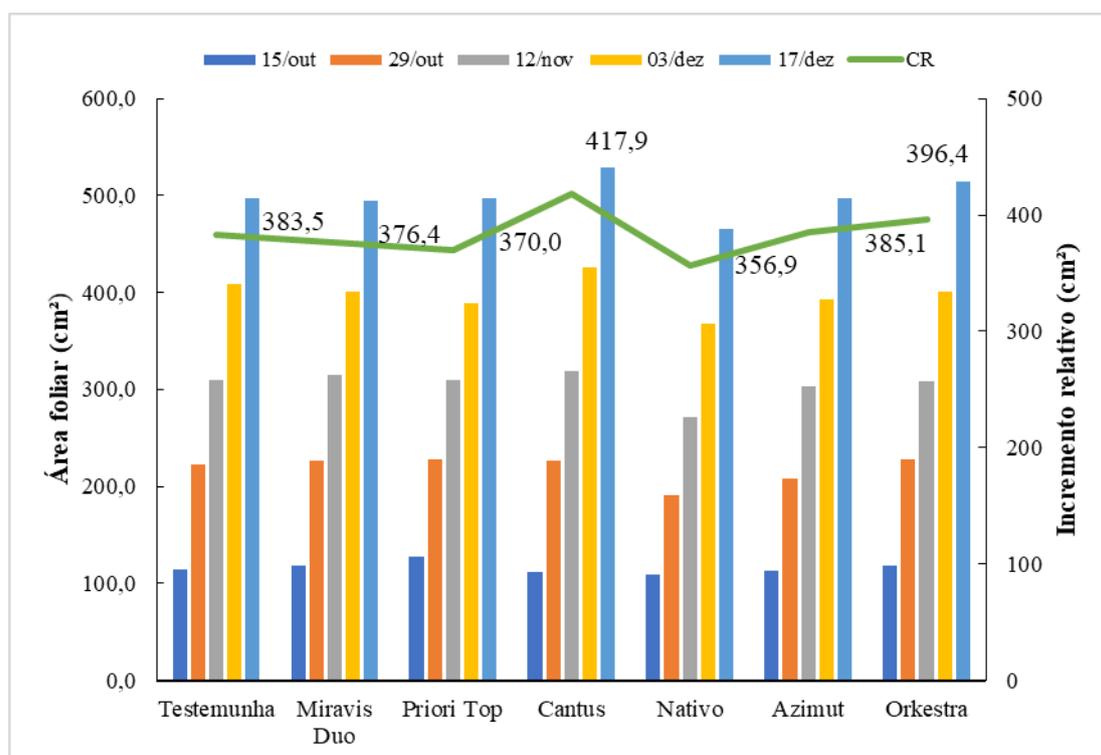
E(%) – Porcentagem de Eficácia de Abbott; CR – Crescimento relativo; médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si por meio do teste Tukey ( $p < 0,05$ ). O CR referente à testemunha é relativo ao crescimento inicial e não à testemunha.

Fonte: do autor (2023)

### 5.4.3 Área foliar

Não houve diferença ( $p>0,05$ ) para a área foliar entre os tratamentos avaliados (Anexo Tabelas 19A – 23A, Figura 22).

**Figura 22** – Área foliar em mudas de cafeeiro em função dos tratamentos aplicados. UFLA, Lavras/MG, 2020



Fonte: do autor (2023)

Os tratamentos com maior incremento relativo em relação a testemunha foram Boscalida e Pira + Fluxa com 8,23 e 3,26%, respectivamente (Tabela 9).

**Tabela 9** – Área foliar das mudas de cafeeiro em função dos tratamentos aplicados. Lavras-MG, 2020

<b>Tratamentos</b>	<b>15/out</b>	<b>29/out</b>	<b>E (%)</b>	<b>12/nov</b>	<b>E (%)</b>	<b>03/dez</b>	<b>E (%)</b>	<b>17/dez</b>	<b>E (%)</b>	<b>CR</b>	<b>E (%)</b>
Testemunha	114,28 a	222,4 a	-	310,30 a	-	409,20 a	-	497,80 a	-	383,52 a	-
Difeno + Pydiflu	118,44 a	226,1 a	1,64	315,50 a	1,65	400,72 a	-2,12	494,80 a	-0,61	376,36 a	-1,90
Azoxis + Difeno	127,00 a	228,1 a	2,50	309,62 a	-0,22	389,54 a	-5,05	496,96 a	-0,17	369,96 a	-3,67
Boscalida	111,50 a	226,0 a	1,59	319,52 a	2,89	426,22 a	3,99	529,42 a	5,97	417,92 a	8,23
Tebuco + Trifloxys	108,46 a	190,3 a	-16,87	272,00 a	-14,08	367,70 a	-11,29	465,34 a	-6,98	356,88 a	-7,46
Azoxys + Tebuco	112,72 a	207,4 a	-7,23	302,68 a	-2,52	393,02 a	-4,12	497,80 a	0,00	385,08 a	0,41
Pira + Fluxa	117,74 a	227,3 a	2,16	308,14 a	-0,70	400,52 a	-2,17	514,18 a	3,19	396,44 a	3,26

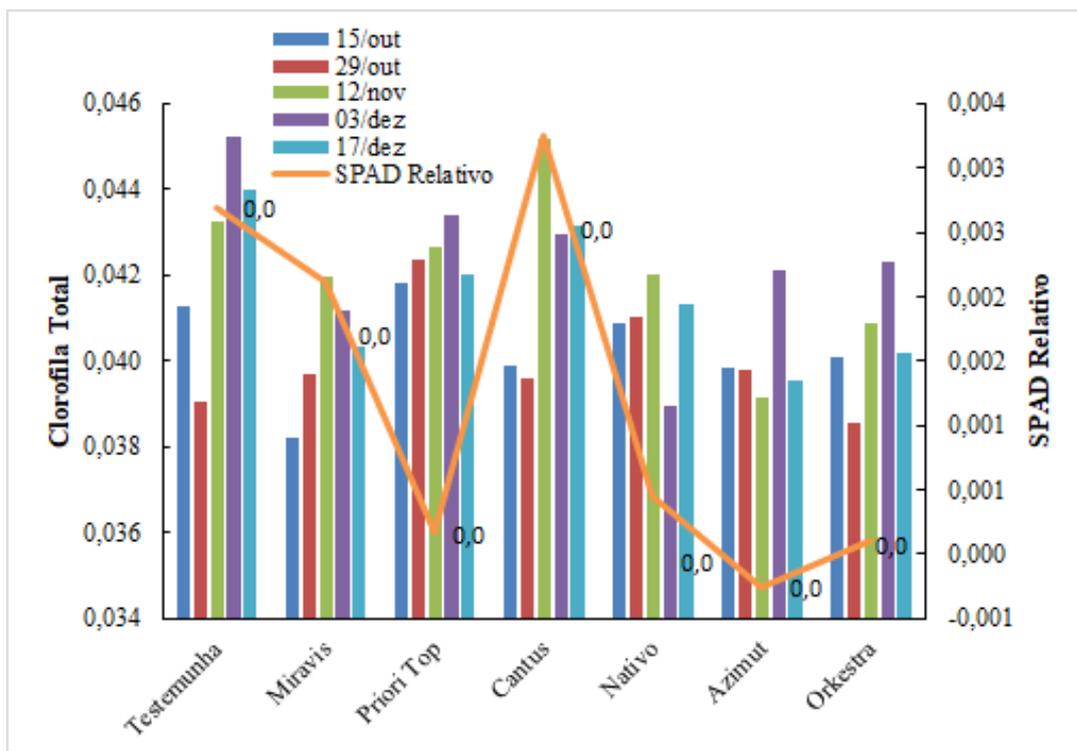
E(%) – Porcentagem de Eficácia de Abbott; médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si por meio do teste Tukey ( $p < 0,05$ ). O CR referente à testemunha é relativo ao crescimento inicial e não à testemunha.

Fonte: do autor (2023)

#### 5.4.4 Teor de clorofila das plantas

Não houve diferença ( $p > 0,05$ ) no teor de clorofila entre os tratamentos (Figura 23 – Anexo Tabelas 25A – 29A), avaliados por índice SPAD.

**Figura 23** – Índice SPAD em mudas de cafeeiro, em função dos tratamentos aplicados.  
UFLA, Lavras/MG, 2020



Fonte: do autor (2023)

Os tratamentos com maior crescimento relativo em relação à Testemunha foram Boscalida e Difeno + Pydiflu, com 0,003% e 0,002%, respectivamente (Tabela 10).

**Tabela 10** – Índice SPAD em mudas de cafeeiro em função dos tratamentos aplicados. UFLA, Lavras, 2020

Tratamentos	15/out	29/out	E(%)	12/nov	E (%)	03/dez	E (%)	17/dez	E (%)	SPAD Relativo
Testemunha	0,041 a	0,039 a	-	0,043 a	-	0,045 a	-	0,044 a	-	0,003 a
Difeno + Pydiflu	0,038 a	0,038 a	-1,60	0,042 a	-3,03	0,041 a	-9,72	0,040 a	-8,97	0,002 a
Azoxis + Difeno	0,042 a	0,042 a	6,24	0,043 a	-1,34	0,043 a	-4,13	0,042 a	-4,66	0,000 a
Boscalida	0,039 a	0,040 a	-0,23	0,045 a	4,31	0,043 a	-5,25	0,043 a	-1,93	0,003 a
Tebuco + Trifloxys	0,041 a	0,041 a	3,25	0,042 a	-2,93	0,039 a	-16,08	0,041 a	-6,41	0,000 a
Azoxys + Tebuco	0,040 a	0,040 a	0,21	0,039 a	-10,45	0,042 a	-7,38	0,040 a	-11,14	0,000 a
Pira + Fluxa	0,040 a	0,040 a	-2,97	0,041 a	-5,78	0,042 a	-6,79	0,040 a	-9,43	0,000 a

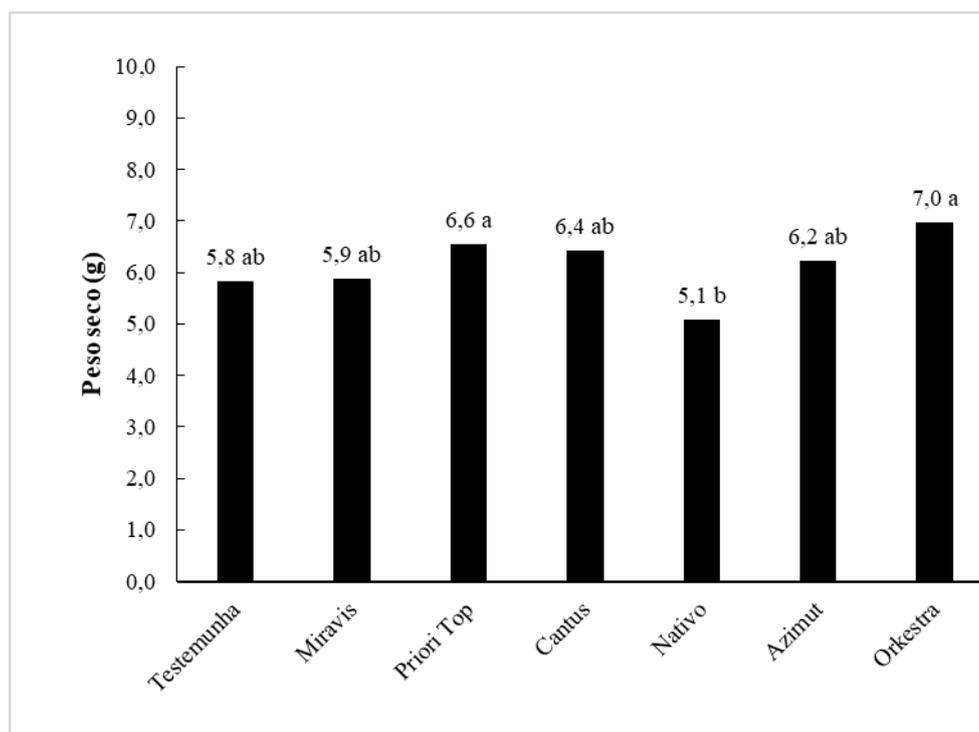
E(%) – Porcentagem de Eficácia de Abbott; médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si por meio do teste Tukey ( $p < 0,05$ ). O CR referente à testemunha é relativo ao crescimento inicial e não à testemunha.

Fonte: do autor (2023)

#### 5.4.5 Peso da parte aérea das mudas secas

Verificou-se diferença ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos para o peso da parte aérea das mudas secas (Anexo Tabela 31A). O tratamento Tebucó + Trifloxys foi inferior ao Pira + Fluxa e ao Azoxis + Difeno (Figura 24). Os demais tratamentos não diferiram entre si e entre o controle.

**Figura 24** – Peso da parte aérea seca das mudas de cafeeiro, em função dos tratamentos aplicados. UFLA, Lavras/MG, 2020



Fonte: do autor (2023)

O maior peso da parte aérea seca das mudas, foi observado para o tratamento Pira + Fluxa e Azoxis + Difeno, apresentando incremento de 19 e 12% em relação ao controle.

#### 5.4.6 Fenóis totais

Não houve diferença ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos, após 12 e 24 horas. Após 48 horas verificou-se diferentes comportamentos dos tratamentos, sendo os tratamentos Boscalida, Azoxys + Tebucó e Pira + Fluxa superiores a Tebucó + Trifloxys, Difeno + Pydiflu e Azoxis + Difeno. Após 72 horas, Difeno + Pydiflu foi superior ( $p < 0,05$ ) ao demais tratamentos. Aos trinta dias decorridos da pulverização, os tratamentos Azoxys

+ Tebuco, Boscalida, Difeno + Pydiflu apresentaram maiores ( $p < 0,05$ ) valores de fenóis totais, não diferindo da testemunha (Tabela 11, Figura 25 – Anexos Tabelas 32A – 37A).

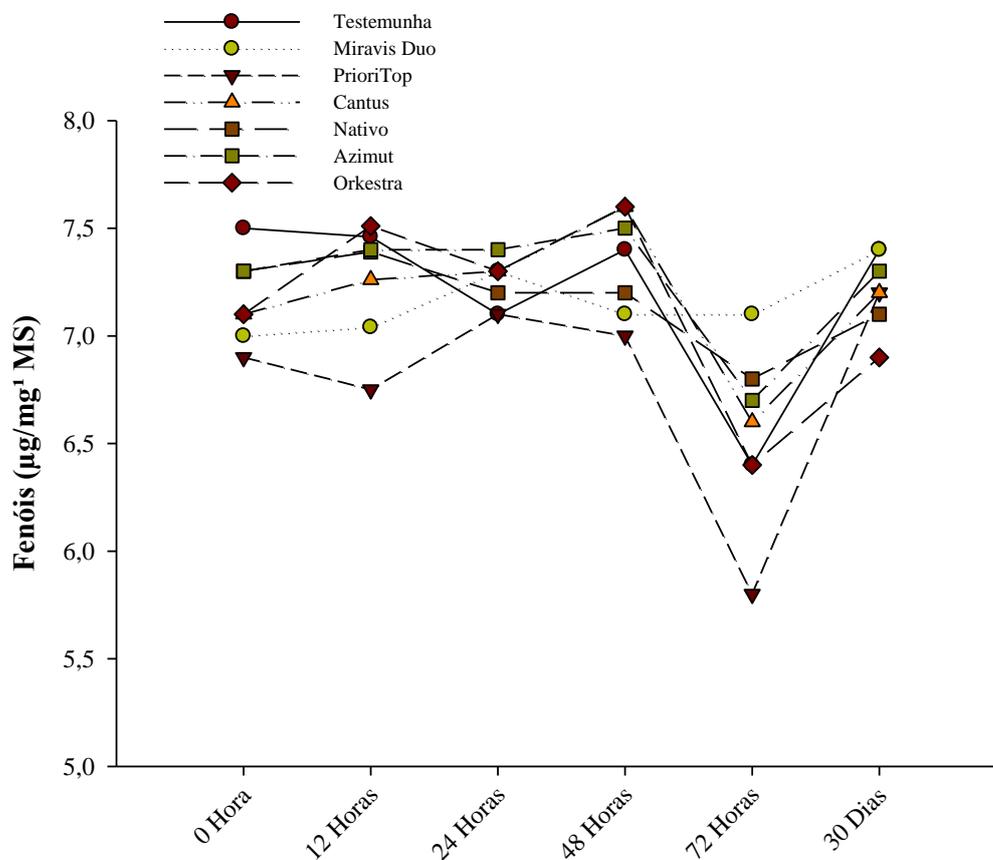
**Tabela 11** – Índice de fenóis totais em folhas de mudas de cafeeiro em função dos tratamentos aplicados. UFLA, Lavras/MG, 2020

<b>Tratamento</b>	<b>12 Horas</b>	<b>E (%)</b>	<b>24 Horas</b>	<b>E (%)</b>	<b>48 Horas</b>	<b>E (%)</b>	<b>72 Horas</b>	<b>E (%)</b>	<b>30 Dias</b>	<b>E (%)</b>
Testemunha	7,46 a	-	7,08 a	-	7,42 a	-	6,44 b	-	7,36 a	-
Difeno + Pydiflu	7,04 a	4,53	7,27 a	-2,68	7,10 b	4,31	7,10 a	-10,25	7,41 a	-0,68
Azoxis + Difeno	6,75 a	8,26	7,10 a	-0,28	6,99 b	5,80	5,82 c	9,63	7,15 b	2,85
Boscalida	7,26 a	0,93	7,31 a	-3,25	7,55 a	-1,75	6,57 b	-2,02	7,21 a	2,04
Tebuco + Trifloxys	7,39 a	-3,86	7,20 a	-1,69	7,15 b	3,64	6,77 b	-5,12	7,08 b	3,80
Azoxys + Tebuco	7,40 a	1,07	7,38 a	-4,24	7,48 a	-0,81	6,68 b	-3,73	7,34 a	0,27
Pira+Fluxa	7,51 a	0,00	7,33 a	-3,53	7,64 a	-2,96	6,36 b	1,24	6,87 b	6,66
CV (%)	5,47	8,18	3,32	2,89	4,17	3,29				

E(%) – Porcentagem de Eficácia de Abbott. Médias seguidas de mesma letra são estatisticamente iguais no teste Scott knott ( $p < 0,05$ ). O CR referente à testemunha é relativo ao crescimento inicial e não à testemunha.

Fonte: do autor (2023)

**Figura 25** – Fenóis totais em folhas de mudas de cafeeiro em função dos tratamentos aplicados. UFLA, Lavras/MG, 2020

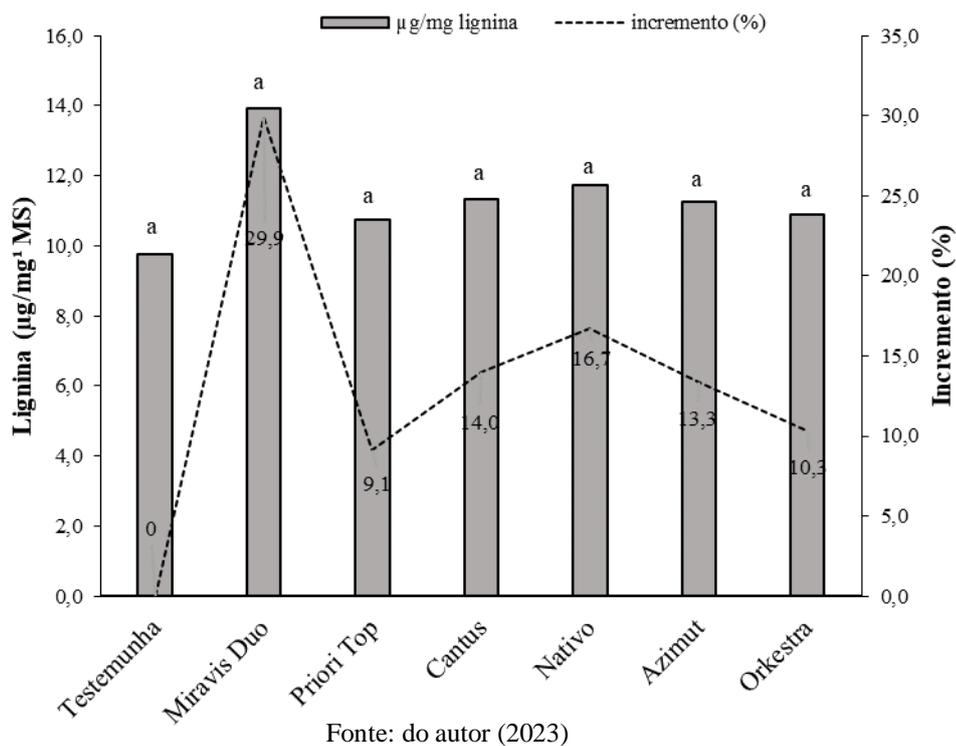


Fonte: do autor (2023)

#### 5.4.7 Teores de lignina

Não houve diferença ( $p > 0,05$ ) no teor de lignina entre os tratamentos (Anexo Tabela 38A). No entanto, Difeno + Pydiflu proporcionou incremento de aproximadamente 30% na quantidade de lignina em relação à testemunha (Figura 26).

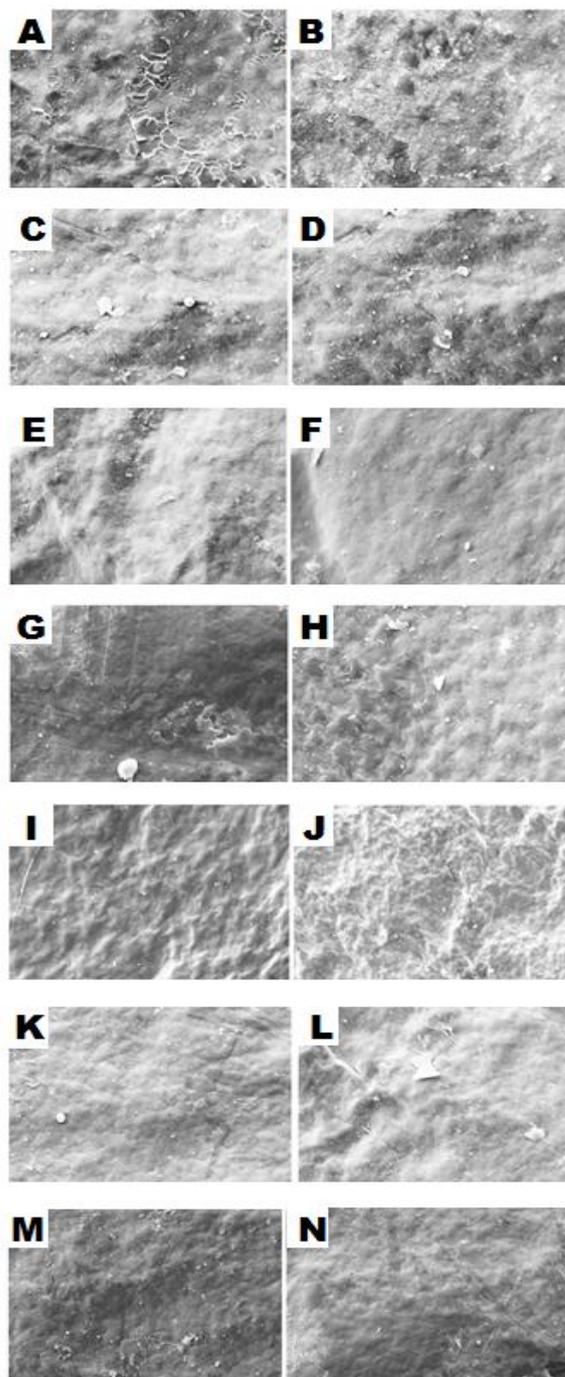
**Figura 26** – Efeito dos tratamentos sobre o teor de lignina solúvel total e incremento proporcionado neste. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% no teste Tukey



#### 5.4.8 Camada de cera

Observou-se em todos os tratamentos com fungicidas, exceto a testemunha, incrementos visíveis ao microscópio eletrônico de varredura na camada de cera da superfície superior das folhas das mudas de cafeeiro (Figura 27).

**Figura 27** – Imagens vistas ao microscópio eletrônico de varredura da superfície superior de folhas de mudas do cafeeiro da testemunha (A e B), do tratamento com Azoxis + Difeno (C e D), Pira + Fluxa (E e F), com Tebucó + Trifloxys (G e H), Difeno + Pydiflu (I e J), Boscalida (K e L) e Azoxys + Tebucó (M e N)



Fonte: do autor (2023)

#### 5.4.9 Fitotoxidez

Não se observou sintomas de fitotoxidez nos tratamentos avaliados.

## 6. DISCUSSÃO

Foi possível determinar, ‘in vitro’, a dose-resposta de fungicidas inibidores da demetilação (DMI), da quinona oxidase (QoI) e da succinato dehydrogenase (SDHI), na inibição de crescimento micelial dos fungos *Cercospora coffeicola*, *Phoma tarda* e *Colletotrichum gloeosporioides*.

Determinar a menor concentração ou dose resposta para estudos ‘in vitro’ ou em laboratório é importante para tornar mais rápido o processo de seleção das melhores moléculas e o processo sustentável, evitando pulverizações excessivas e a seleção de patógenos resistentes no campo.

Devido às condições ‘in vitro’, as doses utilizadas em laboratório são inferiores às utilizadas em campo, pois o micélio ou os esporos do fungo estudado fica em contato direto com o fungicida em toda área do crescimento micelial, sem a necessidade de transpor barreiras, por exemplo, a cutícula e as células do hospedeiro, para entrar em contato com o patógeno. Porém, no campo o produto é pulverizado sobre as plantas na área foliar, sendo muitas vezes, misturado com outras moléculas no tanque do equipamento, perdido entre o equipamento de pulverização e o alvo, por deriva, por evaporação e, muitas vezes, não proporciona boa cobertura foliar em ambas as faces da folha. Além disso, após serem depositados nessa superfície, se forem sistêmicos, caso dos produtos estudados, é necessário atravessar a cutícula e sua camada de cera e as células do parênquima para encontrar o fungo e ser absorvido por seu micélio. Ou seja, são diversas barreiras para essas moléculas transporem, com perdas da quantidade da dose pulverizada durante seu preparo e essa movimentação. Segundo Holownicki et al. (2000), os turboatomizadores são os mais utilizados em culturas arbustivas, por serem fáceis de operar e efetivos no controle de pragas e doenças. Entretanto, segundo esses autores a pulverização com turboatomizadores se caracteriza como um processo ineficiente, devido às perdas ultrapassarem mais de 50% da dose dos produtos aplicados.

Em relação às misturas de tanque, praticadas usualmente por cafeicultores, podem interferir na eficiência das moléculas para controlar as doenças, assim como vários outros fatores, entre eles, a qualidade da água a ser utilizada na pulverização, a interação das moléculas com exsudatos foliares e até mesmo a qualidade das formulações quanto ao tamanho das partículas pode influenciar na absorção através da cutícula e seu comportamento dentro dos parênquimas paliçádico e lacunoso até

encontrar o patógeno. Também devem ser levados em consideração fatores ambientais, temperatura, umidade relativa do ar e molhamento foliar (BARTELEGA, 2022).

Evidenciando as condições relatadas, para o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, a dose resposta indicada para estudos do crescimento micelial e IVCM é equivalente a 5 % da dose de campo para Azoxys 11,3 ppm + Tebucos 18,8 ppm, Tebucos 20 ppm + Trifloxys 10 ppm, Azoxis 10 ppm + Difeno 6,3 ppm e Difeno 6,3 ppm + Pydiflu 3,8 ppm. Para estes fungicidas, nessas concentrações, o controle do crescimento micelial foi respectivamente, 91,9%, 83,8%, 78,5% e 76,1%. Os fungicidas Boscalida e Pira + Fluxa não afetaram o crescimento micelial de acordo com o aumento da dose. Azoxys + Tebucos, Tebucos + Trifloxys, Azoxis + Difeno e Difeno + Pydiflu têm em sua formulação fungicidas do grupo dos triazóis e, comparados aos demais tratamentos Boscalida e Pira + Fluxa, demonstram o quanto os triazóis tebuconazol e difenoconazol interferem diretamente nos resultados, evidenciando a importância de praticar o uso desses ativos no controle do *Colletotrichum gloeosporioides*.

Com o aumento das doses dos fungicidas Azoxys + Tebucos, Tebucos + Trifloxys, Azoxis + Difeno e Difeno + Pydiflu ocorreu discreta redução do crescimento micelial do *C. gloeosporioides*, apesar de, nas menores doses, já haver redução significativa do crescimento. Já para o fungicida Pira + Fluxa e Boscalida, mesmo aumentando as doses, não houve redução significativa do crescimento micelial. O Difeno + Pydiflu, mesmo tendo uma carboxamida, porém com um pirazol e um radical específico, já obteve redução no crescimento micelial. Os fungicidas Azoxys 225 ppm + Tebucos 375 ppm e Tebucos 400 ppm + Trifloxys 200 ppm na dose de 100% foram capazes de inibir completamente o crescimento micelial.

Ferreira et al. (2009) avaliando diferentes fungicidas no controle do crescimento micelial 'in vitro' de *C. gloeosporioides*, também verificaram nos tratamentos contendo Triazol alta eficiência na inibição do crescimento micelial. Enquanto a partir da concentração de 25 ppm e 500 ppm de tetraconazol e de triadimenol, respectivamente, houve paralização do crescimento micelial. Além disso, esses autores também verificaram efeito linear negativo no crescimento micelial de acordo com o aumento das doses desses triazóis.

Os autores utilizaram o Triazol sem combinação com outros grupos químicos. Porém, de acordo com alguns estudos, o seu uso indiscriminado e sem associações, pode resultar em seleção de isolados resistentes (MA et al., 2002). Sendo esta uma das principais causas da perda de eficácia dos triazóis em alguns patógenos (PEREIRA;

MCDONALD; BRUNNER, 2016; CERESINI et al., 2018). Por isso, é importante avaliar misturas de fungicidas no controle de doenças, de forma a evitar resistência a eles.

As combinações de Estrobilurina e Triazol ou ainda com uma Carboxamida, caso do Difeno + Pydiflu, proporcionaram menor crescimento micelial nesse estudo. A eficácia da Azoxistrobina no controle de *C. gloeosporioides* 'in vitro' também é relatada na literatura (SUNDRAVADANA et al., 2007). Nesse estudo a Azoxis a 0,25 e 0,5 ppm inibiu ligeiramente o crescimento micelial, e acima de 1 ppm inibiu completamente.

A inibição total do crescimento micelial foi observada na dose de campo de 100% dos tratamentos Azoxys 225 ppm + Tebuco 375 ppm e Tebuco 400 ppm + Trifloxys 200 ppm, fungicidas com Tebuconazol, do grupo dos triazóis. Já os tratamentos com Azoxis + Difeno e Difeno + Pydiflu contendo em suas formulações o Difenoconazol, também do grupo dos triazóis, não inibiram totalmente o crescimento micelial com a dose de campo. De acordo com Tavares e Souza (2005) mesmo dentro do grupo dos triazóis pode existir diferença na eficiência do ingrediente ativo, fato observado por esses autores, entre o Tebuconazol e o Propiconazol, no crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, isolado do mamão.

Segundo Costa et al. (2020), as variações na eficiência dos triazóis e na sensibilidade do isolado do fungo a esses derivados, podem ser explicadas por interação das moléculas com seu sítio de ação no patógeno. Vários fatores podem impedir o fungicida de atingir o alvo, como alteração do sítio alvo, superexpressão da proteína alvo, desencadeada devido ao acúmulo de fungicida na célula, e efluxo do fungicida do local alvo.

No cálculo do IC<sub>50</sub>, observou-se os fungicidas Difeno + Pydiflu, Azoxis + Difeno, Tebuco + Trifloxys e Azoxys + Tebuco com valores abaixo de 0,1 ppm i.a. De acordo com a definição proposta por Edgington, Khew e Barron (1971) esses fungicidas são altamente fungitóxico (IC<sub>50</sub><1 ppm), enquanto Boscalida e Pira + Fluxa não apresentaram fungitoxicidade (IC<sub>50</sub> > 100 ppm) para *C. gloeosporioides*. Quanto menor o IC<sub>50</sub>, maior a toxicidade da molécula. A eficiência de fungicidas triazóis na inibição do crescimento micelial 'in vitro' de espécies de *Colletotrichum* também foi verificada em outros trabalhos (FREEMAN et al., 1997). Para outra espécie, o *C.* e observada inibição do crescimento micelial em concentrações inferiores a 1ppm.

Ferreira et al. (2009) avaliando o IC<sub>50</sub> de *C. gloeosporioides* verificaram para o Triadimenol isolado, pertencente ao grupo dos triazóis, IC<sub>50</sub> igual a 11,4 ppm, sendo

classificado de baixa eficiência. Já o Tetraconazol apresentou IC<sub>50</sub> menor que 1 ppm (FERREIRA et al., 2009). Nesse sentido, é possível verificar o IC<sub>50</sub> apresentando diferentes comportamentos, inclusive para fungicidas pertencentes ao mesmo grupo químico, como neste caso, no qual os fungicidas testados pertencem aos triazóis. Esse comportamento também foi verificado para o crescimento micelial, e provavelmente possui as mesmas explicações relatadas para essa variável.

Já o IC<sub>90</sub>, variou de 4,75 a 132,79 ppm i.a. Os menores valores foram observados para o fungicida Azoxys + Tebucos, seguido do Tebucos + Trifloxys, ambos possuem o Tebuconazol na composição e são moderadamente fungitóxicos (IC<sub>90</sub> entre 1-50 – EDGINGTON; KHEW; BARRON, 1971).

Liberato e Tagagiba (2001) também utilizaram fungicidas inibidores da demetilação de esteróis (Triadimenol, Tebuconazol, Propiconazol e Prochloraz) na avaliação do *C. gloeosporioides* 'in vitro'. Os autores testaram doses de 1, 10, 50 e 100 ppm. O IC<sub>90</sub> observado foi de 54,4 ppm para Triadimenol, 8 para Tebuconazol, 6,6 para Propiconazol e <1 ppm para Prochloraz. Os triazóis testados apresentaram diferentes respostas, de alta a nenhuma toxicidade sobre o patógeno (EDGINGTON; KHEW; BARRON, 1971).

Sendo assim, os tratamentos com os fungicidas, exceto Boscalida e Pira + Fluxa, reduziram o crescimento micelial "in vitro" em relação à testemunha, contudo, a inibição total só foi obtida com o Azoxys + Tebucos e Tebucos + Trifloxys na dose utilizada em campo. Os fungicidas Azoxys + Tebucos, Tebucos + Trifloxys, Azoxis + Difeno e Difeno + Pydiflu apresentaram IC<sub>50</sub> inferior a 0,01, 0,07, 0,05 e 0,04 respectivamente, demonstrando assim, alta toxicidade ao patógeno. Para o IC<sub>90</sub> o menor valor foi do Azoxys + Tebucos (4,75 + 7,91 ppm), seguido por Tebucos + Trifloxys (13,32 + 26,64 ppm), Azoxis + Difeno (43,09 + 68,94 ppm) e Difeno + Pydiflu (83 + 132,79 ppm).

Para avaliação 'in vitro' do Crescimento micelial de *P. tarda*, a dose resposta recomendada também é a de 5% da dose de campo, sendo Pira 25 ppm + Fluxa 12,5 ppm, Azoxis 10 ppm + Difeno 6,3 ppm, Boscalida 9,4 ppm, Difeno 6,3 ppm + Pydiflu 3,8 ppm, Tebucos 20 ppm + Trifloxys 10 ppm e Azoxys 11,3 ppm + Tebucos 18,8 ppm, inibindo 100%, 100%, 90%, 78,8%, 71,3% e 68,9 % do crescimento micelial respectivamente. A partir da dose de 25%, todos os fungicidas inibiram em 100% o crescimento micelial.

Assim sendo, ressalta-se a combinação dos fungicidas Triazol, Carboxamida, incluindo a Boscalida/Anilida e também Estrobilurina como eficientes na redução de 100% do crescimento de *P. tarda*. Segundo Herzog et al. (2018) e Vilela (2020) a associação de fungicidas tem proporcionado melhor controle de fitopatógenos com maior período residual, vigor da planta e incremento na produtividade do cafeeiro. Por outro lado, menores doses, podem apresentar baixas toxicidades para os patógenos em plantas (CHAVES NETO et al., 2020). Ou seja, podem não controlar o patógeno, levando-o a adquirir resistência ao fungicida.

A efetividade de fungicidas Estrobilurina e Triazol no controle de *P. tarda* já foi verificada em estudo realizado por Zamalloa (2015). Esse autor testou ‘in vitro’, doses baixas (0,05%), média (0,25%) e alta (0,5%) em relação às recomendações de campo, no crescimento micelial de *P. tarda*, enquanto que neste estudo testou-se doses de 5%, 25%, 50% e 100%. Verificou total inibição do crescimento micelial com a utilização da dose mais baixa do fungicida Tebuco + Trifloxys (Triazol + Estrubilurina) e Silvacur combi 300 (Triadimenol + Tebuconazol – Triazol + Triazol). Contudo, o autor também citou a não inibição do crescimento micelial com o emprego de somente uma estrobilurina, a Trifloxistrobina (Flint) em nenhuma das doses testadas. Sendo assim, apresente-se favorável a combinação de diferentes grupos químicos de fungicidas para aumentar a eficiência do controle.

Todavia, na avaliação ‘in vitro’ de fungos com utilização de fungicidas é importante observar diferentes fatores, um deles é a temperatura. No caso de *P. tarda*, a temperatura ótima para se avaliar o crescimento é de 22,9 °C (LORENZETTI et al., 2015). No estudo de Zamalloa (2015), foi utilizada a temperatura de 25,0 °C e no presente estudo se utilizou 21,0 °C. A temperatura utilizada por Zamalloa (2015) pode ter sido um dos fatores influenciando negativamente a eficiência da Estrobilurina no crescimento micelial do fungo.

A efetividade dos fungicidas utilizados no controle ‘in vitro’ de *P. tarda*, de acordo com Zamalloa (2015), pode ser devido ao mecanismo de ação dos diferentes ingredientes ativos, pois, uma vez penetrado no esporo do fungo, atinge rapidamente o local de ação do fungo, antes da sua penetração. Todavia, os estudos ‘in vitro’ do controle de *P. tarda* com a utilização de diferentes fungicidas são limitados, assim, este estudo pode contribuir com futuras pesquisas envolvendo o controle químico desse patógeno no laboratório.

Na avaliação do IC<sub>50</sub>, os fungicidas Difeno + Pydiflu (IC<sub>50</sub> 0,41 ppm), Azoxis + Difeno (IC<sub>50</sub> inferior a menor dose testada), Boscalida (IC<sub>50</sub> 0,17 ppm) e Pira + Fluxa (IC<sub>50</sub> inferior a menor dose testada) foram altamente fungitóxicos. Já para IC<sub>90</sub>, Difeno + Pydiflu (IC<sub>90</sub> 0,69 ppm), Azoxis + Difeno (IC<sub>90</sub> inferior a menor dose testada) e Pira + Fluxa (IC<sub>90</sub> inferior a menor dose testada) foram altamente fungitóxicos de acordo com a classificação de Edgington, Khew e Barron (1971) com índice de IC<sub>50</sub><1 ppm. Nesse estudo, os fungicidas de alta toxicidade tanto em IC<sub>50</sub> quanto em IC<sub>90</sub>, contêm como ingredientes dois dos grupos químicos testados (Estrobilurina, Triazol e Carboxamida). Sugerindo a eficácia da combinação destes fungicidas no controle de *P. tarda*.

Em suma, todos os fungicidas testados reduziram o crescimento micelial de *P. tarda*, porém os fungicidas com associação de ingredientes ativos de diferentes grupos químicos apresentaram melhores resultados.

Para *Cercospora coffeicola* a dose resposta para estudos de crescimento micelial ‘in vitro’ indicada é a de 5%. Assim as doses seriam: Tebuco 20 ppm + Trifloxys 10 ppm, Azoxis 10 ppm + Difeno 6,3 ppm; Azoxys 11,3 ppm + Tebuco 18,8 ppm; Difeno 6,3 ppm + Pydiflu 3,8 ppm, inibindo 100, 100, 87,1 e 54,8 % respectivamente do crescimento micelial. As doses resposta de Pira + Fluxa e da Boscalida não apresentaram controle do crescimento. A alta efetividade na redução do crescimento micelial com os fungicidas Tebuco + Trifloxys (20 + 10 ppm) e Azoxis + Difeno (10 + 6,3 ppm) pode ser devido aos ingredientes ativos dos grupos químicos utilizados, nos dois há associação de Estrobilurina + Triazol. Porém, o Azoxys + Tebuco também possui essa associação, diferindo nos ingredientes ativos e concentrações, provavelmente por isso, com a aplicação de 25% do Azoxys + Tebuco (56,3 + 93,8 ppm) também foi verificado total inibição do crescimento micelial do fungo. Para o Difeno + Pydiflu a dose correspondente a 100% da dose de campo (125 + 75 ppm) também inibiu totalmente o crescimento micelial.

Na literatura existem poucos estudos avaliando a ação dos fungicidas para o controle do crescimento micelial de *C. coffeicola* ‘in vitro’. Santos (2015) verificou ‘in vitro’ a sensibilidade desse fungo aos Triazóis e Estrobilurinas. No experimento ‘in vitro’, os ingredientes ativos Azoxistrobina, Flutriafol, Ciproconazol e Epoxiconazol apresentaram concentração inibitória mínima acima da dosagem utilizada no campo, portanto, segundo a classificação de Yan et al. (2014), isolados de *C. coffeicola* são altamente resistentes a estes ingredientes ativos. Todavia, nesse estudo, a combinação de Triazóis com Estrobilurina promoveu inibição total do crescimento micelial a partir

da concentração de 5%. Demonstrando assim, a eficiência da combinação de diferentes ingredientes ativos no controle desse patógeno.

Por outro lado, a utilização dos fungicidas Boscalida e Pira + Fluxa não obteve a inibição total do crescimento micelial nem mesmo quando utilizada 100% da dose recomendada. Esses resultados divergem do encontrado por Bradley e Pedersen (2011), pois demonstraram isolados de *C. zea-maydis* com inibição de germinação de conídios aproximadamente dez vezes maior por Piraclostrobina em comparação às Azoxistrobina. Este fato também chama a atenção para as reações do patógeno para o mesmo grupo químico, porém ingredientes ativos diferentes.

Lombardi (2002) também avaliou o fungicida Estrobilurina (Azoxistrobina) e Triazóis (Tebuconazol e Propiconazol) no controle de diferentes isolados de *C. coffeicola* 'in vitro'. O Propiconazol inibiu o crescimento de todos os isolados testados a partir das concentrações de 1000 a 10000 ppm, estando estes valores bem superiores aos observados no presente estudo, que variou de 6,3 a 93,8 ppm. Para a Azoxistrobina observou-se diferentes respostas entre os isolados, pois em alguns não inibiu o diâmetro das colônias e em outros isolados, inibiu completamente o crescimento micelial até a concentração de 100000 ppm. Já o Tebuconazol reduziu significativamente o crescimento micelial de todos os isolados em concentrações de 1000 a 50000 ppm. Esse estudo demonstrou diferentes respostas do patógeno ao fungicida podendo ser influenciadas por vários fatores, inclusive pelo isolado utilizado no experimento.

Salgado (1998) descreve a Azoxistrobina utilizada individualmente podendo não mostrar todo o seu potencial em controlar o alvo biológico, pois tem como característica a atuação preventiva e atua nos estádios iniciais de germinação e crescimento do tubo germinativo. Esse fungicida quando testado 'in vitro', no crescimento micelial, pode ter seu potencial de controle do patógeno mascarado.

Os fungicidas Difeno + Pydiflu ( $IC_{50}$  0,14 ppm), Azoxis + Difeno ( $IC_{50}$  inferior a menor dose testada), Tebuco + Trifloxys ( $IC_{50}$  inferior a menor dose testada) e Azoxys + Tebuco ( $IC_{50}$  menor que 0,01 ppm), foram altamente fungitóxicos, com  $IC_{50} < 1$  ppm (EDGINGTON; KHEW; BARRON, 1971). Para  $IC_{90}$ , somente o Azoxis + Difeno ( $IC_{90}$  inferior a menor dose testada) e o Tebuco + Trifloxys ( $IC_{90}$  inferior a menor dose testada) foram altamente tóxicos para *C. coffeicola*. Estes resultados divergem dos encontrados por Santos (2015), o qual verificou 'in vitro', a *C. coffeicola* altamente resistente à utilização de Azoxistrobina, porém neste estudo, a utilização de Azoxistrobina como ingrediente ativo em associação ao Tebuconazol ou Difenoconazol

foi altamente tóxica para o fungo, com  $IC_{50} < 1$  ppm. Este resultado aponta para a combinação de fungicidas podendo apresentar maior toxicidade contra o patógeno.

De acordo com Santos et al. (2022) a fungitoxicidade de Azoxistrobina pode variar com alguns fatores, como a origem dos isolados. Esses autores verificaram os isolados IL1 (Ilicínea/MG), CAN3 (Candeias/MG) com maior sensibilidade à azoxistrobina, com  $IC_{50}$  de 0,38 ppm e 0,39 ppm, respectivamente, condizendo com os resultados deste estudo. Já para o isolado CA1 (Campos Altos/MG) Santos et al. (2022) não verificaram nenhuma sensibilidade ao fungicida, com  $IC_{50}$  de 146,85 ppm.

Nesse sentido, Tebuco + Trifloxys, Azoxis + Difeno, Azoxys + Tebuco e Difeno + Pydiflu demonstraram satisfatória inibição do crescimento micelial de *C. coffeicola*. Apesar de ter exercido um bom controle dos patógenos estudados, o fungicida Difeno + Pydiflu, atualmente, tem dose de bula recomendada de 600 ml/ha e não 400ml/ha, como usado neste trabalho. Tendo em vista o aumento da dose, muito provavelmente este fungicida exercerá controle ainda mais satisfatório de *C. gloeosporioides* e *C. coffeicola*.

Contudo, os fungicidas com associação de Triazol e Estrobilurina, ainda aparecem como os produtos mais eficientes na inibição do crescimento micelial dos principais patógenos necrotróficos do cafeeiro, porém a associação de Triazol e Carboxamida surge como mais uma opção para alternar as pulverizações evitando a seleção de patógenos resistentes aos fungicidas. Porém, é importante ressaltar que o estudo “in vitro” não reflete os resultados de campo, apontando apenas os ingredientes ativos e suas combinações mais eficientes na inibição do crescimento micelial.

Nas pesquisas em casa de vegetação não houve diferença entre os tratamentos para as variáveis altura, diâmetro, área foliar e teor de clorofilas, porém existem relatos da influência de fungicidas nessas características.

Verdin et al. (2017) avaliaram o efeito de fungicidas em mudas clonais do cafeeiro conilon. O experimento foi implantado em casa de vegetação, sem inoculação de patógenos. Foram testados os fungicidas Ópera® (Piraclostrobina + Epoxiconazol), Cantus® (Boscalida) e Comet® (Piraclostrobina) isolados ou em combinação, as pulverizações foram feitas 90 e 120 dias após o plantio, o estudo foi conduzido por 6 meses. A utilização do Ópera® + Cantus® + Comet® e Ópera® + Cantus® também apresentou diâmetro inferior à testemunha, porém sem diferença entre os tratamentos para esta variável, conforme visualizado neste estudo.

Por outro lado, os resultados apresentados diferem dos obtidos por Santinato et al. (2016). Os autores testaram os fungicidas Boscalida nas doses 45, 90 e 180 g.ha<sup>-1</sup> e Piraclostrobina nas doses 150, 300 e 600 ml.ha<sup>-1</sup> isoladamente ou em combinação no desenvolvimento inicial de cafeeiro, no campo. Após dez e 20 meses da instalação do experimento a aplicação dos fungicidas, isoladamente ou em associação, promoveu acréscimo na altura e diâmetro da planta em relação à testemunha. A diferença entre os estudos pode ser devido às condições sob as quais foram realizados, pois Santinato et al. (2016) realizaram o experimento no campo, aonde ocorrem doenças, enquanto no presente estudo foi em ambiente controlado, na casa de vegetação, sem inoculação. Além disso, as avaliações de Santinato et al. (2016) foram após dez e 20 meses da instalação do experimento, enquanto neste estudo as avaliações foram realizadas após no máximo 2 meses da instalação.

Contudo, ressalta-se que nesse experimento, as plantas não foram inoculadas, pois o objetivo foi avaliar os efeitos fisiológicos dos fungicidas nas mudas saudáveis e não o controle das doenças causadas por patógenos necrotróficos. Uma hipótese seria, na presença das doenças ocorrem efeitos negativos em sua morfologia, como a desfolha, conseqüentemente menor fotossíntese e menor crescimento/diâmetro, por isso, é muito provável, caso fosse feita inoculação dos patógenos, os tratamentos apresentariam efeitos morfológicos positivos com relação à testemunha. Neste caso, o incremento nos efeitos morfológicos pode estar associado ao controle das doenças. Outra hipótese seria a interferência do tempo de avaliação, como o cafeeiro é uma cultura perene, seu crescimento ocorre de forma mais lenta e 60 dias pode não ter sido suficiente para avaliar efeitos morfológicos significativos nas plantas. Todavia os produtos também não causaram, estatisticamente, nenhum efeito negativo sob a planta, logo, mostraram-se muito seguros para o manejo fitossanitário do cafeeiro.

Não houve diferença no teor de clorofila entre os tratamentos neste estudo. O SPAD mede o teor de clorofila das plantas, dessa maneira, quanto maior esse teor, provavelmente maior será a realização de fotossíntese e conseqüentemente a planta terá mais energia para seu crescimento e desenvolvimento. Fungicidas podem mudar essa fisiologia e levarem as plantas a produzirem mais ou menos clorofila. Porém, o aumento da clorofila nos tratamentos com os fungicidas era esperado, pois eles possuem N em sua estrutura química e este nutriente é componente da molécula de clorofila, conforme observado por Reis et al. (2006), o aumento nas doses de nitrogênio nas plantas promove maiores valores de leituras SPAD, devido ao aumento dos teores de clorofila.

Herzog et al. (2018) avaliando diferentes fungicidas no crescimento de café conilon, no campo, sem inoculação de patógeno, observaram os tratamentos com piraclostrobina influenciando positivamente os índices relativos de clorofila, com incremento de 8,6% em relação à testemunha, o experimento foi conduzido por 12 meses e o SPAD foi avaliado 15 dias após a pulverização.

O efeito benéfico no incremento da clorofila após a aplicação do Boscalida, também foi relatado por Silva Júnior (2013) testando a ação de alguns fungicidas no teor de clorofila em cafeeiro, em câmara de crescimento, com inoculação de patógeno (*P. tarda*), o qual observou o fungicida Boscalida promovendo incremento de 29% em relação à testemunha. Embora neste estudo não tenha observado diferença estatística, a Boscalida foi o fungicida com maior SPAD relativo.

Como no trabalho de Silva Júnior (2013) houve inoculação e o incremento do tratamento Boscalida no SPAD foi com relação à testemunha, a severidade da doença na testemunha pode ter levado à menor produção de clorofila, por destruição de cloroplastos. Sendo a Boscalida indicado para controle da *P. tarda*, no tratamento a severidade da doença foi menor que na testemunha.

O maior peso da planta seca, foi observado para o tratamento Pira + Fluxa e Azoxis + Difeno, apresentando incremento de 19% e 12% em relação ao controle. O peso da planta verde e seca pode ser representado por sua quantidade de folhas. As folhas desempenham papel fundamental nas plantas, pois elas são responsáveis por captar luz, essencial para o processo de fotossíntese (MATHUR et al., 2018).

Muitas pesquisas relataram a aplicação de fungicida como fator de aumento do peso da planta seca, tais como: Sirtoli et al. (2011) com o uso do fungicida boscalida, em pepineiro japonês; Soares et al. (2011) com aplicação de piraclostrobina em soja e Paulo Júnior et al. (2013) aplicando piraclostrobina em café arábica.

Por outro lado, Ishikawa, Hare e Kettlewell (2012) avaliaram o peso de planta seca da parte aérea do trigo empregando mistura de triazol e estrobilurina e observaram menores pesos nas parcelas tratadas com fungicidas quando comparadas às parcelas não tratadas.

Martins et al. (2012) também verificaram influência negativa no acúmulo de planta seca nas mudas de café conilon quando aplicado ciproconazol (triazol) + tiametoxam (neonicotinóide), assim como observado neste estudo para a utilização do fungicida Tebuco + Trifloxys, sendo este também Triazol.

É relevante considerar o fato de não se obter o peso inicial das mudas, isso pode influenciar nos resultados para esta variável, pois pode não se tratar de um incremento no peso das plantas e sim no fato de inicialmente as plantas não terem todas o mesmo peso. Ao mesmo tempo, observa-se a altura 20,4 cm do tratamento com Pira + Fluxa e de 19,4 cm com Azoxis + Difeno ao final do experimento, superiores aos demais. Já para o diâmetro do caule, o Pira + Fluxa era 5,4 mm, também superior aos demais.

Respostas de defesa têm sido associadas aos produtos da rota dos fenilpropanoides, pois levam à formação de compostos fenólicos totais e de lignina (RAES et al., 2003). Metabólitos secundários como os compostos fenólicos são produzidos rapidamente e se acumulam após a infecção, estando assim, envolvidos na defesa da planta contra o ataque de patógenos. Os compostos fenólicos atuam como inibidores do desenvolvimento de pragas e doenças ou acúmulo de compostos orgânicos de baixo peso molecular, como glicose, sacarose e aminoácidos, resultado da maior atividade de enzimas decompositoras como amilase, celulase, protease e sacarase (MARSCHNER, 1995).

Neste estudo, após 48 horas verificou-se diferentes comportamentos dos tratamentos, sendo os tratamentos Boscalida, Azoxys + Tebuco e Pira + Fluxa superiores a Tebuco + Trifloxys, Difeno + Pydiflu e Azoxis + Difeno. Após 72 horas, Difeno + Pydiflu foi superior aos demais tratamentos. Aos trinta dias decorridos da pulverização, os tratamentos Azoxys + Tebuco, Boscalida, Difeno + Pydiflu apresentaram maiores valores de fenóis totais, não diferindo da testemunha.

Os estudos com cafeeiro têm apontado para a utilização de fungicidas incrementando os teores de fenóis totais das plantas. Monteiro (2011), em casa de vegetação, plantas inoculadas com *H. vastatrix*, aplicou ASM + fungicida (ciproconazol + azoxistrobina) em cafeeiro, e verificou incremento de 29% e 25% dos fenóis totais, ao 7° e 14° dias de coleta, respectivamente.

Outro estudo empregando fungicida benzimidazol e triazol em trigos, também verificou aumentos substanciais no conteúdo fenólico total em plantas tratadas, o qual registrou incremento máximo de 23% em plantas tratadas com o Triazol a 2000 ppm (SIDDQUI; AHMED, 2002). Siddiqui et al. (1997) sugerem este aumento dos fenóis devido ao estresse químico da planta mediante a aplicação do fungicida.

Ou seja, também deve-se estudar os produtos inoculando os patógenos. Sem a inoculação ocorre o consumo de energia na rota do ácido chiquímico, já na primeira reação com o consumo de glicose. Como houve aumento de lignina e fenóis, houve

consumo de energia e devido a isso não houve crescimento e também diferença no peso da planta seca. Na presença do patógeno, com seu controle, a planta teria o diferencial de não perder mais glicose e ter suas estruturas celulares quebradas e assim apresentaria maior crescimento em relação a testemunha, com alta intensidade da doença.

Neste estudo, na avaliação após 72 horas da pulverização o tratamento Difeno + Pydiflu apresentou incremento no acúmulo de fenóis superior à testemunha e aos demais tratamentos, porém, após 30 dias este tratamento não diferiu da testemunha nem dos tratamentos Boscalida e Azoxys + Tebucó, sugerindo que em algum momento houve maior ativação da via do ácido chiquímico pelo tratamento Difeno + Pydiflu.

Na quantificação de lignina, o Difeno + Pydiflu proporcionou incremento de aproximadamente 30% em relação à testemunha, seguido por Tebucó + Trifloxys (16,7%), Boscalida (14%), Azoxys + Tebucó (13%), Pira + Fluxa (10,3%) e Azoxis + Difeno (9,1%). Alguns estudos têm sido realizados para verificar o efeito de fungicidas no teor de lignina em plantas. Pereira et al. (2008) testaram o fungicida Acibenzolar-S-metil (ASM), do grupo químico dos benzothiadiazol, e verificaram incremento no teor de lignina em relação ao tratamento controle em mudas de café. Para Amaral et al. (2007) este mesmo fungicida (ASM) também proporcionou incremento de 33,3% no teor de lignina de cafeeiro, valor este bem próximo ao observado neste estudo com a utilização do fungicida Difeno + Pydiflu. Por outro lado, Monteiro (2011) não verificou influência da aplicação de ASM + fungicida (ciproconazol + azoxistrobina) sobre o teor de lignina em cafeeiro, no entanto, o uso do fungicida diminuiu 15,8% dessa molécula em relação à testemunha.

A lignina torna as paredes celulares mais resistentes à penetração e, além disso, recobre as estruturas dos patógenos, isolando-as do citoplasma e, com isso, inibindo o avanço da infecção e também a presença de compostos fenólicos nesta região, inibindo assim, a síntese de enzimas do patógeno degradadoras de lignina (STANGARLIN et al., 2011). Neste sentido, os tratamentos que proporcionam maior incremento de lignina, trazem melhores condições à planta, tornando-a menos susceptível aos patógenos, além de proporcionar maior resistência estrutural.

Observou-se em todos os tratamentos com fungicidas, exceto o controle, incrementos na camada de cera na superfície superior das folhas das mudas de cafeeiro. A cutícula de cera cobre as folhas desempenhando várias funções na biologia da planta, como restrição à perda de água, proteção ao ataque de insetos e raios ultravioleta e manutenção de impermeabilidade na superfície, inibindo assim, o ataque de agentes

patogênicos (KITAGAMI et al., 2013). A camada de cera mantém a superfície foliar seca, inviabilizando a germinação de esporos fúngicos, sendo, portanto, importante no controle de doenças causadas por fungos.

Segundo Lichston e Godoy (2006) a aplicação de fungicidas, como os cúpricos, pode diminuir o teor de cera e causar alteração da morfologia, provocando ferimentos, podendo tornar a planta mais suscetível a doenças, pragas e estresse hídrico. Assim, se torna interessante o uso de produtos atuantes no manejo de fitopatógenos e não prejudiciais à camada de cera (LICHSTON; GODOY, 2006).

Lichston e Godoy (2006) verificaram ainda, na aplicação do fungicida (combate a ferrugem, cujo princípio ativo é o oxiclreto de cobre) a diminuição no teor da cera e alteração da morfologia, provocando rupturas e desaparecimento dos cristalóides, podendo tornar a planta mais suscetível a doenças, pragas e estresse hídrico.

Esse incremento na camada de cera de mudas de café mediante utilização de fungicida já foi relatado em outro estudo. Silva Júnior (2013) observou nas mudas de café tratadas com Boscalida, incrementos visuais na camada de cera.

Salienta-se a não utilização de adjuvantes oleosos no presente estudo. Estes coadjuvantes promovem a retirada ou diminuição da camada de cera, podendo causar alteração da morfologia, provocando ferimentos, expondo a planta a doenças, pragas e estresse hídrico (LICHSTON; GODOY, 2006). Neste sentido vale refletir sobre a utilização de adjuvantes não oleosos em calda com os fungicidas estudados aqui, fazendo com que este benefício tão importante trazido à planta seja promovido nessas pulverizações.

Não se observou sintomas de fitotoxidez nos tratamentos avaliados. Os relatos da literatura em relação a fitotoxidez de fungicidas no cafeiro são divergentes. Herzog et al. (2018) não verificaram fitotoxidade dos fungicidas Piraclostrobina e Boscalida em cafeeiros.

Já o estudo realizado por Martins et al. (2011) com a aplicação de triazol + neonicotinóide no café conilon evidenciaram vários sintomas de fitotoxidez, como: retorcimento e má formação de folhas novas, emissão de ramos ortotrópicos morfológicamente desuniformes, crescimento desordenado, emissão e proliferação desordenada de brotos e folhas, clorose e necrose foliar e internódios curtos.

Em café arábica, também foram observados internódios curtos dentre outros sintomas de fitotoxidez nas plantas tratadas com triazóis (tebuconazol, epoxiconazol e flutriafol) (PARADELA et al., 2005).

## 7. CONCLUSÕES

- Para o estudo da dose resposta do crescimento micelial e IVCN de patógenos necrotóficos do cafeeiro é indicada a dose equivalente a 5 % da dose de campo, sendo: Azoxystrobina 11,3 ppm + Tebuconazol 18,8 ppm, Tebuconazol 20 ppm + Trifloxystrobina 10 ppm, Difenconazol 6,3 ppm + Pydiflumetofen 3,8 ppm, Azoxistrobina 10 ppm + Difenconazol 6,3 ppm, Boscalida 9,4 ppm e Piraclostrobina 25 ppm + Fluxapiraxade 12,5 ppm.

- Para *Colletotrichum gloeosporioides* o menor IVCN foi obtido com o fungicida Azoxistrobina 225 ppm + Tebuconazol 375 ppm, seguido por Tebuconazol 400 ppm + Trifloxistrobina 200 ppm, Azoxistrobina 200 ppm + Difenconazol 225 ppm e Difenconazol 120 ppm + Pydiflumetofen 75 ppm. No cálculo do IC<sub>50</sub>, os fungicidas Difenconazol 120 ppm + Pydiflumetofen 75 ppm, Tebuconazol 400 ppm + Trifloxistrobina 200 ppm, Tebuconazol 400 ppm + Trifloxistrobina 200 ppm e Azoxistrobina 225 ppm + Tebuconazol 375 ppm obtiveram valores abaixo de 0,1 ppm ou mg/Kg do i.a. Já para a IC<sub>90</sub>, os valores mais baixos foram verificados para os fungicidas Azoxistrobina 225 ppm + Tebuconazol 375 ppm e Tebuconazol 400 ppm + Trifloxistrobina 200 ppm.

- Para *Phoma tarda*, todos fungicidas inibiram totalmente o IVCN. Na avaliação da IC<sub>50</sub>, os fungicidas Difenconazol 120 ppm + Pydiflumetofen 75 ppm, Tebuconazol 400 ppm + Trifloxistrobina 200 ppm, Boscalida 187,5 ppm e Piraclostrobina 333 ppm + Fluxapiraxade 167 ppm apresentaram doses inferiores a 1 mg/kg de fungicida. Já para IC<sub>90</sub>, Difenconazol 120 ppm + Pydiflumetofen 75 ppm, Tebuconazol 400 ppm + Trifloxistrobina 200 ppm e Piraclostrobina 333 ppm + Fluxapiraxade 167 ppm apresentaram dose inferiores a 1 mg/kg.

- Para *Cercospora coffeicola* com o aumento da dose dos fungicidas Difenconazol 120 ppm + Pydiflumetofen 75 ppm, Piraclostrobina 333 ppm + Fluxapiraxade 167 ppm e Azoxistrobina 225 ppm + Tebuconazol 375 ppm ocorreu a redução do IVCN. No

cálculo da IC<sub>50</sub>, os fungicidas Difenconazol 120 ppm + Pydiflumetofen 75 ppm, Tebuconazol 400 ppm + Trifloxistrobina 200 ppm, Tebuconazol 400 ppm + Trifloxistrobina 200 ppm e Azoxistrobina 225 ppm + Tebuconazol 375 ppm, apresentaram dose resposta inferior a 1 mg/kg. No IC<sub>90</sub>, Tebuconazol 400 ppm + Trifloxistrobina 200 ppm e Tebuconazol 400 ppm + Trifloxistrobina 200 ppm apresentaram dose resposta inferior a 1 mg/kg.

- O menor peso da parte aérea das mudas secas foi encontrado no tratamento Tebuconazol + Trifloxystrobina. Aos trinta dias decorridos da pulverização, os tratamentos Azoxystrobina + Tebuconazol, Boscalida e Difenconazol + Pydiflumetofen apresentaram maiores valores de fenóis totais.

- Não houve diferença da altura, diâmetro, parte aérea e teor de clorofila entre os tratamentos e a testemunha. O tratamento Difenconazol + Pydiflumetofen apresentou o maior incremento de lignina em relação à testemunha. Em todos os tratamentos com fungicidas foi observada presença de camada de cera. Não foram observados sintomas de fitotoxidez.

## REFERÊNCIAS

- ABE, F.; USUKI, K.; HIRAKI, T. Fluconazole modulates membrane rigidity, heterogeneity, and water penetration into the plasma membrane in *Saccharomyces cerevisiae*. **Biochemistry**, p. 48, 2009.
- ABBOTT, W. S. A Method of Computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 2, p. 265-267, 1925.
- ACKRELL, B.A.C.; JOHNSON, M.K.; GUNSALUS, R.P.; CECCHINI, G. Structure and function of succinate dehydrogenase and fumarate reductase. In: MÜLLER, F. Ed. **Chemistry and Biochemistry of Flavoenzymes**, v. 3. London, England: CRC Press, 1992. p. 229e297.
- AGNES, W. M. Tolerance in isolates of *Colletotrichum coffeanum* to prochloraz-Mn in Kenya. **Journal of Phytopathology**, v. 140, n. 2, p. 114-122, 1994.
- AJIGBOYE, O. O.; MURCHIE, E.; RAY, R. V. Foliar application of isopyrazam and epoxiconazole improves photosystem II efficiency, biomass and yield in winter wheat. **Pesticid Biochemistry and Physiology**, v. 114, p. 52–60, 2014.
- ALVES, E. **Introdução à microscopia eletrônica**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2004. 88 p.
- ALVES, J. D.; MAZZAFERA, P. **Mais que a florada, pré e pós-florada é que definem a produtividade**. 2021. Disponível em: <https://www.guycarvalho.com.br/noticia/293/mais-que-a-florada-pre-e-pos-florada-e-que-definem-a-produtividade>. Acesso em: 06 jan. 2022.
- AMARAL, D. R. et al. Determinação da atividade de peroxidases e teor de lignina em mudas de café tratadas com extratos vegetais contra *Cercospora coffeicola*. In: Anais do Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. 2007. Águas de Lindóia, SP. Embrapa Café, 2007. p. 1-5. Disponível em: <http://www.sbicafe.ufv.br/handle/123456789/2353>. Acesso em: 27 out. 2022.
- AMARO, A. C. E. et al. Effects of the fungicides azoxystrobin, pyraclostrobin and boscalid on the physiology of *Japanese cucumber*. **Science Horticulture**, v. 228, p. 66–75, 2018.
- AMARO, A. C. E. et al. Physiological effects of strobilurin and carboxamides on plants: café overview. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 42, n. 1, p. 1-10, 2019.
- ANKE, T. et al. The strobilurins-new antifungal antibiotics from the basidiomycete *Strobilurus tenacellus* (Pers. Ex Fr.) Sing. **The Journal of Antibiotics**, v. 30, n. 10, p. 806-810, 1977.
- APAYDIN, S.; TÖRÖK, M. Sulfonamide derivatives as multi-target agents for complex diseases. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 29, n. 16, p. 2042-2050, 2019.

AVENOT, H. F.; MICHAILIDES, T. J. Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi. **Crop protection**, v. 29, n. 7, p. 643-651, 2010.

AVENOT, H. F.; MICHAILIDES, T. J. Resistance to boscalid fungicide in *Alternaria alternata* isolates from pistachio in California. **Plant Disease**, v. 91, n. 10, p. 1345-1350, 2007.

AVILA-ADAME, C.; OLAYA, G.; KÖLLER, W. Characterization of *Colletotrichum graminicola* isolates resistant to strobilurin-related QoI fungicides. **Plant Disease**, v.87, n.12, p.1426-1432, 2003.

BALARDIN, R. **Fungicidas sistêmicos: benzimidazóis, triazóis e estrobilurinas**. Disponível em: <https://elevagro.com/materiais-didaticos/fungicidas-sistemicosbenzimidazois-triazois-e-estrobilurinas/>. Acesso em: 13 de out. 2022.

BARBOSA JR, M.P. et al. Brow eye spot subjected to different drip irrigation and fertilization management. **Australasian plant pathology**. V. 48, n. 1, p. 1-8, 2019.

BARBOSA JUNIOR, M. P. **Management of coffee rust and brow eye spot using cultural and chemical control**. 2020. 99 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Lavras, 2020.

BARROS, R. S.; MAESTRI, M.; VIEIRA, M.; BRAGA-FILHO, L. J. Determinação de área de folhas do café (*Coffea 85onteúdo* L. cv. 'Bourbon Amarelo'). **Revista Ceres**, v. 20, n. 107, p. 44-52, 1973.

BARTELEGA, V. **Sensibilidade de *Hemileia vastatrix* a estrobilurinas e metodologia para avaliar germinação de esporos em microplacas de "Elisa"**. 2022. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2022.

BARTLETT, D. W. et al. The strobilurin fungicides. **Pest Management Science, Sussex**, v. 58, n. 7, p. 649-662, 2002.

BASF. **F500 O fungicida Premium**. Boletim Técnico. São Bernardo do Campo: Basf, 2005. 35 p.

BASF. **Orkestra® SC**. 2015. Disponível em: [http://www.agro.basf.com.br/agr/ms/apbrazil/pt\\_BR/85onteúdo/APBrazil/solutions/fungicidas/fungicidas\\_product/85onteúdo85\\_new](http://www.agro.basf.com.br/agr/ms/apbrazil/pt_BR/85onteúdo/APBrazil/solutions/fungicidas/fungicidas_product/85onteúdo85_new). Acesso em: 6 dez. 2022.

BATCHVAROVA, R.B.; REDDY, V.S.; BENNETT, J. Cellular resistance in rice to cercosporin, a toxin of *Cercospora*. **Phytopathology**, Oxford, Inglaterra, v. 82, n. 6, p. 642- 646.1992.

BERKELMANN-LOEHNERTZ, B. et al. Impact of strobilurins on grapevine physiology under greenhouse conditions. **Regional Sections of the International Organisation for Biological Control**, v. 24, p. 303–307, 2001.

- BLACKSHAW, R. E.; O'DONOVAN, J. T.; SHARMA, M. P.; HARKER, K. N.; MAURICE, D. Response of triallate-resistant wild oat (*Avena fatua*) to alternative herbicides. **Weed Technol.**, v. 10, n. 3, p.258-262, 1996.
- BLANDINO, M. et al. Timing of azoxystrobin+propiconazole application on maize to control northern corn leaf blight and maximize grain yield. **Field Crop Research**, v. 139, p. 20–29, 2012.
- BOLDINI, J. M. et al. Incidência e severidade da cercosporiose em frutos de cafeeiro fertirrigadona região de Lavras-MG. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL,2000, Poços de Caldas. **Resumos Expandidos...** Poços de Caldas, MG: EMBRAPA Café, 2000. P. 273-275.
- BOLTON, M.D., RIVERA-VARAS, V.; MENDOZA, L. D. R.; KHAN, M. F. R.; SECOR, G. A. Efficacy of variable tetraconazole rates 86onteúd *Cercospora beticola* isolates with differing 'in vitro' sensitivities to DMI fungicides. **Plant Disease** 96.12 (2012): 1749-1756.
- BOTELHO, CESAR ELIAS et al. Adaptabilidade e estabilidade fenotípica de cultivares de café arábica em Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 12, p. 1404-1411, 2010.
- BRADLEY, C. A.; PEDERSEN, D. K. Baseline sensitivity of *Cercospora zae-maydis* to quinone outside inhibitor fungicides. **Plant Disease**, v. 95, n. 2, p. 189-194, 2011.
- BRENT, K.J.; HOLLOMON, D.W. Fungicide Resistance in Crop Pathogens: How Can it be Managed? FRAC Monograph 1. 2<sup>nd</sup> Ed. Brussels, **Crop Life International, Brussels**: 2007. 55p.
- CAMARGO, A. P.; CAMARGO, M. B. P. Definição e esquematização das fases fenológicas do cafeeiro arábica nas condições tropicais do Brasil. **Bragantia**, v. 20, n. 1, p. 65-68, 2001.
- CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: J. Wiley, 1990.
- CANTORE, V. et al. Combined 86onteú of defcít irrigation and strobilurin application on yield, fruit quality and water use efcíency of “cherry” tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Agricultural Water Management**, v. 167, p. 53–61, 2016.
- CARRILLO, M.M.; ZANBRANO, C. Identificacion y patogenicidad de cepas del 86onteú *Colletotrichum* 86onteúdo86n al cultivo café la región centro occidental de Venezuela. **Agronomía Tropical**, Surrey, v. 44, n. 4, p. 567-577, 1994.
- CARVALHO, V. L.; CHALFOUN, S. M. 1998. **Produção de mudas de cafeeiros**. Belo Horizonte. MG, EPAMIG. Boletim técnico n. 62, p. 44.
- CARVALHO, V. L.; CHALFOUN, S. M. **Doenças do Cafeeiro**: diagnose e controle. Boletim Técnico, n°58, 2000.44.p.

CASTROAGUDÍN, V. L.; CERESINI, P. C.; DE OLIVEIRA, S. C.; REGES, J. T.; MACIEL, J. L.; BONATO, A. L. et al. Resistance to QoI fungicides is widespread in Brazilian populations of the wheat blast pathogen *Magnaporthe oryzae*.

**Phytopathology**, v. 105, n. 3, p. 284-294, 2015.

CERESINI, P. C.; CASTROAGUDÍN, V. L.; RODRIGUES, F. A. Wheat Blast: Past, Present, and Future. **Annual Review of Phytopathology**, v. 56, p. 427-456, 2018.

CHAVES NETO, J. R.; BOSCAINI, R.; COSTA, I. F. D. Sensibilidade de *Aspergillus* sp. E *Fusarium* sp. A diferentes concentrações de fungicidas. **Revista Agri-Environmental Sciences**, Palmas-TO, v. 6, 2020.

CHOQUER, M.; DEKKERS, K. L.; CHEN, H. Q.; CAO, L.; UENG, P. P.; DAUB, M. E.; & CHUNG, K. R. The CTB1 gene encoding a fungal polyketide synthase is required for cercosporin biosynthesis and fungal virulence of *Cercospora nicotianae*. **Molecular plant-microbe interactions**, v. 18, n. 5, p. 468-476, 2005.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento safra brasileira de café**, v. 9 – Safra 2022, n.3 – Terceiro levantamento, Brasília, p. 1-66, setembro 2022. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/cafes/boletim-da-safra-de-caffe>>. Acesso em 23/10/2022.

COSTA, A. V. et al. Synthesis of novel glycerol-derived 1, 2, 3-triazoles and evaluation of their fungicide, phytotoxic and cytotoxic activities. **Molecules**, v. 22, n. 10, p. 1666, 2017.

COSTA, A. V. et al. Synthesis of glycerol-derived 4-alkyl-substituted 1, 2, 3-triazoles and evaluation of their fungicidal, phytotoxic, and antiproliferative activities. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, p. 821-832, 2020.

DAUB, M.E.; BRIGGS, S.P. As alterações na composição da membrana celular do tabaco e da estrutura causadas pela toxina fúngica, cercosporina. **Plant Physiology**, Glasgow, Reino Unido, v.7, p.763-766. 1983.

DAUB, M.E.; CHUNG, K.R. Cercosporin: A Phytoactivated Toxin in **Plant Disease Journal**, Saint Paul, USA. Online. APSnet. 2007.

DE LIMA, L. M.; POZZA, E.A.; SANTOS, F.S. Relationship between of Brown Eye Spot of Coffee Cherries and the Chemical Composition of Coffee Beans. **Journal of Phytopathology**, 2012.

DEBONA, D. et al. Physiological changes promoted by a strobilurin fungicide in the rice-Bipolaris oryzae interaction. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 130, p. 8–16, 2016.

DEL PELOSO, M.J.; CARDOSO, A.A.; VIEIRA, C.; SARAIVA, L.S. AND ZIMMERMANN, M.J. DE O. Genetic system for the reaction of Phaseolus vulgaris to the BA-2 (alpha) race of *Colletotrichum lindemuthianum*. Revista Brasileira de Genética. Ribeirão Preto, Brasil, v.12, p.313-318.1989.

DELYE, C.; BOUSSET, L.; CORIO-COSTET, M. F. PCR cloning and detection of point mutations in the eburicol 14a-demethylase (CYP51) gene from *Erysiphe graminis* f. sp. *Hordei*, a “recalcitrant” fungus. **Current Genetics**, New York, v. 34, n. 5, p. 399-403, Oct. 1998.

DIAS, M. D.; POZZA, E. A.; ABREU, M. S. D.; MIRANDA, E. O. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. Isolados de *Coffea 88onteú* L. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, p. 545-552, 2005.

DIMOND, A. E. et al. **Role of the dosage-response curve in the evaluation of fungicides**. New Haven: Connecticut Agricultural Experiment Station Bulletin, 1941.

DORIGAN, A. F. et al. Resistance to triazole fungicides in *Pyricularia* species is associated with invasive plants from wheat 88onteú in Brazil. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 41, e39332, 2019.

DORIZZOTTO, A. **Caracterização morfológica e patogenicidade de *Colletotrichum* sp, associados a cafeeiros (*Coffea 88onteú* L.) em dois municípios de Minas Gerais**. 1992. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1992.

DOSTER, M. A.; BOSTOCK, R. M. Quantification of lignin formation in almond bark in response to wounding and infection by *Phytophthora* species. **Phytopathology**, v. 78, p. 473–477, 1988.

EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, v. 61, n. 1, p. 42-44. (1971).

EL GHOLL, N.E, ALFIERI Jr., S.A. Jr., RIDINGS, W.H. & SCHOULTIES, C.L. Growth and sporulation in vitro of *Cercospora apii*, *Cercospora arachidicola*, *Cercospora kikuchii*, and other species of *Cercospora*. **Canadian Journal of Botany** 60:582-688. 1982.

EHRENSHAFT, M.; UPCHURCH, R. G. Isolation of light-enhanced cDNAs of *Cercospora kikuchii*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 57, n. 9, p. 2671-2676, Sept. 1991.

ELLIS, M. B. **More Dematiaceous hyphomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1976. 507 p.

EMBRAPA SOJA. **Ferrugem asiática da soja**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/ferrugem/inicial>. Acesso em: 05 out. 2021.

FAGAN, E. B. et al. Efeito da aplicação de piraclostrobina na taxa fotossintética, respiração, atividade da enzima nitrato 88onteúdo88 e produtividade de grãos de soja. **Bragantia**, v. 69, p. 771–777, 2010.

- FERNANDEZ-BORRERO, O., MESTRE, A.M. & DUQUE, S.L. Efecto de la fertilizacion café la incidência de la mancha de 89onteú (*Cercospora coffeicola*) café frutos de café. **Cenicafé** 47:5-16. 1966.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium** (Lavras), v. 6, p. 36-41, 2008.
- FERREIRA, J. B. **Aspectos histopatológicos, epidemiologia e controle da mancha manteigosa em Coffea 89onteú** L. 2005. 159 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.
- FERREIRA, J. B.; ABREU, M. S.; PEREIRA, I. S.; FERNANDES, K. D.; PEREIRA, R.B. Sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* (mancha manteigosa do cafeeiro) a diferentes concentrações de fungicidas. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 2052-2058, 2009.
- FERREIRA, J. B; ABREU, M. S; PEREIRA, I. S; MIRANDA, E. F. O. Progresso da antracnose em folhas de cafeeiros no campo. **Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil** (4.: 2005: Londrina, PR). Anais. Brasília, D.F.: Embrapa Café, 2005.
- FERREIRA, A. D. Morfologia foliar de quatro genótipos de café arábica e conilon na região norte do Espírito Santo. **In: Anais do IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**. 24 a 26 de Junho de 2015, Curitiba - PR
- FRAC. Novas recomendações para o amenjo da ferrugem asiática da soja. Disponível em: < <https://www.frac-br.org/soja>>, acesso em:03/08/2021.
- FREEMAN, S.; NIZANI, F.; DOTAN, S.; EVEN, S.; SANDO, T. Control of *Colletotrichum acutatum* in strawberry under laboratory, greenhouse and field conditions. **Plant Disease**, Saint Paul, v.81, n.7, p.749-752, July 1997.
- GODOY, C. V. et al. **Eficiência de fungicidas para o controle da mancha-alvo, *Corynespora cassiicola*, na safra 2015/16: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: Embrapa Soja-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2016.
- GOMIDE, M. B.; LEMOS, O. V.; TOURINO, D.; CARVALHO, M. M.; CARVALHO, J. G.; DUARTE, C. S. Comparação entre métodos de determinação de área foliar em cafeeiros Mundo Novo e Catuaí. **Ciência Prática**, v. 1, n. 2, p. 118-123, 1977.
- GONZÁLEZ-LÓPEZ, E. et al. Synthesis and evaluation of the fungal activity of new pyrazole-carboxamides against *Colletotrichum gloeosporioides*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, p. 1917-1925, 2020.
- HER, R. J.; KEMMITT, G. **Periodic table of the fungicides**. Indianapolis: Dow Agrosiences. 2002.
- HERZOG, T. T. **Fungicidas e efeitos fisiológicos na cultura do café conilon**. 2017. 59 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) - Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, 2017.

HERZOG, T. T. et al. Efeito de fungicidas no cafeeiro conilon. **Nativa**, v. 6, n. 5, p. 435-442, 2018.

HOLLOMON, D.; W. Fungicide 90nteúdo90n: Facing the challing. **Plant protect**. V. 51, n. 4, p. 170-176, 2015.

HOLOWNICKI, R.; DORUCHOWSKI, G.; GODYN, A.; SWIECHOWSKI, W. PA—precision agriculture: Variation of spray deposit and loss with air-jet directions applied in orchards. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 77, n. 2, p. 129-136, 2000.

HUERTA, S. A. Comparación de métodos de 90nteúdo90nt y de campo para medir el 90ont del cafeto. **Cenicafé**, v. 13, n. 1, p. 33-42, 1962.

INAGAKI, M. N.; MORI, M.; NACHIT, M. M. Efect of a strobilurin-class fungicide on water use in synthetic bread wheat genotypes grown. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 42, p. 4-12, 2009.

ISHIKAWA, S.; HARE, M. C.; KETTLEWELL, P. S. Effects of strobilurin fungicide programmes and fertilizer nitrogen rates on winter wheat: leaf area, dry matter yield and nitrogen yield. **The Journal of Agricultural Science**, v. 150, n. 4, p. 427-441, 2012.

JADOSKI, C. J. Ação fisiológica da piraclostrobina na assimilação de CO<sub>2</sub> e enzimas 90nteúdo90nts em planta de feijão condicionado em diferentes tensões de água no solo. **Irriga**, v. 20, n. 2, p. 319, 2015.

KAJIHARA, L.H.; BERIAM, L.O.S.; FURLAN, S.H.; LEITE, J.A.B.P. Ação in vitro e in vivo de fungicida sistêmico e multissítio sobre *Phakopsora pachyrhizi*. **Summa Phytopathologica**, v. 47, n. 4, p. 216-221, 2021.

KÖEHLE, H.; GROSSMANN, K.; JABS, T.; GERHARD, M.; KAISER, W.; GLAAB, J.; CONRATH, U.; SEEHAUS, K.; HERMS, S. Physiological effects of strobilurin fungicide F 500 on plants. **Biochemical Society Transactions**, v. 22, n. 65, 1994.

KOLLER, W.; WILCOX, W. F. Evaluation of tactics for managing resistance of *Venturia inaequalis* to sterol demethylation inhibitors. **Plant Disease**, Quebec, v. 83, n. 9, p. 857-863, 1999.

KRAMER, W. Chemistry of sterol-biosynthesis inhibiting fungicides. In: HAUG, G., HOFFMANN, H. **Chemistry of plant protection: sterol biosynthesis, inhibitors and antifeeding compounds**. Springer-Verlang, 1986. P. 25-64.

KROHLING, C. A.; MATIELLO, J. B. Efeito de programas de proteção contra phoma, na produtividade e ação complementar contra outras doenças no cafeeiro, nas montanhas do ES. **Sbicafe**, p. 1-2, 2011. Disponível em: [http://www.sbicafe.ufv.br/bitstream/handle/123456789/5714/104\\_37-CBPC-2011.pdf?sequence=1](http://www.sbicafe.ufv.br/bitstream/handle/123456789/5714/104_37-CBPC-2011.pdf?sequence=1). Acesso em: 06 jan. 2022.

KROHLING, C. A.; MATIELLO, J. B.; MENDONÇA, P. L. P.; PRATTE-SANTOS, R. Avaliação do fungicida cantus aplicado preventivamente via canhão nas pré-floradas

do cafeeiro para controle do complexo de doenças phoma/ascochyta (*Phoma tarda* e *Phoma costarricensis*), em Marechal Floriano, ES. **In:** VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. 2009. EMBRAPA, p.1-4.

KROHLING, C. A.; ALIXANDRI, F. T.; ZUCCON, E.; COTA, M. C.; FERNANDES, L. H. M.; VENTURIM, C. H. P.; SARAIVA, U. **Resultados agronômicos e fisiológicos do cafeeiro com o uso de fungicidas na pré e pós-florada.** 2107. Disponível em: <http://hdl.handle.net/123456789/9345>. Acesso em: 06 de jan. 2022.

LIBERATO, J. R.; TAGAGIBA, J. S. Avaliação de fungicidas in vitro e em pós-colheita para o controle da antracnose e da podridão peduncular em frutos de mamão. **Summa Phytopathologica**, v. 27, p. 409-414, 2001.

LIMA, L.M.; POZZA, E.A.; SANTOS, F.S. Relationship between incidence of brown eye spot of coffee cherries and the chemical composition of coffee **Beans. Journal of Phytopathology**, v. 160, p. 209-211, 2012.

LIMA, L. M. DE; POZZA, E. A.; TORRES, H. N.; POZZA, A. A. A.; SALGADO, M.; PFENNING, L. H. Relação nitrogênio/potássio com mancha de Phoma e nutrição de mudas de cafeeiro em solução nutritiva. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 4, p. 223-228, 2010.

LICHSTON, J. E.; GODOY, S. A. P. Morfologia e teor de cera de folhas de café após aplicação de fungicida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 6, p. 919-926, 2006.

LOMBARDI, A. P. Z. **Caracterização patogênica, morfológica, fisiológica, molecular e sensibilidade a fungicida de *Cercospora coffeicola*.** 2002. 140 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2002.

LOPES, L. N. S.; SILVA, A. S.; PEREIRA, C. C. O. MENEZES, I. P. P.; MALAFAIA, G.; LIMA, M. L. P. Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas. **Multi-Science Journal**, v.1, n. 1, p. 106-114, 2015.

LYR, H. **Modern selective fungicides – properties, applications, mechanisms of action.** New York: Gustav Fischer Verlag. 1995, p.595.

MA, Z.; MORGAN, D. P.; FELTS, D.; MICH Sensitivity of *Botryosphaeria dothidea* from California pistachio to tebuconazole. **Crop Protection, Guildford**, v. 21, n. 9, p. 829-835, 2002.

MACEDO, A. C. Strobilurin and boscalid in the quality of net melon fruits. **Semina-Ciencias Agrarias**, v. 38, n. 2, p. 543–550, 2017.

MALANDRAKIS, A.A.; MARKOGLU, A.N.; NIKOU, D.C.; VONTAS, J.G.; ZIOGAS, B.N. Biological and molecular characterization of laboratory mutants of *Cercospora beticola* resistant to QoI inhibitors. **European Journal of Plant Pathology**, v.116, p.155–166, 2006.

MARCOLINO, E. **Determinação do tempo de inoculação da ferrugem do cafeeiro em avaliações de indução de resistência por cobre**. 2019. 52 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. London: Academic Press. 1995. 889 p.

MARKOGLU, A.N.; MALANDRAKIS, A.A.; VITORATOS, A.G.; ZIOGAS, B.N. Characterization of laboratory mutants of *Botrytis cinerea* resistant to QoI Fungicides. *European Journal of Plant Pathology*, v.115, p.149–162, 2006.

MARQUES, L. N. (Tese-Doutorado) Mancozebe associado ao patossistema *Phakopsora pachyrhizi* × *Glycine max*: respostas fisiológicas das plantas. Universidade Federal de Santa Maria, 100 p, 2017.

MARTINS, L.D. et al. Função de crescimento vegetativo de mudas de cafeeiro conilon a níveis de ciproconazol + tiametoxam e nitrogênio. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 173-183, 2012.

MARTINS, L. D. et al. Influência da aplicação de ciproconazol + tiametoxam no crescimento de mudas de *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 34, n. 1, p. 220-228, 2011.

MATHUR, S.; JAIN, L.; JAJOO, A. Photosynthetic efficiency in sun and shade plants. **Photosynthetica**, v. 56, p. 354–365, 2018.

MATIELLO, J. B.; SANTINATO, R.; GARCIA, A. W. R.; ALMEIDA, S. R.; FERNANDES, D. R. Cultura do café no Brasil. Novo Manual de Recomendações. Rio de Janeiro: MAPA/Fundação Procafé, 2005. 434 p.

MATOS, G. A. et al. Avaliação da mistura de fungicidas no controle de doenças do cafeeiro. **Revista GeTeC**, v. 5, n. 9, p. 90-103, 2016.

MCCARTNEY, C. et al. Effects of a strobilurin-based spray programme on disease control, green leaf area, yield and development of fungicide-resistance in *Mycosphaerella graminicola* in Northern Ireland. **Crop protection**, v. 26, n. 8, p. 1272-1280, 2007.

MENDES, A. N. G.; CARVALHO, G. R.; BOTELHO, C. E.; FAZUOLI, L. C.; SILVAROLLA, M. B. – **História das Primeiras Cultivares de Café Plantadas no Brasil** – Cap. 4; Cultivares de café: origem, características e recomendações/ Carlos Henrique Siqueira de Carvalho. – Brasília: EMBRAPA CAFÉ, 2008. 334p.

MERGULHÃO, A. D. Os fluxos, as relações e os agentes envolvidos na produção e comercialização do café produzido atualmente no Brasil. **Revista da ANPEGE**, [S.l.], v. 13, n. 22, p. 57-85, set. 2017.

MESQUITA, C. M et al. **Manual do café: distúrbios fisiológicos, pragas e doenças do cafeeiro** (*Coffea 92ontéud* L.). Belo Horizonte: EMATER-MG, 2016. 62p.

MIGUEL, A.E., MASK, Z., MATIELLO, J.B. & ALMEIDA, S.R. Efeito de fungicidas no controle de *Cercospora coffeicola* em frutos de café. Resumos 3º Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Curitiba, PR. 1975. Pp.18-21. NOACK, F. As manchas das folhas dos cafeeiros. **Boletim da Agricultura**, São Paulo, n. 1, jan. 1902.

MOERSCHBACHER, B. M.; NOLI, U. M.; FLOTT, B. U.; REISNER, H. J. Lignin biosynthesis enzymes in stem rust infected, resistant and susceptible near-isogenic wheat lines. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 33, n. 1, p. 33–46, 1988.

MONTEIRO, A. C. A. **Associação de indutores de resistência para o manejo da ferrugem do cafeeiro e análise bioquímica da resposta de defesa induzida**. 2011. 86 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura/Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

MOREIRA, H. J. R.; CARNEIRO, L. C.; PINTO, L. G.; FREITAS, I. G.; MORAES, A. L. C. **Sensibilidade *in vitro* da população local de *Phakopsora pachyrhizi* a diferentes princípios ativos de estrobilurinas isoladas e em mistura com carboxamidas**. 2018. Disponível em: <https://maissoja.com.br/sensibilidade-in-vitro-da-populacao-local-de-phakopsora-pachyrhizi-a-diferentes-principios-ativos-de-estrobilurinas-isoladas-e-em-mistura-com-carboxamidas/>. Acesso em: 17 nov. 2021.

MWANG'OMBE, A. W. Tolerance in isolates of *Colletotrichum coffeanum* Noack to prochloraz-manganese in Kenya. **Pesticide Science**, v. 34, p. 371-373, 1992.

NASON, M. A.; FARRAR, J.; BARTLETT, D. Strobilurin fungicides induce changes in photosynthetic gas exchange that do not improve water use efficiency of plants grown under conditions of water stress. **Pest Management Science**, v. 63, p. 1191–1200, 2007.

OLIVEIRA, C. A.; POZZA, E. A.; OLIVEIRA, V. B.; SANTOS, R. C.; CHAVES, Z. M. **Escala diagramática para avaliação da severidade de cercosporiose em folhas de cafeeiro**. In: Simpósio Brasileiro de Pesquisa dos Cafés do Brasil (2: 2001: Vitória, ES). Anais. Brasília, D.F.: Embrapa Café, 2001. (CD-ROM), p. 1151-1157.

OROZCO, E. F. M. PIGOZZO, P.; PEREIRA I. S.; ABREU, M. S. **Estudo das relações compatíveis e incompatíveis de *Colletotrichum spp.* X cafeeiro**. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 11., 2002, Lavras, MG. Anais... Lavras: Associação da Pós Graduação, APG-UFLA, 2002.

OROZCO MIRANDA, E. F. 2003. **Caracterização morfológica, molecular, bioquímica e patogênica de isolados de *Colletotrichum spp.* Associados ao cafeeiro em Minas Gerais e Comparação com *Colletotrichum kahawae***. Tese Doutorado. Lavras, MG, Universidade Federal de Lavras. 147p.

PANISSON, E.; REIS, E. M.; BOLLER, W. Efeito da época, do número de aplicações e de doses de fungicida no controle da giberela em trigo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 5, p. 489-494, 2002.

PARADELA FILHO, O.; PARADELA, A. L. (2001) O complexo *Colletotrichum* – cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Tecnologias de produção de café com qualidade**. Viçosa: UFV, Departamento de Fitopatologia, 2001. Cap. 8. P. 269 – 275.

PARADELA, A.L. et al. Avaliação do índice de fitotoxidez de triazóis em mudas de café e eficiência dos triazóis aplicados via foliar no controle da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeeiro (*Coffea arabica*). **Ecossistema**, v. 30, n. 2, p. 2-7, 2005.

PATRICIO, F. R.A.; BRAGHINI, M.T. Efeito de fungicidas Triazóis sobre o controle da cercosporiose em mudas de cafeeiro. **Arq. Inst. Biol.** São Paulo, v.78, n.2, p.241-249, abr./jun., 2011.

PATRÍCIO, F.R.A.; OLIVEIRA, E.G. Desafios no manejo de doenças do café. **Visão Agrícola**, v.12, p.51-54, 2014.

PEREIRA, F. L.; GOULART, R. R.; MENDONÇA, J. M. A.; MACIEL, A. L. R. **Eficiência de diferentes fungicidas utilizados no controle químico da phoma** (*Phoma* spp) em cafeeiros. VI Simpósio de Pesquisas dos Cafés do Brasil.

PEREIRA, R. B. et al. Extrato de casca de café, óleo essencial de tomilho e acibenzolar-S-metil no manejo da cercosporiose-do-cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 1287-1296, 2008.

PINHEIRO, I. C. L. **Avaliação da sensibilidade de isolados de *Alternaria alternata* patótipo tangerina a triazóis, estrobilurinas e carboxamida**. 2021. 54 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2021.

POLONI, N. M.; CARVALHO, G.; NUNES CAMPOS VICENTINI, S.; FRANCIS DORIGAN, A.; NUNES MACIEL, J. L.; MCDONALD, B. A. et al. Widespread distribution of resistance to triazole fungicides in Brazilian populations of the wheat blast pathogen. **Plant Pathology**, v. 70, n. 2, p. 436-448, 2021.

POZZA, A.A.A. **Influência da nutrição nitrogenada e potássica na intensidade da mancha de olho pardo** (*Cercospora coffeicola* Berk. & Cook.) em mudas de cafeeiro. (Tese de Mestrado). Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. 1999.

POZZA, A. A. A.; PRIETO MARTINEZ, H. E.; CAIXETA, S. L.; CARDOSO, A. A.; ZAMBOLIM, L.; POZZA, E. A. Influência da nutrição mineral na intensidade da mancha-de-olho-pardo em mudas de cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2001, 36, 1, 53-60.

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. Semiologia do cafeeiro: sintomas de desordens nutricionais, fitossanitárias e fisiológicas. Lavras: UFLA, 2010. P. 69-101.

POZZA, E. A. Diagnose e Controle de Doenças, Cap. 13, p. 347-430. IN: CARVALHO, G. R. et al. Cafeicultura do Cerrado. Ed. Epamig., Belo Horizonte, 2021. P. 563.

REICHEL, T. et al. Constitutive defense strategy of coffee under field conditions: A comparative assessment of resistant and susceptible cultivars to rust. **Molecular Biotechnology**, v. 64, n. 3, p. 263-277, 2022.

REIS, A. R. et al. Diagnóstico da exigência do cafeeiro em nitrogênio pela utilização do medidor portátil de clorofila. **Bragantia**, Campinas, v. 85, n. 1, p. 163-171, 2006.

REIS, E. M.; REIS, A. C.; CARMONA, M. A. **Manual de fungicidas: Guia para controle químico de doenças de plantas**. 6º ed. 226p. Passo Fundo. Ed. Universidade de Passo Fundo, 2010.

REIS, E. M. et al. Relationship between IC50 determined in vitro/in vivo and the fungicide rate used in the field. **Summa Phytopathologica**, v. 41, p. 49-53, 2015.

RODRIGUES, M. B. C. ANDREOTE, F. D.; SPÓSITO, M. B.; AGUILLAR-VILDOSO, C. I.; ARAÚJO, W. L.; PIZZIRANI-KLEINER, A. A. Resistência a benzimidazóis por *Guignardia citricarpa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 3, p. 323-327, 2007

RODRIGUES, M.A.T. **Classificação de fungicidas de acordo com o mecanismo de ação proposto pelo FRAC**. 2006. 249f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu. 2006.

SALGADO, L. O. Desempenho do produto Piori 250 Sc BIW (azoxystrobin) no controle do "mal-de-sigatoka" (*Mycosphaerella musicola* Leach) na cultura da bananeira (*Musa spp.*). In: ZENECA: desenvolvendo soluções de origem natural. São Paulo: Zeneca, 1998 p. 143-145.

SALGADO, M.; PFENNING, L. H. Identificação e caracterização morfológica de espécies de *Phoma* do cafeeiro no Brasil. **Embrapa Café**. Belo Horizonte, v. 2, p. 183-186. 2000.

SALGADO, M.; POZZA, E. A.; PFENNING, L. H.; BERGER, R. D. Influência da temperatura e do tempo de incubação no crescimento micelial e produção de conídios in vitro de espécies de *Phoma* do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira** 27 (Supl.):159, 2002.

SALUSTIANO, M. E.; ABREU, M. S.; POZZA, E. A.; MIRANDA, E. O. Efeito de fungicidas recomendados para o controle de ferrugem do cafeeiro sobre *Colletotrichum* sp. **Bioscience Journal**, v. 22, n. 3, p. 17-22, 2006.

SANTINATO, R. et al. **Efeito tônico do fungicida boscalid e da estrobirulina pyraclostrobina na formação da lavoura de café, isolados e associados em diferentes doses dos produtos comerciais Cantus e Comet**. 2016. Disponível em: [http://www.sbicafe.ufv.br/bitstream/handle/123456789/9703/133\\_42-CBPC-2016.pdf?sequence=1](http://www.sbicafe.ufv.br/bitstream/handle/123456789/9703/133_42-CBPC-2016.pdf?sequence=1). Acesso em: 25 out. 2022.

SANTOS, L. A. **Resistência de *Cercospora coffeicola* a fungicidas**. Tese de doutorado (2015). Universidade Federal de Lavras, 70 p, 2015.

SANTOS, L. A. et al. Sensibilidade de isolados de *Cercospora coffeicola* a azoxistrob. **Summa Phytopathologica**, v. 48, p. 36-36, 2022.

SANTOS, L. A.; DE SOUZA, P. E.; POZZA, E. A.; CALDEIRA, D. M.; DOS SANTOS BOTELHO, D. M. Nova técnica para isolar *Cercospora coffeicola* Berkeley & Cooke, agente etiológico da cercosporiose do cafeeiro. **Coffee Science**, v. 9, n. 1, p. 142-144, 2014.

SCHOFIELD, K.; GRIMMETT, M. R.; KEENE, B. R. T. **Heteroaromatic nitrogen compounds: the azoles**. CUP Archive, 1976.

SEEFELDT, S.S.; JENSEN, J. E.; FUERST, E. P. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. **Weed Technol.**, v.9, n.2, p.218-225, 1995.

SERA, G. H.; SERA, T.; ITO, D. S.; AZEVEDO, J. A. DE; RIBEIRO FILHO, C.; PETEK, M. R.; MATA, J. S. DA; DOI, D. S.; COTARELLI, V. M. **Resistência de campo ao *Colletotrichum* spp. Entre genótipos de café (*Coffea arabica* L.)**. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (4. : Londrina, PR : 2005). Anais. Brasília, D.F.: Embrapa – Café, 2005. 5p.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildew resistance in Knox wheat. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 67, n. 3, p. 1051-1056, Feb. 1977.

SHAPIRO, R. S.; ROBINS, N.; COWEN, L. E. Regulatory circuitry governing fungal development, drug resistance, and disease. **Microbiology and Molecular Biology Reviews** 2011,75, 213.

SIDDIQUI, Z. S.; AHMED, S. Effects of systemic fungicides on protein, carbohydrate, amino acids and phenolic contents of susceptible (mexipak) and resistant (povan) varieties of *Triticum aestivum* L. **Turkish Journal of Botany**, v. 26, n. 3, p. 127-130, 2002.

SIDDIQUI, Z. S.; AHMED, S.; GULZAR, S. Effect of topsin-M (Methylthiophenate) and Bayleton (Triademifon) on seedling growth, biomass, nodulation and phenolic content of *Sesbania sesban*. **Bangladesh Journal of Botany**, v. 26, n. 2, p. 127-130, 1997.

SILVA JÚNIOR, M. B. **Fertilizantes foliares no manejo da mancha de phoma do cafeeiro**. 2013. 51. f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

SILVA, M. F. et al. Corn stalk integrity is improved by fungicide combinations containing carboxamide. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 42, p. 484-490, 2018.

SILVA, M. G. **Interação da luz, temperatura e do molhamento foliar em *Cercospora coffeicola* e na cercosporiose em cafeeiro**. 2014. 103 f. Tese (Doutorado em Agricultura/Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

SILVA, S. M.; SANTOS, A. C.; LIMA, J. B. Competitividade do agronegócio do café na região Sul de Minas Gerais. **Revista de Administração da UFLA**, Lavras, v. 3, n. 1, p. 1-13, jan./jun. 2001.

SILVA, V. A. et al. Melhoria da qualidade do café Conilon (*Coffea canephora Pierre*) com utilização de fungicida orgânico. In: **Anais do VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**. 22 a 25 de Agosto de 2011, Araxá – MG. 2011. Disponível em: <http://www.sbicafe.ufv.br/handle/123456789/3169>. Acesso em: 27 out. 2022.

SOUZA, A. G. C. et al. A time series analysis of brown eye spot progress in conventional and organic coffee production systems. **Plant Pathology**, v. 64, p. 157–166, 2015.

SOUZA, A. G. C.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G. Cultural and aggressiveness variability of *Cercospora coffeicola*. **Journal of Phytopathology**, v. 160, p. 540–546, 2012.

STREIBIG, J.C. KUDSK, P.; JENSEN, J. E. A general joint action model for herbicide mixtures. **Pest Manag Sci**, v.53, n.1, p.21-28, 1998.

STREIBIG, J.C.; DAYAN, F. E.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O. Joint action of natural and synthetic photosystem II inhibitors. **Pest Manag Sci**, v.55, n.2, p.137-146, 1999.

SUNDRAVADANA, S. et al. Efficacy of azoxystrobin on *Colletotrichum gloeosporioides* Penz growth and on controlling Mango anthracnose. **Journal of Agricultural and Biological Science**, v. 2, n. 3, p. 10-15, 2007.

SYNGENTA. **Usar o fungicida da forma correta na florada do café garante máxima produtividade**. 2019. Disponível em: <https://www.canalrural.com.br/97onteúdo-patrocinado/usar-o-fungicida-da-forma-correta-na-florada-do-café-garante-maxima-produtividade/>. Acesso em: 05 jan. 2022.

SYNGENTA. **Florada do café: proteja sua lavoura do complexo de doenças**. 2021. Disponível em: <https://www.portalsyngenta.com.br/noticias/florada-do-café-proteja-sua-lavoura-do-complexo-de-doen%C3%A7as>. Acesso em: 06 jan. 2022.

TANAKA, M. A. S.; PASSOS, F. A.; BETTI, J. A. Resistência de *Colletotrichum fragariae* e *C. Acutatum* ao benomyl na cultura do morango no estado de São Paulo. **Scientia Agricola**. Piracicaba, 1997.

TAVARES, G. M.; SOUZA, P. E. Efeito de fungicidas no controle in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose do mamoeiro (*Carica papaya* l.). **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 52-59, jan./fev. 2005.

TÖFOLI, J. G. **Pinta preta** – uma ameaça constante aos cultivos da batata e do tomate. *Revista Cultivar*: Pelotas, 2004.

TOMLIN, C. D. S. **The pesticide manual: a world compendium**. Surrey, Uk: British Crop Protection Council, 12 ed., 2002.

TUCCI, M. L. S. et al. Seasonal growth variation of peach palms cultivated in containers under subtropical conditions. **Scientia Agricola**, v. 64, n. 2, p. 138 – 146, 2007.

VALE, P. A. S.; DE RESENDE, M. L. V.; DOS SANTOS BOTELHO, D. M.; DE ANDRADE, C. C. L.; ALVES, E.; OGOSHI, C.; PFENNING, L. H. (2020). Epitypification of *Cercospora coffeicola* and its involvement with two different symptoms on coffee leaves in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**. doi:10.1007/s10658-020-02170-y.

VALLIERI, C. et al. Deleterious Effect of the Qo 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.

VENANCIO, W.S.; ZAGONEL, J.; FURTADO, E.L.; SOUZA, N.L. **Novos fungicidas. I – produtos naturais e derivados sintéticos: estrobilurinas e fenilpirroles**. In: Luz, W.C.; Fernandes, J.M.; Prestes, A.M.; Picinini, E.C. Revisão anual de patologia de plantas. v.7, 1999. p.103-55.

VENTURE can produce a crop that will stand out from the rest. **Crop Protection**, Guildford, v. 29, p. 27, 2006.

VERDIN, A. C. F. et al. **Efeito de fungicidas em mudas clonais de café conilon**. INCAPER, 2017. Disponível em: <https://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/123456789/2943/1/BRT-efeitodefungicidasemmudasclonais-verdin-CBPC39.pdf>

VILELA, X. M. de S. **Fungicidas sistêmicos para ferrugem do cafeeiro: controle e eficiência na mistura com cúpricos e fertilizantes foliares**. 2020. 87 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, 2020.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, E.M. Doenças do cafeeiro (*Coffea arabica* e *C. canephora*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas. 4.ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**, 2005. v.2. p.165-180.

ZAMALLOA, C. E. Identificación del agente causal y control químico de la muerte regresiva (*Phoma sp.*) de brotes en café (*Coffea arabica* L.) en Santa Ana-La Convención-Cusco. 2015. 99 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Nacional de San Antonio Abad Del Cusco, Quillamamba, Perú, 2015.

ZHANG, J. et al. Asexual sporulation facilitates adaptation: The emergence of azole resistance in *Aspergillus fumigatus*. **Evolution**, v. 9, p. 2573–2586, 2015.

ZUCKER, M. Induction of phenylalanine decarboxylase by light and its relation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue. **Plant Physiology**, v. 40, n. 5, p. 779-784, 1965.

WALLER, J. M.; BRIDGE, P. D.; HAKIZA, G. Characterization of the coffee berry disease pathogen, *Colletotrichum kahawae* sp. nov. **Mycological Research**, Cambridge, v. 97, n. 8, p. 989-994, 1993.

YAN, H. J. et al. First report of pyrimethanil resistance in *Botrytis cinerea* from stored apples in Pennsylvania. **Plant disease**, v. 98, n. 7, p. 999-999, 2014.

YPEMA, H. L.; GOLD, R. E. Kresoxym-methyl modification of a naturally occurring compound to produce a new fungicide. **Plant Disease**, v. 83, n. 1, p. 4-19, 1999.

## ANEXOS

## Análises estatísticas

Tabela 1A - Resumo da análise de variância do contraste ortogonal da testemunha em relação aos fungicidas para IVCM do *C. gloeosporioides*. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Fungicidas	6	4474.923942	745.820657	1.0E+0009	0.0000***
DOSES	4	805.788049	201.447012	1.0E+0009	0.0000***
erro		89 -6.962027798E+0002	-7.82250314E+0000		
CV (%) =			2.82		

Ferreira (2019).

Tabela 2A - Resumo da análise de variância para interação entre as doses e os fungicidas para IVCM do *C. gloeosporioides*. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Fungicidas	5	3697.817880	739.563576	1739.696	0.0000***
DOSES	3	28.681986	9.560662	22.490	0.0000***
Fungicidas*DOSES	15	48.314807	3.220987	7.577	0.0000***
erro		72	30.607975	0.425111	
CV (%) =			9.82		

Ferreira (2019).

Tabela 3A - Resumo da análise de variância para contraste da testemunha em relação aos fungicidas para IVCM da *P. tarda*. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Fungicidas	6	193.043540	32.173923	214.907	0.0000***
DOSE	4	206.627608	51.656902	345.044	0.0000***
Fungicidas*DOSE	14	-1.741143022E+0002	-1.24367358E+0001	-83.072	1.0000
erro		75	11.228325	0.149711	
CV (%) =			72.69		

Ferreira (2019).

Tabela 4A - Resumo da análise de variância para interação entre as doses e os fungicidas para IVCM da *P. tarda*. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Fungicidas	5	4.732309	0.946462	10.726	0.0000***
DOSE	3	18.316378	6.105459	69.190	0.0000***
TRATAMENTO*DOSE	15	14.196928	0.946462	10.726	0.0000***
erro		72	6.353425	0.088242	
CV (%) =			117.79	35	

Ferreira (2019).

Tabela 5A - Resumo da análise de variância para contraste da testemunha em relação aos fungicidas para IVCM da *Cercóspora coffeicola*. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	97.295303	16.215884	167.049	0.0000***
DOSE	4	24.844433	6.211108	63.984	0.0000***
FUNGICIDAS*DOSE	14	-1.503097016E+0001	-1.07364073E+0000	-11.060	1.0000
erro		72	6.989234	0.097073	
CV (%) =			38.33		

Ferreira (2019).

Tabela 6A - Resumo da análise de variância para interação entre as doses e os fungicidas para IVCM da *Cercóspora coffeicola*. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	5	75.877821	15.175564	136.549	0.0000***
DOSE	3	3.426950	1.142317	10.278	0.0000***
FUNGICIDAS*DOSE	15	6.386513	0.425768	3.831	0.0001***
erro		72	8.001850	0.111137	
CV (%) =			46.41		

Ferreira (2019).

Tabela 7A - Resumo da análise de variância para a altura das mudas de cafeeiro na primeira avaliação (15/10/2020). UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	7.246857	1.207810	1.300	0.2950
BLOCOS	4	1.473143	0.368286	0.396	0.8092
erro	24	22.298857	0.929119		
CV (%) =		8.74			

Ferreira (2019).

Tabela 8A - Resumo da análise de variância para a altura das mudas de cafeeiro na segunda avaliação (29/10/2020). UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	8.171429	1.361905	1.483	0.2262
BLOCOS	4	3.357143	0.839286	0.914	0.4719
erro	24	22.042857	0.918452		
CV (%) =		7.14			

Ferreira (2019).

Tabela 9A - Resumo da análise de variância para a altura das mudas de cafeeiro na terceira avaliação (12/11/2020). UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	8.679429	1.446571	0.830	0.5585
BLOCOS	4	8.098286	2.024571	1.161	0.3524
erro	24	41.837714	1.743238		
CV (%) =		8.88			

Ferreira (2019).

Tabela 10A - Resumo da análise de variância para a altura das mudas de cafeeiro na quarta avaliação (03/12/2020). UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	12.371429	2.061905	0.756	0.6113
BLOCOS	4	3.814286	0.953571	0.349	0.8418
erro	24	65.485714	2.728571		
CV (%) =		9.29			

Ferreira (2019).

Tabela 11A - Resumo da análise de variância para a altura das mudas de cafeeiro na quinta avaliação (17/12/2020). UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	13.371429	2.228571	0.554	0.7618
BLOCOS	4	3.114286	0.778571	0.194	0.9393
erro	24	96.485714	4.020238		
CV (%) =		10.54			

Ferreira (2019).

Tabela 12A - Resumo da análise de variância para o crescimento relativo da altura das mudas de cafeeiro. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	30.751	5.125	2.718	0.0504*
BLOCOS	4	9.287	2.322	1.231	0.3368
Resíduo	16	30.168	1.886		
CV (%) =		28.37			

R Core Team (2019).

Tabela 13A - Resumo da análise de variância para o diâmetro das mudas de cafeeiro na primeira avaliação. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	0.571429	0.095238	0.941	0.4844
BLOCOS	4	0.471429	0.117857	1.165	0.3510
erro	24	2.428571	0.101190		
CV (%) =		9.16			

Ferreira (2019).

Tabela 14A - Resumo da análise de variância para o diâmetro das mudas de cafeeiro na segunda avaliação. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	0.442857	0.073810	0.566	0.7529
BLOCOS	4	0.671429	0.167857	1.288	0.3027
erro	24	3.128571	0.130357		
CV (%) =		9.06			

Ferreira (2019).

Tabela 15A - Resumo da análise de variância para o diâmetro das mudas de cafeeiro na terceira avaliação. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	0.771429	0.128571	0.915	0.5010
BLOCOS	4	0.328571	0.082143	0.585	0.6767
erro	24	3.371429	0.140476		
CV (%) =		8.28			

Ferreira (2019).

Tabela 16A - Resumo da análise de variância para o diâmetro das mudas de cafeeiro na quarta avaliação. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	1.100000	0.183333	0.502	0.8003
BLOCOS	4	2.142857	0.535714	1.468	0.2429
erro	24	8.757143	0.364881		
CV (%) =		12.08			

Ferreira (2019).

Tabela 17A - Resumo da análise de variância para o diâmetro das mudas de cafeeiro na quinta avaliação. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	3.085714	0.514286	0.935	0.4883
BLOCOS	4	3.600000	0.900000	1.636	0.1977
erro	24	13.200000	0.550000		
CV (%) =		14.66			

Ferreira (2019).

Tabela 18A - Resumo da análise de variância para o crescimento relativo do diâmetro das mudas de cafeeiro. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	7.196	1.1993	5.09	0.00255**
BLOCOS	4	1.592	0.3981	1.69	0.19186
Resíduo	20	4.712	0.2356		
CV (%) =		44.75			

R Core Team (2019).

Tabela 19A - Resumo da análise de variância para a área foliar das mudas de cafeeiro na primeira avaliação. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	1101.526857	183.587810	0.400	0.8714
BLOCOS	4	1199.658857	299.914714	0.654	0.6297
erro	24	11006.053143	458.585548		
CV (%) =		18.50			

Ferreira (2019).

Tabela 20A - Resumo da análise de variância para a área foliar das mudas de cafeeiro na segunda avaliação. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	6072.985714	1012.164286	1.563	0.2011
BLOCOS	4	4447.785714	1111.946429	1.717	0.1791
erro	24	15543.014286	647.625595		
CV (%) =		11.66			

Ferreira (2019).

Tabela 21A - Resumo da análise de variância para a área foliar das mudas de café na terceira avaliação. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	7368.342857	1228.057143	1.005	0.4453
BLOCOS	4	9210.758857	2302.689714	1.884	0.1460
erro	24	29336.997143	1222.374881		
CV (%) =		11.45			

Ferreira (2019).

Tabela 22A - Resumo da análise de variância para a área foliar das mudas de café na quarta avaliação. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	9749.491429	1624.915238	0.890	0.5180
BLOCOS	4	19667.972571	4916.993143	2.692	0.0552
erro	24	43841.791429	1826.741310		
CV (%) =		10.74			

Ferreira (2019).

Tabela 23A - Resumo da análise de variância para a área foliar das mudas de café na quinta avaliação. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	11559.651429	1926.608571	0.760	0.6079
BLOCOS	4	24259.614286	6064.903571	2.394	0.0787
erro	24	60810.785714	2533.782738		
CV (%) =		10.08			

Ferreira (2019).

Tabela 24A - Resumo da análise de variância para o crescimento relativo da área foliar das mudas de café. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	15194	2532	3.104	0.0245*
BLOCOS	4	19600	4900	6.005	0.0022**
Resíduo	21	17135	816		
CV (%) =		11.10			

R Core Team (2019).

Tabela 25A - Resumo da análise de variância para a clorofila total das mudas de café na primeira avaliação. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	0.0001819	3.031e-05	3.209	0.03122*
BLOCOS	4	0.0002803	7.007e-05	7.419	0.00167**
Resíduo	15	0.0001417	9.450e-06		
CV (%) =		14.71			

R Core Team (2019).

Tabela 26A - Resumo da análise de variância para a clorofila total das mudas de café na segunda avaliação. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	0.000051	0.000009	0.228	0.9636
BLOCOS	4	0.000080	0.000020	0.532	0.7135
erro	24	0.000898	0.000037		
CV (%) =		15.26			

Ferreira (2019).

Tabela 27A - Resumo da análise de variância para a clorofila total das mudas de café na terceira avaliação. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	0.000108	0.000018	0.411	0.8644
BLOCOS	4	0.000408	0.000102	2.334	0.0845
erro	24	0.001049	0.000044		
CV (%) =		15.68			

Ferreira (2019).

Tabela 28A - Resumo da análise de variância para a clorofila total das mudas de cafeeiro na quarta avaliação. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	0.000104	0.000017	0.362	0.8955
BLOCOS	4	0.000208	0.000052	1.091	0.3831
erro	24	0.001146	0.000048		
CV (%) =		16.36			

Ferreira (2019).

Tabela 29A - Resumo da análise de variância para a clorofila total das mudas de cafeeiro na quinta avaliação. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	0.000086	0.000014	0.440	0.8449
BLOCOS	4	0.000120	0.000030	0.914	0.4719
erro	24	0.000785	0.000033		
CV (%) =		13.77			

Ferreira (2019).

Tabela 30A - Resumo da análise de variância para o SPAD das mudas de cafeeiro. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	1.012e-04	1.686e-05	3.094	0.0237*
BLOCOS	4	8.748e-05	2.187e-05	4.012	0.0136*
Resíduo	22	1.199e-04	5.451e-06		
CV (%) =		280.20			

R Core Team (2019).

Tabela 31A - Resumo da análise de variância para o peso das mudas de cafeeiro secas. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	11.023429	1.837238	3.776	0.0087**
BLOCOS	4	1.840171	0.460043	0.945	0.4549
erro	24	11.678029	0.486585		
CV (%) =		11.36			

Ferreira (2019).

Tabela 32A - Resumo da análise de variância para índice de fenóis totais no tempo 0. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Fungicidas	6	2.615509	0.435918	2.885	0.0257*
erro	28	4.230120	0.151076		
CV (%) =		5.47			

Ferreira (2019).

Tabela 33A - Resumo da análise de variância para índice de fenóis totais com 12 horas. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Fungicidas	6	2.220029	0.370005	1.049	0.4154
erro	28	9.871600	0.352557		
CV (%) =		8.18			

Ferreira (2019).

Tabela 34A - Resumo da análise de variância para índice de fenóis totais com 24 horas. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Fungicidas	6	0.439280	0.073213	1.269	0.3031
erro	28	1.615360	0.057691		
CV (%) =		3.32			

Ferreira (2019).

Tabela 35A - Resumo da análise de variância para índice de fenóis totais com 48 horas. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Fungicidas	6	2.269234	0.378206	8.461	0.0000***
erro	28	1.251640	0.044701		
	CV (%) =		2.89		

Ferreira (2019).

Tabela 36A - Resumo da análise de variância para índice de fenóis totais com 72 horas. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Fungicidas	6	4.733829	0.788971	10.592	0.0000***
erro	28	2.085640	0.074487		
	CV (%) =		4.17		

Ferreira (2019).

Tabela 37A - Resumo da análise de variância para índice de fenóis totais com 30 dias. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Fungicidas	6	1.098314	0.183052	3.247	0.0150*
erro	28	1.578640	0.056380		
	CV (%) =		3.29		

Ferreira (2019).

Tabela 38A - Resumo da análise de variância para lignina. UFLA, Lavras, MG, 2020.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
FUNGICIDAS	6	100.28	16,71	3.402	0.01884*
BLOCOS	4	136.51	34.13	6.947	0.00127**
Resíduo	19	92.33	4.91		
	CV (%) =		28.95		

R Core Team (2019).