



CARLOS ANACLETO MUQUESSUANE

**SELEÇÃO *IN VITRO* DE NANOPARTÍCULAS, ÓLEOS
ESSENCIAIS E FUNGICIDAS PARA O CONTROLE DE
*Ceratocystis manginecans***

LAVRAS-MG

2024

CARLOS ANACLETO MUQUESSUANE

**SELEÇÃO *IN VITRO* DE NANOPARTÍCULAS, ÓLEOS ESSENCIAIS E
FUNGICIDAS PARA O CONTROLE DE *Ceratocystis manginecans***

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

Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza
Orientador

LAVRAS – MG

2024

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

Muquessuane, Carlos Anacleto.

Seleção *in vitro* de nanopartículas, óleos essenciais e fungicidas
para o controle de *Ceratocystis manginecans*. / Carlos Anacleto
Muquessuane. - 2024.

77 p. : il.

Orientador(a): Edson Ampélio Pozza.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2024.

Bibliografia.

1. Inibição de crescimento. 2. Doenças de plantas. 3. Controle.
I. Pozza, Edson Ampélio. II. Título.

CARLOS ANACLETO MUQUESSUANE

**SELEÇÃO IN VITRO DE NANOPARTÍCULAS, ÓLEOS ESSENCIAIS E
FUNGICIDAS PARA O CONTROLE DE *Ceratocystis manginecans***

**IN VITRO SELECTION OF NANOPARTICLES, ESSENTIAL OILS AND
FUNGICIDES FOR THE CONTROL OF *Ceratocystis manginecans***

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.

APROVADO aos 31 de outubro de 2024.

Dr. Edson Ampélio Pozza – UFLA

Dra. Maria Alves Ferreira – UFLA

Dra. Júlia Marques Oliveira – INCT-Café

Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza
Orientador

LAVRAS – MG

2024

Ao meu Criador, Deus.

Aos meus pais, Hermínio Carlos Muquessuane e Amélia Alberto Tinga.

Aos meus irmãos Bento, Marieta e Cícero.

À minha amada esposa Leta Adriano Machaieie.

E a minha querida filha Génisse Leta Muquessuane.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

O primeiro ato de agradecimento dirijo ao meu Deus, criador dos Céus e da Terra.
À família Muquessuane.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado, possibilitando o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras - UFLA, pela oportunidade de acesso ao ensino público de qualidade e realização deste curso de Pós-Graduação.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Fitopatologia da UFLA, nos ensinamentos repassados didaticamente.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza, na orientação, paciência, incentivo e sua contribuição para realizar esse trabalho.

Ao técnico de laboratório Msc. Sílvio Calazans com ajuda, paciência e transmissão dos seus conhecimentos durante os ensaios.

Ao laboratório de Patologia Florestal, em especial a Prof^a. Dra. Maria Alves Ferreira e a Dra. Gabrielle Avelar Silva, na colaboração inestimável para o desenvolvimento desse trabalho.

À empresa *Florinda óleos essenciais*, representada por Gabriel Zanetti, em nos fornecer óleos essenciais de Melaleuca, Tomilho, Candeia e Capim-limão, usados nesse trabalho.

À Ariane por me auxiliar em todos aspectos administrativos do programa, com toda humildade e gentileza.

Aos colegas do Laboratório de Epidemiologia e Manejo de Doenças de Plantas, Dra. Júlia, Mário, Felipe, Vitória, Mynor, Axel, Gabriely, Ruan, Ana Paula, Nuno e Ana Maria.

Em especial às irmãs Esther Quiceno Mayo e Deisy Yisenia Quiceno Mayo, com o apoio incondicional durante os experimentos e amizade sincera.

A estes, assim como a todos aqueles não mencionados, de forma direta ou indiretamente, ajudaram-me na elaboração deste trabalho o meu “KHANIMAMBU”.

*O dever de cada um de nós é dar tudo ao povo,
sermos os últimos quando se trata de benefícios,
primeiros quando se trata de sacrifícios.*

Isso é que é servir o povo.

Samora Moisés Machel

RESUMO

As espécies de *Ceratocystis* são consideradas de grande importância fitopatológica em diversas espécies de plantas, tanto anuais quanto perenes. Esses patógenos causam cancos e podridões negras em caules e raízes, com consequente murcha, seca e morte das plantas. O cancro de *Ceratocystis*, causada por *Ceratocystis manginecans*, recentemente foi reportada na cultura de café. O *C. manginecans* é um patógeno importante por sua agressividade em plantas não resistentes e, as estratégias para reduzir os danos precisam ser estabelecidas e o manejo de doenças de plantas economicamente importantes, como o café, requer uma boa compreensão. O presente trabalho objetivou selecionar *in vitro* nanopartículas, óleos essenciais e fungicidas para o controle de *C. manginecans*. Foram realizados quatro experimentos, o primeiro para testar os fungicidas tiofanato metílico, tebuconazol, azoxistrobina, ciproconazol, azoxistrobina + ciproconazol, mancozeb e hidróxido de cobre. O segundo, as nanopartículas (NP's) de CuO, ZnO, S e MoO₃. As doses, do 1 e 2 experimento, foram de 0; 2,5; 10; 40; 160; 320 e 640 mg/Kg ou L. O terceiro, os óleos essenciais de *Melaleuca alternifolia*, *Eremanthus erythropappus*, *Thymus vulgaris*, *Eucalyptus radiata* e *Cymbopogon citratus*, nas doses de 0; 100; 200; 400; 1600 e 3200 µL/L. O quarto baseou-se nos melhores tratamentos e isolados menos sensíveis obtidos nos experimentos acima mencionados. Foram usados cinco isolados de *C. manginecans* (KLC1, P14, P311, P711 e P811). Os discos de micélios foram colocados no centro das placas de Petri com o meio de cultura modificado com os tratamentos e realizou-se as medições dos diâmetros das colônias. Os dados obtidos foram utilizados nos cálculos da porcentagem de inibição do crescimento micelial e da dose necessária para redução do crescimento em 50% (EC50). No experimento I, o tiofanato metílico e ciproconazol foram classificados como altamente tóxico (EC50 < 1 mg/Kg ou L), com 100% de inibição micelial dos isolados a partir da dose de 2,5 e 40 mg/Kg ou L, respectivamente. No experimento II, nenhuma das doses de NP's inibiu em 100% o crescimento micelial, entretanto, os isolados foram mais sensíveis às NP's de MoO₃, seguido por ZnO e CuO. No experimento III, a inibição de 100% só foi observada com óleo de *C. citratus*, a partir de 1600 µL/L. O segundo maior desempenho foi obtido por *T. vulgaris*, seguido por *M. alternifolia*. No experimento IV, os isolados foram mais sensíveis ao controle químico em relação aos outros métodos alternativos. Houve diferença de sensibilidade entre os isolados e o KLC 01 e P14 foram os menos sensíveis aos tratamentos.

Palavras-chave: Inibição de crescimento micelial. Cancro de *Ceratocystis*. Controle. EC50.

ABSTRACT

The *Ceratocystis* species are considered of great phytopathological importance in several plant species, both annual and perennial. These pathogens cause cankers and black rots on stems and roots, with consequent wilting, drying and death of the plants. The *Ceratocystis* canker, caused by *Ceratocystis manginecans*, has recently been reported in coffee crops. *C. manginecans* is an important pathogen due to its aggressiveness in non-resistant plants, and strategies to reduce damage need to be established. The management of diseases in economically important plants, such as coffee, requires a good understanding. The present study aimed to select *in vitro* nanoparticles, essential oils, and fungicides for the control of *C. manginecans*. Four experiments were carried out, the first to test the fungicides thiophanate methyl, tebuconazole, azoxystrobin, cyproconazole, azoxystrobin + cyproconazole, mancozeb and copper hydroxide. The second, CuO, ZnO, S and MoO₃ nanoparticles (NP's). The doses, of experiments 1 and 2, were 0; 2.5; 10; 40; 160; 320 and 640 mg/Kg-L. The third, the essential oils of *Melaleuca alternifolia*, *Eremanthus erythropappus*, *Thymus vulgaris*, *Eucalyptus radiata* and *Cymbopogon citratus*, at doses of 0; 100; 200; 400; 1600 and 3200 µL/L. The fourth was based on the best treatments and least sensitive isolates obtained in the above experiments. Five isolates of *C. manginecans* (KLC1, P14, P311, P711 and P811) were used. Mycelial discs were placed in the center of Petri dishes with the culture medium modified with the treatments and measurements of the colony diameters were performed. The data obtained were used to calculate the percentage of mycelial growth inhibition and the dose required to reduce growth by 50% (EC50). In experiment I, thiophanate methyl and cyproconazole were classified as highly toxic (EC50 <1 mg/Kg-L), with 100% mycelial inhibition of the isolates from doses of 2.5 and 40 mg/Kg-L, respectively. In experiment II, none of the NP doses inhibited mycelial growth by 100%, however, the isolates were more sensitive to MoO₃ NP's, followed by ZnO and CuO. In experiment III, 100% inhibition was only observed with *C. citratus* oil, from 1600 µL/L. The second best performance was obtained by *T. vulgaris*, followed by *M. alternifolia*. In experiment IV, the isolates were more sensitive to chemical control compared to other alternative methods. There was a difference in sensitivity between the isolates and KLC 01 and P14 were the least sensitive to treatments.

Keywords: Growth inhibition. *Ceratocystis* canker. Control. EC50.

INDICADORES DE IMPACTOS

Este trabalho apresenta impactos tecnológicos e econômicos significativos para o setor cafeeiro, através da avaliação *in vitro* de diferentes métodos de controle para *Ceratocystis manginecans*, patógeno emergente e agressivo, causador de cancro em café. Os resultados demonstram potenciais alternativas para o manejo da doença, com especial destaque para o controle químico utilizando tiofanato metílico e ciproconazol, que apresentaram alta toxicidade ao patógeno ($EC_{50} < 1 \text{ mg/Kg}$ ou L). O estudo também avaliou métodos alternativos de controle, incluindo nanopartículas e óleos essenciais, proporcionando opções mais sustentáveis para o manejo integrado da doença. As descobertas beneficiam diretamente produtores de café em territórios afetados por esse patógeno, contribuindo para a sustentabilidade da produção através da redução de perdas econômicas consequentes da doença. O trabalho tem potencial para impactar toda a cadeia produtiva do café, desde pequenos até grandes produtores, fornecendo informações técnicas cruciais para o manejo eficiente da doença. A pesquisa alinha-se com os objetivos de agricultura sustentável e produção responsável, ao avaliar alternativas menos impactantes ao meio ambiente, como óleos essenciais e nanopartículas, além de contribuir para a otimização do uso de fungicidas convencionais através da determinação de doses efetivas.

IMPACT INDICATORS

This research presents significant technological and economic impacts for the coffee sector through the *in vitro* evaluation of different control methods for *Ceratocystis manginecans*, an emerging and aggressive pathogen causing canker in coffee. The results demonstrate potential alternatives for disease management, with particular emphasis on chemical control using methyl thiophanate and cyproconazole, which showed high toxicity to the pathogen ($EC_{50} < 1 \text{ mg/Kg or L}$). The study also evaluated alternative control methods, including nanoparticles and essential oils, providing more sustainable options for integrated disease management. The findings directly benefit coffee producers in territories affected by the pathogen, contributing to production sustainability by reducing economic losses caused by the disease. The work has the potential to impact the entire coffee production chain, from small to large producers, providing crucial technical information for efficient disease management. The research aligns with the objectives of sustainable agriculture and responsible production by evaluating environmentally less impactful alternatives, such as essential oils and nanoparticles, while contributing to the optimization of conventional fungicide use through the determination of effective doses.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Diâmetro de crescimento micelial (cm), dose 0 mg/Kg ou L, dos 31 isolados de *Ceratocystis manginecans*.
- Figura 2** Crescimento micelial de isolados de *Ceratocystis manginecans* em 34 diferentes doses (mg/Kg ou L) de fungicidas.
- Figura 3** Diâmetro de crescimento micelial (cm), dose 0 mg/L, dos isolados de 36 *Ceratocystis manginecans*.
- Figura 4** Crescimento micelial de isolados de *Ceratocystis manginecans* em 38 diferentes doses (mg/L) de nanopartículas.
- Figura 5** Diâmetro de crescimento micelial (cm), dose 0 µL/L, dos isolados de 40 *Ceratocystis manginecans*.
- Figura 6** Crescimento micelial de isolados de *Ceratocystis manginecans* em 42 diferentes doses (µL/L) de óleos essenciais.
- Figura 7** Diâmetro de crescimento micelial (cm), dose 0 mg ou µL/L, dos 45 isolados de *Ceratocystis manginecans*.
- Figura 8** Crescimento micelial de isolados de *Ceratocystis manginecans* em 47 diferentes doses (mg ou µL/L) de tratamentos.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Fungicidas, ingredientes ativos e suas respectivas doses usadas no controle <i>in vitro</i> de <i>Ceratocystis manginecans</i> . UFLA, 2024.	28
Tabela 2	Características físicas das NP's usadas no experimento <i>in vitro</i> . UFLA 2024.	28
Tabela 3	Porcentagem de inibição do crescimento micelial em relação a testemunha, de isolados de <i>Ceratocystis manginecans</i> , em diferentes doses de sete fungicidas.	32
Tabela 4	Dose letal de fungicidas, em mg/Kg ou L, para inibir 50% do crescimento micelial (EC50) de isolados de <i>Ceratocystis manginecans</i> .	35
Tabela 5	Porcentagem de inibição do crescimento micelial em relação a testemunha, de isolados de <i>Ceratocystis manginecans</i> , em diferentes doses de quatro nanopartículas.	37
Tabela 6	Dose letal de nanopartículas, em mg/Kg ou L, para inibir 50% do crescimento micelial (EC50) de isolados de <i>Ceratocystis manginecans</i> .	39
Tabela 7	Porcentagem de inibição do crescimento micelial em relação à testemunha, de isolados de <i>Ceratocystis manginecans</i> , em diferentes doses de cinco óleos essenciais.	41
Tabela 8	Dose letal de óleos essenciais, em $\mu\text{L/L}$, para inibir 50% do crescimento micelial (EC50) de isolados de <i>Ceratocystis manginecans</i> .	44
Tabela 9	Porcentagem de inibição do crescimento micelial em relação a testemunha, de isolados de <i>Ceratocystis manginecans</i> , em diferentes doses de nove tratamentos.	46
Tabela 10.	Dose letal de tratamentos, em mg ou $\mu\text{L/L}$, para inibir 50% do crescimento micelial (EC50) de isolados de <i>Ceratocystis manginecans</i> .	49

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1	Tabela 1A. Quantidades das soluções estoque de fungicidas (SE) e meio (MYEA) vertidos em placas de Petri.	70
Anexo 2	Tabela 2A. Quantidades das soluções estoque (SE) de nanopartículas e meio (MYEA) vertidos em placas de Petri.	71
Anexo 3	Tabela 3A. Quantidades das soluções estoque (SE) de óleos e meio (MYEA) vertidos em placas de Petri. .	71
Anexo 4	Tabela 4A. Quantidades das soluções estoque (SE) e meio (MYEA) vertidos em placas de Petri.	72
Anexo 5	Tabela 5A. Análise de Variância para o fatorial triplo do experimento com fungicidas	72
Anexo 6	Tabela 6A. Análise de Variância para o EC50 do experimento com fungicidas.	73
Anexo 7	Tabela 7A. Análise de Variância para o fatorial triplo do experimento com NP's	73
Anexo 8	Tabela 8A. Análise de Variância para o EC50 do experimento com NP's	73
Anexo 9	Tabela 9A. Análise de Variância para o fatorial triplo do experimento com óleos.	74
Anexo 10	Tabela 10A. Análise de Variância para o EC50 do experimento com óleos	74
Anexo 11	Tabela 11A. Análise de Variância para o fatorial triplo do experimento com tratamentos.	74
Anexo 12	Tabela 12A. Porcentagem inibição do crescimento micelial, de isolados de <i>Ceratocystis manginecans</i> , em função de doses de tratamentos, em relação ao controle, dose zero de produtos.	75
Anexo 13	Tabela 13A. Análise de Variância para o EC50 do experimento com tratamentos.	76

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1. Cultura do cafeeiro e doenças	17
2.2. <i>Ceratocystis</i> spp.	18
2.2.1. Taxonomia e morfologia	18
2.2.4. Importância de espécies de <i>Ceratocystis</i>	20
2.2.5. Controle da murcha associada ao género <i>Ceratocystis</i>	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1. Experimento I: Fungicidas no controle <i>in vitro</i> de <i>C. manginecans</i>	28
3.2. Experimento II: Nanopartículas no controle <i>in vitro</i> de <i>C. manginecans</i>	29
3.3. Experimento III: Óleos essenciais no controle <i>in vitro</i> de <i>C. manginecans</i>	30
3.4. Experimentos IV: Comparação dos métodos	30
3.6. Análise estatística	31
4. RESULTADOS	32
4.1. Avaliação dos fungicidas no controle <i>in vitro</i> de <i>C. manginecans</i>	32
4.2. Avaliação das nanopartículas no controle <i>in vitro</i> de <i>C. manginecans</i>	36
4.3. Avaliação dos óleos essenciais no controle <i>in vitro</i> de <i>C. manginecans</i>	40
4.4. Comparação dos melhores tratamentos para o controle de <i>C. manginecans</i>	45
5. DISCUSSÃO	51
6. CONCLUSÃO	58
7. REFERÊNCIAS	59
ANEXOS	70

1. INTRODUÇÃO

As espécies de *Ceratocystis* são importantes patógenos em diversas espécies de plantas. Esses microrganismos têm vasta gama de hospedeiros, desde as plantas anuais (MURAMOTO et al., 2012; HARRINGTON et al., 2015) até as perenes (TARIGAN et al., 2011; CHEN et al., 2013). Podem causar cancos e podridões em caules e raízes, com consequente murcha, seca e morte das plantas, reduzindo a produção das culturas agrícolas e das plantas florestais (NASUTION, 2019).

Ceratocystis spp. encontra-se distribuído em praticamente todas as áreas cultivadas dos cinco continentes (MARIN-FELIX et al., 2017) e têm como hospedeiros principais as plantas lenhosas (LIU et al., 2021). No Brasil, *Ceratocystis eucalypticola*, *C. fimbriata*, *C. mangicola* e *C. mangivora*, causam danos significativos em eucalipto, cacau e mangueira (FERREIRA et al., 1999; VAN WYK et al., 2011). No entanto, essas duas últimas espécies foram recentemente reclassificadas por Harrington et al. (2023) como sinônimas de *C. manginecans*. Além disso, os mesmos autores descreveram mais cinco novas espécies pertencentes ao clado Latino-Americano de *Ceratocystis*, *C. atlantica*, sp. nov., *C. alfenasii*, sp. nov., *C. costaricensis*, sp. nov., *C. cubensis*, sp. nov., e *C. xanthosomatis*, sp. nov. As duas primeiras ocorrem no Brasil.

Entretanto, *Ceratocystis manginecans*, também presente no Brasil, tem causado sintomas severos em várias plantas. Esse patógeno já foi reportado causando doenças em mangueiras (VAN WYK et al., 2007), acácias (TARIGAN et al., 2011) e eucaliptos (CHI e THU, 2016). No Paquistão e Oman, a murcha matou milhares de mangueiras (AL ADAWI et al., 2006; VAN WYK et al., 2007) e, recentemente, foi relatado por Chi et al. (2021) e Chi (2022), em milhares de hectares de plantações de acácia no Vietnã. São descritos como principais sintomas a murcha lateral, necrose ou descoloração vascular dos tecidos lenhosos, gomose, seca de ramos e morte de toda a árvore (AL ADAWI et al., 2010).

No Brasil, uma das principais ‘commodities’, ainda com grande impacto social, é o café. O cafeeiro pode ser infectado por vários patógenos, dentre eles *Cercospora coffeicola* e *Hemileia vastatrix*, agentes etiológicos da cercosporiose e da ferrugem, respectivamente. Essas doenças são consideradas de maior importância econômica para essa cultura. A cercosporiose causa intensas desfolhas e danos de frutos e a ferrugem proporciona perdas até 90% na safra e uma desfolha superior a 70% (POZZA, 2021). Porém, doenças emergentes, como o cancro e a murcha de *Ceratocystis* ainda precisam ser estudadas quanto a perdas e seus efeitos nessa importante cultura.

Uma recente pesquisa feita por Almeida et al. (2024), reportaram plantas de café com sintomas similares à murcha de *Ceratocystis* encontrados nas plantas de eucaliptos, acácias e mangueiras. As mesmas apresentaram sintomas como folhas cloróticas, descoloração interna e externa, cancro no caule, gomose e murcha. Os mesmos autores, por meio de testes morfológicos e moleculares dos isolados, identificaram a espécie como *C. manginecans*. Em outros países também já foi relatada a infecção de *Ceratocystis* spp em plantas de cafeeiro (CAICEDO et al., 2013; CASTRO e CORTINA, 2012; VAN WYK et al., 2010).

Existem evidências de resistência à infecção por *C. colombiana* e *C. papillata* conferida por *C. canephora* e *C. liberica* (CAICEDO et al., 2013), assim como resistência a *C. fimbriata* em clones de *E. urophylla*, *E. grandis* e *E. saligna* (FIRMINO et al., 2013) e a *C. manginecans* em clones de híbridos de eucalipto e *E. urophylla* (CHI et al., 2023). Essa resistência é atribuída à resposta de defesa envolvendo mecanismos bioquímicos e estruturais, caracterizados por formação de tecidos lignificados ao redor do local de infecção, evitando o anelamento no caule (CAICEDO et al., 2013 citando FERNANDEZ, 1964; FIRMINO et al., 2013).

As estratégias para controlar a murcha de *Ceratocystis* incluem o corte e a poda, porém, esses manejos têm sido onerosos e não foram eficazes (NASUTION, 2019) e, nesse sentido, vários trabalhos de pesquisa de diferentes métodos de controle foram realizados como forma de reduzir a infecção do patógeno (PANSERA, VERGANI e SANTOS, 2023; SARANYA e YASHODA, 2023).

Em ensaios de controle químico da murcha, os fungicidas à base de Mancozeb, Metalaxyl e Carbendazim inibiram o crescimento da colônia de *C. manginecans* e reduziram a incidência da doença em mudas de acácias em até 23,3% (TRAN et al., 2018). O Tiofanato metílico em concentração de 800 mg/L inibiu 84,7% do crescimento micelial do patógeno (AHMAD, MOOSA e REHMAN, 2019). As nanopartículas (NP's) também têm demonstrado resultados positivos no controle de doenças de plantas, como exemplo, a NP de Quitosana conteve o crescimento micelial de *C. fimbriata* em ensaio *in vitro* (XING et al., 2018). Em cafeeiros, Carvalho et al. (2022) e Leal et al. (2024) demonstraram a eficácia das NP's de Ag no controle de doenças, com concentrações de 500 e 400 mg/L, reduziram em 58 e 97,5% a área abaixo da curva de progresso da cercosporiose e ferrugem em mudas, respectivamente.

Rodrigues et al. (2018), usaram como agente de controle biológico o *Trichoderma* e observaram a inibição entre 92,3 e 98,5% na formação de peritécios e 100% do crescimento de *C. cacaofunesta*. As concentrações de 10^6 , 10^7 , 10^8 e 10^9 UFC/mL das cepas de *Bacillus subtilis* mutantes diminuíram em 71, 90, 100 e 100%, respectivamente, o diâmetro da lesão da podridão

negra na batata-doce causado por *C. fimbriata* (WANG et al., 2021). As concentrações únicas de 0,2% dos óleos de capim-limão e funcho controlaram a murcha de *Ceratocystis* em mudas de Kiwi em 24,2 e 26,2%, respectivamente (PANSERA, VERGANI e DOS SANTOS, 2023). A concentração 15% de extratos de eucalipto, cebola, neem, buganvília e alho inibiram em 22,5, 49,3; 63,5; 65 e 71,5%, respectivamente, o crescimento da colônia de *C. manginecans* (AHMAD, MOOSA e REHMAN, 2019).

Sendo assim, *C. manginecans* é um importante patógeno do cafeeiro, devido a sua capacidade de causar perdas (CHI et al., 2023) e as estratégias de controle na cultura de cafeeiro precisam ser estudadas. Dessa forma, o presente trabalho objetivou realizar seleção de moléculas ‘in vitro’ com potencial para o controle de *Ceratocystis manginecans*, isolado do cafeeiro.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Cultura do cafeeiro e doenças

O café arábica (*Coffea arabica* L.) foi introduzido no Brasil em 1727 e se tornou um importante produto agrícola ligado à história e ao desenvolvimento econômico do país. A produção total estimada na safra 2021/22 foi de 167,2 milhões de sacas. A produção de Arábica foi de aproximadamente 93,97 milhões de sacas contra 73,2 milhões de sacas do Robusta (ICO, 2022).

O Brasil é considerado o maior produtor e exportador de café do mundo, responsável por 45% da produção mundial, produzindo 47,71 milhões de sacas beneficiadas em 2021, sendo 31,4 milhões de café arábica. Em 2023 estima-se a produtividade média de café arábica de aproximadamente 24,8 sacas por hectare. Ou seja, aumento de 10,2% em relação à safra 2022, com produção total de 37,4 milhões de sacas. O estado de Minas Gerais concentra a maior área de produção da espécie arábica, com 1,1 milhão de hectares e representa 73% da área cultivada no país. Estima-se, nesse estado, uma produção de 27,1 milhões de sacas em 2023 (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2023).

No mundo, várias doenças afetam a produtividade do cafeeiro, dentre essas, destacam-se a ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*), a cercosporiose (*Cercospora coffeicola*), a mancha de phoma (*Phoma* spp.), a mancha aureolada (*Pseudomonas syringae* pv. garcae) (POZZA, 2021) a murcha de Fusarium (*Fusarium xylarioides*) e o cancro do cafeeiro

(*Ceratocystis fimbriata*) (MARIN et al., 2003), causando perdas significativas. O cancro do cafeeiro foi relatado primeiro na Indonésia em 1900 (MARIN et al., 2003 citando PONTIS, 1951) e atualmente é encontrado em várias áreas cafeeiras na Colômbia e na Venezuela (MARIN et al., 2003).

C. fimbriata foi descrito, na Colômbia e na Venezuela, como o patógeno causador do cancro do cafeeiro, capaz de causar perdas de 20 a 50 % na produtividade (CASTRO e CORTINA, 2012). Posteriormente, a partir de análises morfológicas e moleculares de isolados obtidos no solo e em outros hospedeiros (cacau e citrinos), Van Wyk et al. (2010) confirmaram pertencerem a linhagens de complexo de *C. fimbriata* (s.l.). Os autores acima mencionados, denominaram essas novas espécies como *Ceratocystis colombiana* e *Ceratocystis papillata*.

Quanto *C. manginecans*, antes considerada uma única espécie, agora é compreendida como um complexo de várias espécies estreitamente relacionadas.

Pesquisas recentes sobre o Clado Latino Americano, revisou a diversidade de *C. manginecans*. A partir de sequenciamentos de múltiplos genes de isolados diferentes hospedeiros e regiões, análises filogenéticas, morfológicas e culturais, o estudo resultou em cinco novas espécies, descritas como *C. atlantica*, sp. nov., *C. alfenasii*, sp. nov., *C. costaricensis*, sp. nov., *C. cubensis*, sp. nov. e *C. xanthosomatis*, sp. nov. As espécies *C. mangicola* e *C. mangivora*, foram requalificadas como *C. manginecans* (HARRINGTON et al. 2023).

2.2. *Ceratocystis* spp.

2.2.1. Taxonomia e morfologia

O gênero *Ceratocystis* (Sordariomycetes, Microascales, Ceratocystidaceae) foi proposto em 1890 nos EUA, com base em *C. fimbriata*, descrito primeira vez como o agente causal da podridão negra da batata (*Ipomoea batatas*) (HOLLAND et al., 2019) e tem 39 espécies (MARIN-FELIX et al. 2017; BARNES et al. 2018).

As espécies de *Ceratocystis*, morfológicamente, produzem massas mucilaginosas de ascósporos, esses tem forma de chapéu, de cor marrom a preto, globosos em peritécios alongados (HARRINGTON 2013, DE BEER et al., 2014).

A forma assexuada é caracterizada por ontogenia de conídios fialídicos e produz cadeias de conídios hialinos, unicelulares e cilíndricos, denominados endoconídios (De BEER et al., 2014). Os conídios em forma de barril (conídios doliformes) também podem ser produzidos a

partir de endoconidióforos semelhantes, e a maioria das espécies produzem aleuroconídios escuros e de paredes espessas e, facilitam a sobrevivência em madeira ou no solo (HARRINGTON 2013, DE BEER et al. 2014).

As espécies de *Ceratocystis* spp encontram-se distribuídas em quase todo o mundo e como hospedeiros citam-se as plantas herbáceas e as lenhosas (MARIN-FELIX et al., 2017). As espécies encontradas no Brasil são *C. eucalypticola*, *C. fimbriata*, *C. manginecans*, *C. atlantica*, sp. nov., *C. alfenasii*, sp. nov. (FERREIRA, et al., 1999; VAN WYK et al., 2011; HARRINGTON et al. 2023).

C. manginecans só foi relatado em *Acacia* spp na Indonésia, Malásia e Vietnam (AL ADAWI et al., 2013; TARIGAN et al., 2011; BROWNER, 2015; THU et al., 2012), *Dalbergia sissoo* no Paquistão (AL ADAWI et al., 2013), *Mangifera indica* no Paquistão e Oman (VAN WYK et al., 2007), *Mimusops elengi* na Tailândia (PORNURIYA e SUNPAPAO, 2015) e *Prosopis cineraria* em Oman (AL ADAWI et al., 2013). Recentemente foi reportado no Brasil, em cafeeiro (ALMEIDA et al., 2024).

Quando as plantas são infectadas, apresentam amarelecimento das folhas, cancos no caule, murcha, seca de ramos e morte da planta. O caule apresenta lesões escuras na superfície externa da casca e elas se estendem para o cambio, no sentido descendente para baixo, em direção às raízes. O principal fator associado à disseminação da seca e murcha do cafeeiro, associada à *Ceratocystis*, é a infecção nos ramos plagiotrópicos e ortotrópicos das árvores (CASTRO, 1991). As lesões longitudinais irregulares, marrom escuras, preto ou azul roxo são resultados da degradação do tecido vascular no caule (MARADIAGA, 2022) devido à infecção do patógeno nas células do parênquima (HARRINGTON, 2007) com a combinação de metabólitos secundários da planta e a pigmentação dos esporos e hifas (HARRINGTON, 2013). A presença das hifas no cilindro vascular podem causar a morte dos tecidos e o cancro (HARRINGTON, 2013). Também pode seguir com clorose e amarelecimento das folhas, murcha, muitas vezes podendo ser unilateral ou somente de um lado da árvore e morte da planta, devido a interrupção do fluxo de água e nutrientes na planta (TARIGNAN et al., 2011).

As espécies de *Ceratocystis* spp produzem esporos assexuados, os endoconídios, e os aleurioconídios e os sexuados, os ascósporos (NASUTION, 2019). Para plantas lenhosas, o tipo de esporo mais comum, associado à disseminação são os ascósporos. Os aleurioconídios são disseminados por solo (HARRINGTON, 2007) e os ascósporos produzidos por corpos de frutificação em caules e ramos lenhosos podem ser disseminados por insetos, ferramentas, maquinário, vento e água e é claro vai depender da quantidade de inóculo produzido (KILE,

1993). A presença de ferimentos no hospedeiro é o meio usado por espécies de *Ceratocystis* para penetrar e colonizar (HARRINGTON, 2013). Sendo assim, instrumentos de poda e colheita, mecanizada ou manual, injúrias causadas por condições de ambiente adversas, insetos, nematóides, podem disseminar o patógeno.

2.2.4. Importância de espécies de *Ceratocystis*

As espécies de *Ceratocystis* são consideradas os mais importantes patógenos causadores de doenças em árvores ou plantas lenhosas, provocando uma variedade delas, sendo as mais destacadas os cancos e murchas vasculares (AL ADAWI et al., 2010). Várias espécies foram reportadas como causadoras de danos econômicas significativas em florestas plantadas e devastação dos ecossistemas florestais naturais em vários países do mundo. As mais destacadas foram *C. albifundus*, causador do cancro e doença murcha de *Acacia caffra*, *A. decurrens*, *A. mearnsii* e *A. nigrescens* na África (KAMGAN et al., 2008; ROUX e WINGFIELD, 2009; ROUX et al., 2007), *C. platani*, causador da mancha de cancro e morte de *Platanus spp.* na Europa e nos EUA (TSOPELAS et al., 2017) e, *C. lukuohia* e *C. huliohia*, associados à rápida morte ‘ōhi’a de árvores nativas no Havá (BARNES et al., 2018).

Na América do Sul também casos de *Ceratocystis* foram considerados de maior preocupação nas florestas nativas e plantadas, com destaque na Colômbia e no Brasil. Na Colômbia, as espécies *C. neglecta* causaram perdas em áreas plantadas com *Eucalyptus grandis* (RODAS, 2008) e *C. papillata* em *Annona muricata*, *Citrus spp.* e *Coffea arabica* (VAN WYK et al., 2010). No Brasil a espécie causadora de várias perdas em muitos hospedeiros é *C. fimbriata*, já identificado em *Ficus carica* (VALARINI e TOKESHI, 1980), *Hevea brasiliensis* (SILVEIRA et al., 1994), *Citrus spp* (BORJA et al., 1995), *Eucalyptus spp* (FERREIRA et al., 1999), *Ipomoea batatas* (BARNES et al., 2001), *Annonas squamosa* (SILVEIRA et al., 2006), *Mangifera indica* (BARKER et al. 2003), *Tectona grandis* (FIRMINO et al., 2012) e *Actinidia deliciosa* (PIVETA et al., 2013). Na mangueira (*Mangifera indica*) foram também encontradas as espécies *C. mangivora* e *C. mangicola* (VAN WYK et al., 2011). Em plantações de cacaueteiro (*Theobroma cacao*) foi encontrado *C. cacaofunesta* (MAGALHÃES et al., 2016).

C. manginecans foi descrito a primeira vez em Omã e no Paquistão, associado a devastadora doença de murcha em *Mangifera indica* (AL ADAWI et al., 2006; VAN WYK et al., 2007) e, também em *Prosopis cineraria* e *Dalbergia sissoo* (AL ADAWI et al., 2013). *C. acaciivora* foi considerado como *C. manginecans* com base em análises filogenéticas multigênicas adicionais (FOURIE et al., 2015), mas antes foi descrito como o agente causal da

murcha e da doença de morte de *Acacia mangium* (TARIGAN et al., 2011). *C. eucalypticola*, uma espécie pertencente ao mesmo clado com *C. manginecans*, foi descrita primeira vez em *Eucalyptus* na África do Sul (VAN WYK et al., 2012). No entanto, na mesma pesquisa, também foram relatados os isolados de *Ceratocystis* de eucaliptos no Brasil, Indonésia, Congo, Tailândia, Uganda e Uruguai.

2.2.5. Controle da murcha associada ao gênero *Ceratocystis*

As estratégias para controlar cancro de *Ceratocystis* incluem a poda de galhos com sintomas. No entanto, esse manejo geralmente é oneroso e não é completamente eficaz. Os levantamentos terrestres e/ou aéreos e o monitoramento da incidência e da severidade da doença podem desempenhar papel crucial na prevenção de epidemias, pois fornecem informações essenciais para estabelecer medidas de controle da doença. Embora ainda não esteja em vigor, uma estratégia de controle adequada e econômica a ser aplicada a áreas de cultivo extensas é a implantação de espécies hospedeiras tolerantes ou resistentes à *Ceratocystis* sp (NASUTION, 2019).

Em cafeeiro, há evidências da resistência à infecção por *Ceratocystis*, provavelmente conferida por parental *C. canephora* na hibridização. Nesse caso, a resistência persistiu após o retrocruzamento com o suscetível var. Caturra. Essa resistência também foi registrada na Colômbia em alguns acessos de *C. canephora* e *C. liberica* em inoculações artificiais com *C. colombiana* e *C. papillata* (CAICEDO et al., 2013). Foram reportados e clones de *E. urophylla* e de híbridos de eucaliptos, resistentes aos isolados virulentos de *C. manginecans*, com mortalidade de 0 a 5,0%. No Brasil foram encontrados cinco clones tolerantes à *C. fimbriata*, incluindo dois de *E. urophylla*, um de *E. grandis* e dois de *E. saligna* (FIRMINO et al., 2013).

Estudos foram realizados, *in vitro* assim como *in vivo*, usando diferentes tipos de métodos de controle de *Ceratocystis* spp de maneira a reduzir a disseminação desse patógeno em plantas. Foram relatados alguns métodos com resultados significativos no controle da murcha de *Ceratocystis* em plantas testadas.

a) Controle químico

Diferentes pesquisas foram realizadas para testar fungicidas em laboratório e em casas de vegetação, os quais foram eficazes na inibição do crescimento micelial, germinação de esporos e redução de área necrótica nos órgãos infectados.

Os primeiros experimentos feitos no Brasil para controlar *Ceratocystis* foram realizados por Pereira e Santos (1986) com o mofo cinzento (*C. fimbriata*) da seringueira (*Hevea brasiliensis* L.). Os pesquisadores avaliaram os diferentes tipos de fungicidas, métodos e intervalos de aplicação. Em relação ao controle, o Carbendazim (0,226%), Tiofanato metílico (0,225%), Benomil (0,20%) e Clorotalonil (0,25%) o Triazol Triadimefon (0,087%) e o derivado da guanadina, o Dodine (0,65%), reduziram em 100; 98,2; 90 e 72,5%, respectivamente, a severidade da doença nas plantas quando aplicados em intervalos de até oito dias. O método de aplicação por pulverização, pincelamento total e pincelamento tradicional aumentaram a eficiência dos fungicidas, em relação à testemunha, em 97,3; 94,5 e 47,4%, respectivamente, só na região cortada ou ferida.

Segundo Tran et al. (2018), os fungicidas Mancozeb 640 g/Kg+Metalaxyl M 40 g/Kg, Carbendazim 250 g/L+Hexaconazole 50 g/L, Metalaxyl M 40 g/L+Mancozeb 640 g/L e Carbenzim 500g/L com concentrações de 3.000, 2.500, 6.250 e 1.500 ppm, respectivamente, em 96,8; 96,9; 89,0; 88,9 %, respectivamente, inibiram *in vitro*, o crescimento da colônia de *C. manginecans*. No ensaio em casa de vegetação, dez dias após a inoculação, as mudas de acácias tinham incidência de 100% de doença e, 40 dias depois, as mudas tratadas com Mancozeb 640 g/Kg+Metalaxyl M 40 g/Kg, Carbendazim 250 g/L+Hexaconazole 50 g/L, Carbenzim 500 g/L, Metalaxyl M 40 g/L+Mancozeb 640 g/L, apresentaram incidência de 10,0; 11,1; 22,2 e 23,3%, respectivamente.

Já em estudos feitos *in vitro* por Ahmad, Moosa e Rehman (2019), os fungicidas Tiofanato metílico 70% w/w, Propiconazole 35,7g/L+Chlorothalonil 473g/L, Chlorothalonil 720g/L, Tebuconazole 50% w/w+Trifloxystrobin 25% w/w e Tebuconazole 45% w/w tiveram atividade antifúngica significativa contra *C. manginecans*. A inibição do crescimento micelial foi significativamente proporcional às concentrações testadas (400, 600 e 800 ppm). Quando usou-se concentração máxima, o Tiofanato metílico 70% w/w mostrou maior eficiência com 84,7% de inibição, seguido por Tebuconazole 45% w/w, Propiconazole 35,7g/L+Chlorothalonil 473g/L e Tebuconazole 50% w/w+Trifloxystrobin 25% w/w. O fungicida Chlorothalonil 720g/L teve menor eficiência, com 60,3% de inibição.

b) Nanopartículas

As NP's são definidas como qualquer material que tenha uma ou mais dimensões na escala de 1 a 100 nm. As NP's podem ser obtidas naturalmente ou projetadas. As primeiras são irregulares e variam em tamanho e as NP's projetadas, geralmente são mais uniformes e podem

ter formas únicas (bolas, esféricas, folhas ou hastes) ou em arranjos mais complexos (ELMER e WHITE, 2018).

As NP's demonstram eficácia antimicrobiana significativa, influenciada por características como tamanho, forma e propriedades de superfície. Partículas menores (abaixo de 10 nm) e com formas de bordas afiadas exibem maior atividade. A alta relação superfície/volume favorece a interação com membranas dos fitopatógenos. A funcionalização da superfície com polímeros ou biomoléculas pode melhorar sua eficácia e estabilidade. O método de síntese é crucial para o ajuste fino dessas propriedades, otimizando o desempenho antimicrobiano das nanopartículas como alternativa promissora no controle de fitopatógenos. (NAYANTARA e KAUR, 2018; SHANMUGANATHAN et al., 2018; MENICHETTI et al., 2023).

Vários trabalhos de pesquisa foram feitos com NP's na agricultura para avaliar seus efeitos, principalmente no crescimento e no desenvolvimento de plantas e no controle de doenças, mostrando vantagens das NP's em relação aos métodos culturais convencionais.

Num estudo sobre interações planta-patógeno, McCandless (2005) relatou o uso de nanotecnologia com técnicas de nanofabricação, para avaliar o comportamento de diversos fitopatógenos. Os resultados revelaram mecanismos de infecção em escala nanométrica. *Uromyces appendiculatus*, causador da ferrugem do feijão, orienta-se por cristas de 0,5 µm de altura na superfície foliar, correspondentes aos lábios estomatais e *Colletotrichum graminicola*, responsável pela antracnose no milho, requer contato mínimo de 4,5 µm com a superfície para desenvolver apressórios.

As NP's mais estudadas são os metalóides, óxidos metálicos ou não-metals. Especificamente, metais ou óxidos metálicos de Prata (Ag), Cério (Ce), Cobre (Cu), Manganês (Mn), Titânio (Ti) e Zinco (Zn) (ELMER e WHITE, 2016; WHITE e GARDEA-TORRESDEY, 2018; ADISA et al., 2018; BORGATTA et al., 2018; DIMKPA et al., 2017; PULLAGURALA et al., 2018; DIMKPA et al., 2018). Outras NP's biopoliméricas de base orgânica, como a Quitosana (KUMARASWAMY et al., 2018; DANANJAYA et al., 2017) e β-D-glucano (ANUSUYA e SATHIYABAMA, 2015) foram usadas exclusivamente ou alteradas com outras NP's para melhorar o crescimento das plantas e/ou controlar doenças.

A compreensão dos mecanismos de atividade das NP's contra patógenos em plantas será fundamental para a implantação bem-sucedida de NP's como agroquímicos sustentáveis. Servin et al. (2015) afirmam as NP's podem mitigar doenças patogênicas em culturas por duas vias principais: ação antimicrobiana direta ou ação indireta baseada na estimulação induzida

por nutrição da defesa da planta e processos metabólicos secundários. Na via direta, uma variedade de mecanismos de toxicidade é possível, onde, segundo SALEM et al. (2011), as NP's podem penetrar e se acumular na membrana celular microbiana, causando subsequentemente a lise celular. Lamsale et al. (2011) apresentaram uma imagem de microscopia eletrônica de varredura indicando severa ruptura morfológica em micélio fúngico de *Golovinomyces cichoracearum*, *Sphaerotheca fusca* e *Colletotrichum* spp. devido às NP's de Ag. Para Jo et al. (2009), as NP's de Ag exibem intensa atividade inibitória aos microorganismos, nesse sentido elas penetram e danificam a membrana celular, reduzindo posteriormente a infecção dos patógenos.

Estudos recentes foram realizados para avaliar o efeito das NP's de Ag, B, Mn, Zn e Cu no controle de cercosporiose (*Cercospora coffeicola*) no cafeeiro. Carvalho et al. (2022), citaram redução de 58% na área abaixo da curva de progresso da cercosporiose em mudas de cafeeiro com a NP de Ag em concentração de 500 mg L⁻¹ enquanto os outros tratamentos não diferiram significativamente do controle (água).

Em seguida, outro estudo foi realizado por Leal et al. (2024), para avaliar as concentrações mínimas de NP's no controle da ferrugem do cafeeiro. Observou-se no ensaio *in vitro* a mínima concentração de NP's de CuO e Ag, 50 mg/L, para reduzir em 83 e 85% a germinação dos uredosporos de *Hemileia vastatrix*, respectivamente. Na dose máxima de NP's de CuO e Ag, 400 mg L⁻¹, a inibição foi de 90 e 100%, respectivamente. Quando foi pulverizada 400 mg/L de NP's de CuO e Ag, na casa de vegetação, as NP's reduziram a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) em 92 e 97,5 %, respectivamente.

Hao et al. (2017) observaram redução do diâmetro da colônia de três espécies de Fusarium: *F. culmorum* (19 mm), *F. oxysporum* (20 mm) e *F. equiseti* (25 mm) por NP de Cu, em relação ao controle positivo. Da mesma forma, a inibição do crescimento de *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger* por NP de ZnO (25 mg/L) foram relatados em ensaios de placa com zonas de inibição máxima de 19 e 22 mm de cada fungo, respectivamente (JAYASEELAN et al., 2012). A atividade antifúngica de nanopartículas de Quitosana (CNP's) foi dependente da concentração, no crescimento micelial de *C. fimbriata*. As concentrações de 500, 1000 e 2000 mg/L de CNP's obtiveram a taxa de inibição do crescimento micelial de 35,6; 67,6 e 87,0%, respectivamente (XING et al., 2018).

Possíveis mecanismos de ação de NP's contra fitopatógenos têm sido sugeridos, estes podem ser: liberação de íons metálicos tóxicos para patógenos (BAPAT et al., 2018); adesão de íons à parede celular e membrana citoplasmática, aumentando a permeabilidade e levando à

ruptura do envelope bacteriano (KHORRAMI et al., 2018); desativação de enzimas respiratórias e interrupção da produção de ATP (RAMKUMAR et al., 2017); geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), resultando em dano oxidativo progressivo aos componentes celulares (lipídeos, DNA e proteínas) (RAMKUMAR et al., 2017; LEMIRE et al., 2013); interação com o DNA, causando problemas na replicação e reprodução celular (DURÁN et al., 2016); acúmulo em cavidades na parede celular, causando desnaturação da membrana (LIAO e TJONG, 2019); interferência na transdução de sinal bacteriana, levando à apoptose celular (LI et al., 2018); comprometimento da integridade da membrana celular por meio de interação eletrostática, resultando na diminuição de sua função e polarização (JAGADEESHAN e PARSANATHAN, 2019); interrupção da transdução de energia ao danificar componentes mitocondriais e interferência na assimilação de nutrientes (LEMIRE et al., 2013); genotoxicidade e disfunção protéica e perda de atividade enzimática (JAGADEESHAN e PARSANATHAN, 2019).

Os mecanismos, acima mencionados, podem ocorrer individualmente ou em combinação, dependendo da natureza das NP's (composição, tamanho, forma), sua concentração, método de aplicação e tempo de exposição, assim como do tipo de patógeno (KHAN e RIZVI, 2014; HUSSAIN et al., 2016).

c) Controle biológico

Microrganismos endofíticos também apresentam potencial como ferramenta promissora para reduzir o impacto de doenças na agricultura. O controle biológico por meio do uso de bactérias endofíticas também é opção, tanto por parasitismo quanto por sua capacidade de induzir resistência sistêmica e ainda contribuir para o crescimento e o desenvolvimento da planta (NASUTION, 2019).

Em ensaio *in vitro*, em cultivo pareado, Rodrigues et al. (2018) avaliaram o efeito antagônico de diferentes espécies de *Trichoderma* ao *Ceratocystis cacaofunesta*. Quase todos agentes de controle avaliados (*T. martiale*, *T. atroviride*, *T. longibrachiatum*, *T. koningiopsis*, *T. virens*, *T. martiale*, *T. asperellum*, *T. pseudokoningii*, *T. harzianum* e *T. stromaticum*) inibiram o crescimento do patógeno em 100% no terceiro dia de avaliação. Os autores também relataram a inibição entre 92.3 e 98.5% da formação de peritécios do patógeno por *T. virens*, *T. harzianum*, *T. longingiopsis* e *T. atroviride*.

O efeito de *T. harzianum*, *T. viride* e *B. subtilis* foram avaliados no crescimento micelial de *C. manginecans*, *in vitro*. *T. viride* e *T. harzianum* foram antagônicos, com redução de 73,3

e 87,3% no crescimento micelial, respectivamente. Enquanto *B. subtilis* obteve inibição de 20% (AHMAD, MOOSA e REHMAN, 2019). Porém, *in vivo* as cepas de *B. subtilis* selvagens e mutantes reduziram os sintomas da podridão negra na batata-doce, causados por *C. fimbriata*. Ao comparar com o controle, o diâmetro da lesão diminuiu em 71, 90% em concentrações de 10^6 , 10^7 , e de 100% para 10^8 e 10^9 UFC/mL da cepa mutante, respectivamente. Quanto à cepa selvagem, o diâmetro da lesão diminuiu em 56, 74, 77 e 93% em concentrações de 10^6 , 10^7 , 10^8 e 10^9 UFC/mL, respectivamente (WANG et al., 2021).

d) Óleos e extratos vegetais

Como forma alternativa ao uso dos métodos químicos no controle de doenças, e ambientalmente aceito, várias pesquisas têm sido voltadas ao uso de óleos e extratos vegetais no manejo de doenças.

Em seu trabalho *in vitro*, Fracasso (2019), avaliou a eficiência de extratos etanólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), alho (*Allium sativum*), arruda (*Ruta graveolens*), canela-da-China (*Cinnamomum aromaticum*), capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*) e cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*) em diferentes concentrações no controle de *C. fimbriata* no Kiwi (*Actinidia deliciosa*). A concentração de 100% dos extratos de canela-da-China e cravo-da-Índia inibiram o crescimento micelial em 100%, durante os dez dias.

Pansera, Vergani e Santos (2023), no ensaio *in vitro* e *in vivo*, usaram óleos essenciais e extratos como produtos alternativos para controlar *C. fimbriata*, também em mudas de Kiwi. Na pesquisa feita no laboratório os autores relataram a inibição total do crescimento micelial a partir da concentração de 0,1% de óleos essenciais de funcho (*Foeniculum vulgare*) e de capim-limão (*Cymbopogon citratus*). Para os extratos pirolenhoso e de pimenta (*Piper nigrum*), as concentrações máximas de 0,5 e 20% reduziram o crescimento micelial do fungo em 49,7 e 100%, respectivamente. Quanto ao ensaio *in vivo*, as concentrações únicas de 0,2% dos óleos de capim-limão e funcho controlaram a murcha de *Ceratocystis* em mudas em 24,2 e 26,2%, respectivamente.

O óleo essencial na base de *Perilla frutescens* reduziu o crescimento do micélio de *C. fimbriata*. A concentração de 25 $\mu\text{L/L}$ inibiu moderadamente e a de 100 $\mu\text{L/L}$ induziu a 100% de inibição do crescimento micelial em colônia de 3 dias após a inoculação. No ensaio *in vivo*, a concentração de 100 $\mu\text{L/L}$ do óleo resultou com menor perda de peso, acima de 15%, quando comparada com outros tratamentos, durante os 21 dias de armazenamento da batata doce (ZHANG et al., 2018).

Em outro ensaio, as concentrações testadas de 5, 10 e 15% de extratos folhas de Nim (*Azadirachta indica*), alho (*Allium sativum*), cebola (*Allium cepa*), folhas de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) e folhas de buganvília (*Bougainvillea spectabilis*) inibiram significativamente o crescimento da colônia *C. manginecans*. A inibição máxima de 71,5% do crescimento das colônias foi observada em 15% de concentração de extratos de alho seguido por buganvília (65%), nim (63,5%) e cebola (49,3%), enquanto a menor inibição foi produzida por eucalipto (22,5%) (AHMAD, MOOSA e REHMAN, 2019).

Souza (2020), verificou efeito significativo de óleos essenciais de *Azadirachta indica*, *Eremanthus erythropappus* e *Melaleuca alternifolia* na germinação de uredinósporos de *H. vastatrix* e no controle da ferrugem em mudas de café. No ensaio *in vitro*, as doses de 0,25; 0,5; 1,0 e 2,0% dos óleos inibiram em 92,39; 93,97; 93,10 e 94,25% a germinação de uredinósporos, respectivamente. Na casa de vegetação, os óleos de *A. indica*, *M. alternifolia* e *E. erythropappus*, na dose de 0,25%, obtiveram eficiência no controle da ferrugem de 70,27; 60,15 e 52,39%, respectivamente, em relação à testemunha, na área abaixo da curva do progresso da severidade. Para Pereira et al. (2012), a partir da concentração de 1000 µL/L, para óleo de *M. alternifolia*, *Thymus vulgaris*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus* e 2000 µL/L de *A. indica* e *Corymbia citriodora*, inibiram em 100% a germinação de uredinósporos de *H. vastatrix*.

O efeito antifúngico de óleo essencial de Melaleuca, *Melaleuca alternifolia*, foi avaliado no controle *in vitro* de *Colletotrichum falcatum*, *Colletotrichum truncatum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium sacchari* e *Cylindrocladium* sp., em concentrações de 100, 200, 400, 800, 1600 µL/L de óleo. A concentração máxima promoveu maior eficiência de controle de 99, 83, 59, 50 e 11% de *C. falcatum*, *C. truncatum*, *C. gloeosporioides*, *F. sacchari* e *Cylindrocladium* sp., respectivamente (ZANETTI, 2018).

C. manginecans é um patógeno emergente no cafeeiro, representando uma nova ameaça para esta cultura economicamente importante. As estratégias de controle convencionais para doenças causadas por *Ceratocystis* spp., como poda e tratamentos químicos, muitas vezes são caras e ineficazes. Diante disso, há uma necessidade urgente de desenvolver métodos de controle alternativos, eficientes, econômicos e ambientalmente sustentáveis.

Um estudo de seleção ‘*in vitro*’ de NP’s, óleos essenciais e fungicidas para o controle de *C. manginecans* é justificável e promissor. Pesquisas anteriores demonstraram o potencial destes agentes no controle de diversos fitopatógenos, incluindo outras espécies de *Ceratocystis*. As NP’s, particularmente as de Ag e CuO, apresentaram resultados encorajadores contra

patógenos do cafeeiro. Óleos essenciais, como os de funcho e capim-limão, demonstraram capacidade de inibir o crescimento micelial de *Ceratocystis* spp. Além disso, a avaliação de fungicidas convencionais e alternativos pode fornecer perspectivas valiosas para o desenvolvimento de estratégias de manejo integrado. Este estudo 'in vitro' permitirá uma triagem rápida e eficiente de diversos agentes de controle, identificando os mais promissores para futuros testes em condições de campo, potencialmente acelerando o desenvolvimento de soluções eficazes para esta nova ameaça ao cafeeiro.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados de *C. manginecans* KLC1, P14, P311, P711 e P811 foram obtidos da coleção do laboratório de Patologia Florestal do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras e os óleos essenciais de Candeia (*Eremanthus erythropappus*), Capim-limão (*Cymbopogon citratus*), Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) e Tomilho (*Thymus vulgaris*) foram fornecidos pela empresa Florinda óleos essenciais.

Foram realizados quatro experimentos *in vitro*:

- Experimento I: Fungicidas no controle *in vitro* de *C. manginecans*;
- Experimento II: Nanopartículas no controle *in vitro* de *C. manginecans*;
- Experimento III: Óleos essenciais no controle *in vitro* de *C. manginecans*;
- Experimento IV: Comparação dos melhores tratamentos selecionados nos três experimentos acima.

Foi usado o Delineamento em Blocos Casualizados (DBC) com quatro repetições. Cada repetição foi constituída por uma placa de Petri de 90 x 15 mm, representando uma unidade experimental ou parcela. O meio de cultura usado foi o Maltose Yeast Extract Agar (MYEA). Imediatamente após a montagem dos experimentos, as placas de Petri foram incubadas na temperatura de $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ com fotoperíodo de 12h escuro e 12h claro e luz do tipo fluorescente, com intensidade luminosa de $276,3 \mu\text{mol/s/m}^2$ por 10 dias.

3.1. Experimento I: Fungicidas no controle *in vitro* de *C. manginecans*

Neste experimento foram avaliados sete fungicidas (Tabela 1) do grupo químico dos Triazois, Estrobilurinas, Benzimidazois, Ditiocarbamatos e Cúpricos para verificar a inibição do crescimento micelial de *Ceratocystis manginecans*.

A seleção das doses utilizadas no experimento *in vitro* para *C. manginecans* foi baseada em uma abordagem exploratória, dada a ausência de recomendações específicas para este patógeno. As doses foram escolhidas tomando como referência o registro de produtos fungicidas utilizados no cafeeiro para patógenos necrotróficos similares ao *C. manginecans*. É importante ressaltar, as doses empregadas *in vitro* diferem das doses de campo. Isso se deve às diferentes condições de exposição entre os dois ambientes. Assim, considerando essas diferenças, optou-se por testar um intervalo de doses com concentrações tanto abaixo quanto acima das recomendadas. Esta abordagem permite uma avaliação mais ampla da sensibilidade do *C. manginecans* aos fungicidas testados, possibilitando a determinação da EC50.

Tabela 1. Fungicidas, ingredientes ativos e suas respectivas doses usadas no controle *in vitro* de *Ceratocystis manginecans*. UFLA, 2024.

Produto comercial	Ingrediente ativo (i.a)	Dose comercial/ha	Concentração do i.a	Dose i.a.* (mg/Kg ou L)
ALTO 100	Ciproconazol	0,75 L	100 g/L	187,5
AMISTAR	Azoxistrobina	100 g	500 g/kg	125
CERCOBIN	Tiofanato metílico	700 g	875 g/kg	1.531,25
MANZATE	Mancozeb	5 Kg	800 g/Kg	10.000
PRIORI XTRA	Azoxistrobina + Ciproconazol	750 mL	200 g/L 80 g/L	375** 150
SUPERA	Hidróxido de cobre	2 L	350 g/L	1.750
TEBUFORT	Tebuconazol	1 L	200 g/L	500

*Considerou-se um volume de calda para 400 litros por hectare. **Dose utilizada no experimento.

Fonte: Do autor (2024)

Foram avaliadas 7 doses de cada fungicida (Tabela 1) e 5 isolados de *Ceratocystis*. O esquema de análise de variância foi o fatorial triplo, 7x7x5. O fator A foi constituído por 7 fungicidas, o B as suas respectivas doses e C os 5 isolados. As doses do fator B foram de 0; 2,5; 10; 40; 160; 320 e 640 mg/Kg ou L.

3.2. Experimento II: Nanopartículas no controle *in vitro* de *C. manginecans*

O experimento foi conduzido em esquema fatorial triplo de análise de variância. O mesmo foi composto por 4 NP's, 7 doses e os 5 isolados, 4x7x5. O fator A foram as NP de MoO₃, CuO, S e ZnO, fator B as suas respectivas concentrações, de 0; 2,5; 10; 40; 160; 320 e 640 mg/L) e os 5 isolados, o fator C (Tabela 2). O Tiofanato metílico (2,5 mg/Kg), fungicida padrão, foi usado como tratamento adicional.

Tabela 2. Características físicas das NP's usadas no experimento *in vitro*. UFLA 2024.

Nanopartículas	Características	
	Granulometria (nm)	Pureza (%)
CuO	40	99
S	60 - 70	98 ⁺
MoO ₃	13 - 80	99,94 ⁺
ZnO	35 - 45	99 ⁺

Fonte: Do autor (2024)

3.3. Experimento III: Óleos essenciais no controle *in vitro* de *C. manginecans*

Neste experimento foram usados óleos essenciais de Eucalipto, Capim-limão, Melaleuca, Candeia e Tomilho. Foram testadas 7 doses de cada óleo 0; 100; 200; 400; 800; 1600 e 3200 $\mu\text{L/L}$.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial triplo 6x7x5 de análise de variância. O fator A foram os óleos essenciais, fator B as suas respectivas concentrações e os 5 isolados, o fator C. O tiofanato metílico (2,5 mg/Kg) foi usado como tratamento adicional.

3.4. Experimentos IV: Comparação dos métodos

De cada experimento acima, foram selecionados os melhores tratamentos para inibir o crescimento micelial. Sendo assim, o experimento foi conduzido em esquema fatorial triplo de análise de variância 9 x 5 x 2. Ou seja, composto por 9 produtos (ciproconazol, azoxistrobina, azoxistrobina+ciproconazol, tebuconazol, NP's de CuO, ZnO, MoO₃, óleos de Melaleuca, de Capim-limão e de Tomilho), em 5 doses (0, 1, 10, 100 e 1000 mg/Kg ou L) e 2 isolados (KLC 01 e P14). O fator A foram os produtos, fator B as suas respectivas concentrações e os 2 isolados, o fator C. O tiofanato metílico (2,5 mg/Kg) foi usado como tratamento adicional.

3.5. Montagem dos experimentos e avaliação dos tratamentos

De cada tratamento foi preparada a solução estoque (SE) (Anexo Tabela 1A-4A). Em cada 35 mL de SE de óleos essenciais foram adicionados 50 μL de Tween 80[®], um agente surfactante. As diferentes quantidades de SE determinadas (Fórmula 1) foram adicionadas no Erlenmyer contendo MYEA de modo a completar o volume total. Para inibir a contaminação foi adicionado 250 $\mu\text{L}/350\text{ mL}$ MYEA do antibiótico, Rifamicina.

$$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2 \quad (\text{Fórmula 1})$$

Sendo:

- C1 - concentração inicial;
- V1 - volume inicial;
- C2 - concentração final;
- V2 - volume final.

Dentro da capela de fluxo laminar foi vertido em placas de Petri o meio de cultura modificado com o tratamento. Os discos de micélio de 5 mm dos isolados foram removidos da margem da colônia da cultura pura com 14 dias após o isolamento e transferidos para o centro da placa com meio de cultura modificado com diferentes doses. A água destilada foi usada como controle negativo e o tiofanato metílico à 2,5 mg/Kg como controle positivo.

Dez dias após o período de incubação na BOD (Biochemical Oxygen Demand), foram feitas as medições, em posições ortogonais, do diâmetro das colônias com ajuda do paquímetro digital. Depois das avaliações do crescimento micelial, a formula 2 foi usada para calcular a porcentagem de inibição do crescimento micelial.

$$\text{Inibição de crescimento micelial (\%)} = \frac{(DC-DT)}{(DC)} \times 100\% \quad (\text{Fórmula 2})$$

Sendo:

- DC – diâmetro micelial no controle (água);
- DT – diâmetro micelial no tratamento.

3.6. Análise estatística

Para testar os pressupostos de análise de variância (normalidade e homocedasticidade) os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett ($p > 0,05$). Verificados os pressupostos, os dados foram submetidos à análise de variância, ANOVA (Teste F $p \leq 0,05$) e quando significativo, as variáveis qualitativas foram comparadas por Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade ($p < 0,05$) e, para as quantitativas foram feitas análise por regressão. A determinação dos valores de EC50 foram por meio do pacote *ec50estimator* (ALVES, 2022). Foi usado o programa estatístico R. Os experimentos foram repetidos para validação dos dados e realizada análise conjunta no tempo para avaliar se houve diferença entre eles.

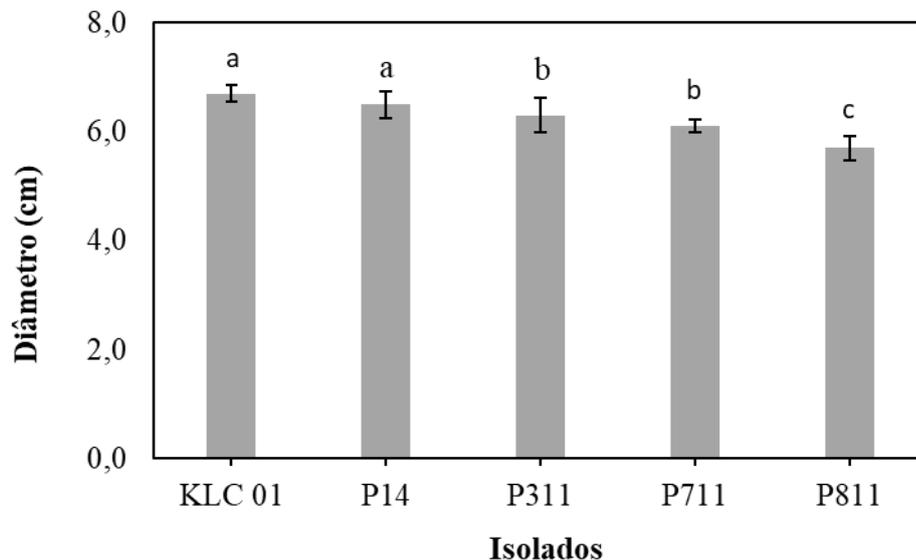
4. RESULTADOS

4.1. Avaliação dos fungicidas no controle *in vitro* de *C. manginecans*

Houve interação tripla, entre fungicidas, doses e isolados ($p < 0,05$) para a porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. manginecans* (Anexo Tabela 5A). Sendo assim, cada isolado teve um comportamento em relação aos fungicidas e suas doses.

Os maiores valores de crescimento micelial ocorreram na testemunha absoluta, sem adição de fungicidas, com diferença entre os isolados. KLC 01 e P14 foram os de maior crescimento, sem diferenças entre si, com diâmetro médio de 6,7 e 6,5 cm, respectivamente. Foram seguidos por P311 e P711, com diâmetro médio de 6,3 e 6,1 cm, respectivamente, enquanto P811 teve o menor diâmetro médio com 5,7 cm, 15% inferior a KLC 01, o de maior crescimento (Figura 1).

Figura 1 - Diâmetro de crescimento micelial (cm), dose 0 mg/Kg ou L, dos isolados de *Ceratocystis manginecans*. UFLA, 2024



Fonte: Do autor (2024)

Ou seja, os isolados não obtiveram o mesmo comportamento, inclusive em relação ao incremento de doses. Com o aumento das doses dos fungicidas houve o aumento, em proporções diferentes, da inibição do crescimento micelial dos isolados.

O tiofanato metílico, a partir da menor dose, ou seja, de 2,5 mg/Kg ou L, já inibiu 100% do crescimento micelial, em relação à testemunha, para todos os isolados de *C. manginecans*. Essa total inibição, de todos os isolados, também foi observada para o Ciproconazol,

Ciproconazol+Azoxistrobina, a partir das doses de 40 e 160 mg/L, Tebuconazol e Mancozeb, ambos a partir de 320 mg/Kg ou L.

Na dose 2,5 mg/Kg ou L, todos isolados apresentaram maiores valores de inibição, superiores à 50%, para ciproconazol, azoxistrobina+ciproconazol e tebuconazol. Porém, para os isolados KLC 01 e P811 foram observados os menores valores de inibição do crescimento, 3,3 e 5,7%, respectivamente, no tratamento com Azoxistrobina, nessa dose. Já, na segunda dose, 10 mg/Kg ou L, o ciproconazol foi o segundo fungicida com maior inibição do crescimento micelial, sendo o isolado P311 diferente dos demais ($p < 0,05$), com 85,3% de inibição. Esse fungicida foi seguido pela mistura de ciproconazol com azoxistrobina e do tebuconazol.

Tabela 3. Porcentagem de inibição do crescimento micelial em relação a testemunha, de isolados de *Ceratocystis manginecans*, em diferentes doses de sete fungicidas. UFLA, 2024.

Dose 2,5 mg/Kg ou L					
Fungicida	Isolado				
	KLC 01	P14	P311	P711	P811
Ciproconazol	70,1 Bc	70,2 Bc	77,1 Ba	76,1 Ba	74,2 Bb
Azoxistrobina	3,3 Ge	32,8 Ea	17,6 Eb	9,6 Fc	5,7 Gd
Tiofanato metílico	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Mancozeb	13,4 Ec	12,4 Gc	17,1 Eb	17,2 Eb	21,3 Fa
Azoxistrobina+Ciproconazol	53,0 Dd	58,7 Dc	67,4 Ca	66,5 Ca	60,6 Db
Hidróxido de Cobre	7,0 Fd	25,8 Fb	12,1 Fc	8,3 Fd	29,5 Ea
Tebuconazol	58,8 Cd	68,1 Cb	64,9 Dc	58,7 Dd	70,0 Ca
Dose 10 mg/Kg ou L					
Ciproconazol	83,3 Bb	82,0 Bb	85,3 Ba	82,6 Bb	81,8 Bb
Azoxistrobina	4,6 Gd	52,2 Ea	20,0 Fc	22,5 Fb	23,6 Gb
Tiofanato metílico	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Mancozeb	38,7 Eb	29,0 Gc	45,1 Da	29,4 Ec	37,5 Fb
Azoxistrobina+Ciproconazol	78,6 Ca	75,7 Db	81,0 Ca	80,1 Ca	76,2 Db
Hidróxido de Cobre	17,1 Fd	31,5 Fb	22,7 Ec	21,0 Fc	40,3 Ea
Tebuconazol	73,4 Dc	77,6 Cb	81,5 Ca	72,5 Dc	78,1 Cb
Dose 40 mg/Kg ou L					
Ciproconazol	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Azoxistrobina	18,2 Fd	53,9 Ea	23,8 Fc	26,0 Fb	27,1 Fb
Tiofanato metílico	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Mancozeb	67,1 Db	62,9 Dc	80,9 Da	39,9 Ee	56,2 Dd
Azoxistrobina+Ciproconazol	83,1 Cc	89,9 Ba	83,1 Cc	85,4 Bb	89,4 Ba
Hidróxido de Cobre	21,0 Ed	33,7 Fb	26,5 Ec	42,5 Da	42,5 Ea
Tebuconazol	86,5 Bb	82,1 Cd	88,9 Ba	81,0 Cd	84,0 Cc

continua ...

Continuação ...

Dose 160 mg/Kg ou L					
Fungicida	Isolado				
	KLC 01	P14	P311	P711	P811
Ciproconazol	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Azoxistrobina	20,4 Cd	55,3 Ba	31,7 Cc	37,7 Eb	31,7 Dc
Tiofanato metílico	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Mancozeb	100 Aa	100 Aa	100 Aa	81,0 Cb	82,6 Bb
Azoxistrobina+Ciproconazol	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Hidróxido de Cobre	28,7 Bd	39,2 Cc	44,5 Bb	47,5 Da	45,7 Cb
Tebuconazol	100 Aa	100 Aa	100 Aa	88,3 Bb	100 Aa
Dose 320 mg/Kg ou L					
Ciproconazol	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Azoxistrobina	38,0 Cb	58,5 Ba	35,0 Cc	39,1 Cb	35,9 Bc
Tiofanato metílico	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Mancozeb	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Azoxistrobina+Ciproconazol	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Hidróxido de Cobre	41,3 Bd	49,7 Cc	58,5 Ba	52,1 Bb	59,2 Ba
Tebuconazol	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Dose 640 mg/Kg ou L					
Ciproconazol	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Azoxistrobina	46,6 Cb	63,7 Ca	43,8 Cc	42,2 Cc	43,1 Cc
Tiofanato metílico	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Mancozeb	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Azoxistrobina+Ciproconazol	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Hidróxido de Cobre	74,4 Bc	80,2 Ba	77,4 Bb	70,4 Bd	70,9 Bd
Tebuconazol	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não foram estatisticamente diferentes segundo o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Fonte: Do autor (2024)

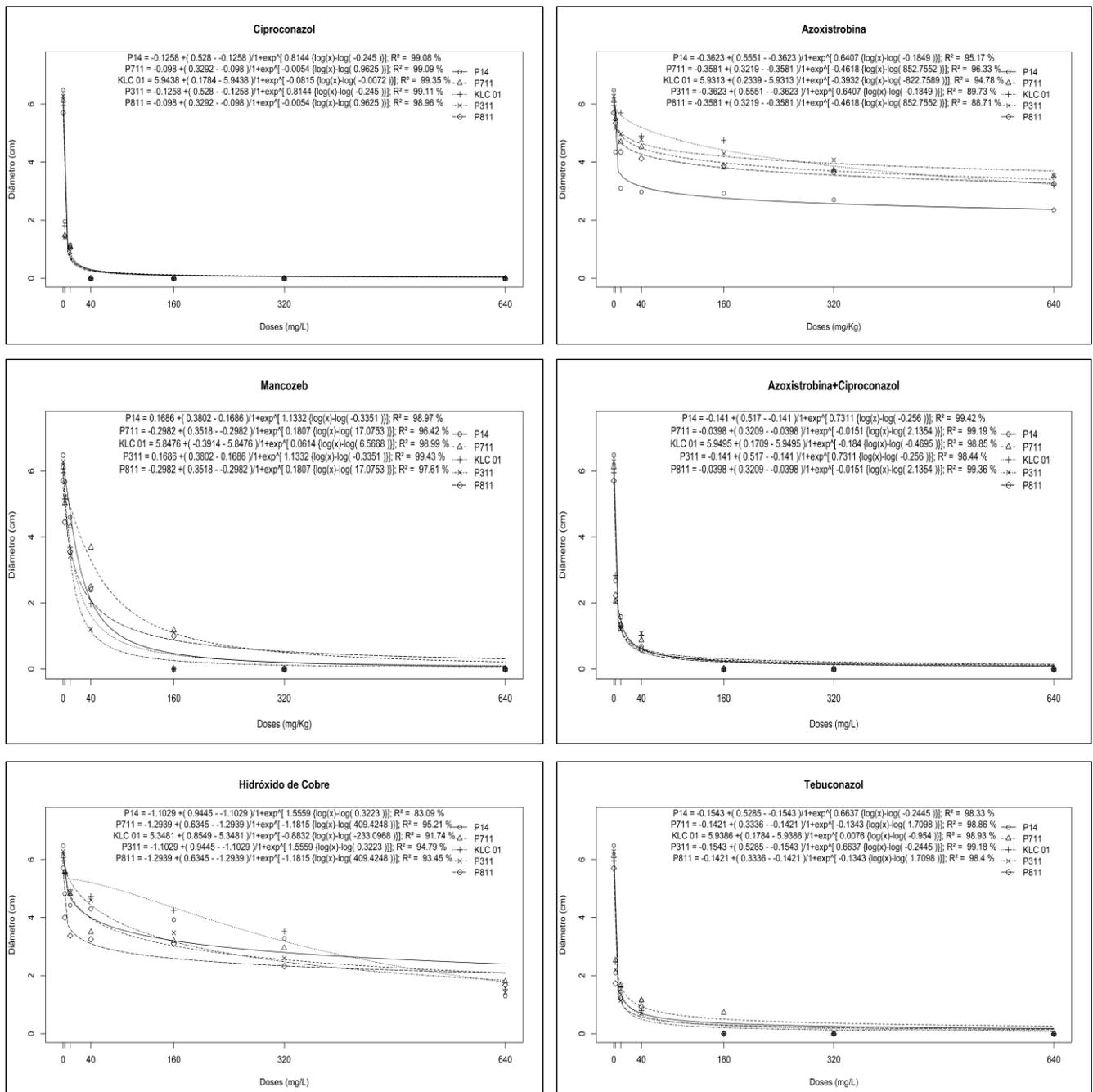
Enquanto os menores valores de inibição foram dos fungicidas protetores mancozeb, hidróxido de cobre e azoxistrobina. Sendo o isolado KLC 01 o de menor sensibilidade, 4,6 e 17,1%, para azoxistrobina e hidróxido de cobre, respectivamente (Tabela 3).

Até a maior dose, de 640 mg/Kg ou L dos fungicidas, tanto o hidróxido de cobre quanto a azoxistrobina não paralisaram o crescimento do fungo, com inibição variando de 70,4 a 80,2% e de 42,1 a 63,7%, respectivamente.

Com o aumento das doses dos fungicidas houve a redução no diâmetro da colônia de *C. Manginecans*. O modelo de melhor ajuste foi o exponencial negativo (Figura 2). Ou seja, as curvas apresentaram declínio acentuado do crescimento micelial, próximo a zero, a partir das

doses de 40-160 mg/Kg ou L. Devido a inibição total do crescimento micelial para tiofanato metílico, não foi possível ajustar modelo de regressão para esse tratamento. Para os triazóis ciproconazol, tebuconazol e a mistura de ciproconazol com azoxistrobina as curvas tiveram forma semelhantes com comportamento homogêneo entre os isolados. No entanto, as curvas de resposta ao mancozeb, hidróxido de cobre e azoxistrobina apresentaram variabilidade entre os isolados, porém, em doses mais elevadas as respostas dos isolados foram similares.

Figura 2. Crescimento micelial de isolados de *Ceratocystis manginecans* em diferentes doses (mg/Kg ou L) de fungicidas. UFLA, 2024.



Houve interação entre os fungicidas e os isolados para a EC50 ($p < 0,001$) (Anexo Tabela 6A). Os menores EC50 foram do ciproconazol, da azoxistrobina+ciproconazol e do tebuconazol, não ocorrendo diferença entre os isolados, o EC50 variou de 0,5 a 1,0, de 0,9 a 2,2 e de 0,6 a 1,7 mg/L, respectivamente (Tabela 4). Houve diferença entre os isolados para os fungicidas azoxistrobina e hidróxido de cobre ($p < 0,001$), os de maior EC50. No tratamento com azoxistrobina, o menor EC50 foi obtido para P14, 30,3 mg/Kg, acentuada diferença ($p < 0,001$) para os demais isolados, P311, P811 e P711, de 2244,6, 1655,5 e 1330,7 mg/Kg. Em relação ao hidróxido de cobre o isolado KLC 01 foi diferente, com o maior EC50, de 409,5 mg/L, enquanto os demais variaram de 83,3 a 189,8 mg/Kg ($p < 0,001$). Para os isolados P311, P711 e P811 a azoxistrobina foi diferente dos demais ($p < 0,001$), com os maiores EC50, chegando a ser 4488 vezes maior em relação ao ciproconazol para o isolado P311. Para P14 não houve diferença entre os isolados.

Tabela 4. Dose letal de fungicidas, em mg/Kg ou L, para inibir 50% do crescimento micelial (EC50) de isolados de *Ceratomyces manginecans*. UFLA, 2024.

Fungicida	Isolado				
	KLC 01	P14	P311	P711	P811
Ciproconazol	1,0 Ca	1,0 Aa	0,5 Ba	0,6 Ba	0,6 Ba
Azoxistrobina	848,0 Ad	30,3 Ae	2244,6 Aa	1330,7 Ac	1655,5 Ab
Mancozeb	17,0 Ca	23,8 Aa	11,5 Ba	55,3 Ba	22,0 Ba
Azoxistrobina+Ciproconazol	2,2 Ca	1,7 Aa	0,7 Ba	0,9 Ba	1,5 Ba
Hidróxido de Cobre	409,5 Ba	177,4 Ab	189,8 Bb	147,9 Bb	83,3 Bb
Tebuconazol	1,7 Ca	0,8 Aa	1,1 Ba	1,4 Ba	0,6 Ba

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não foram estatisticamente diferentes segundo o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).

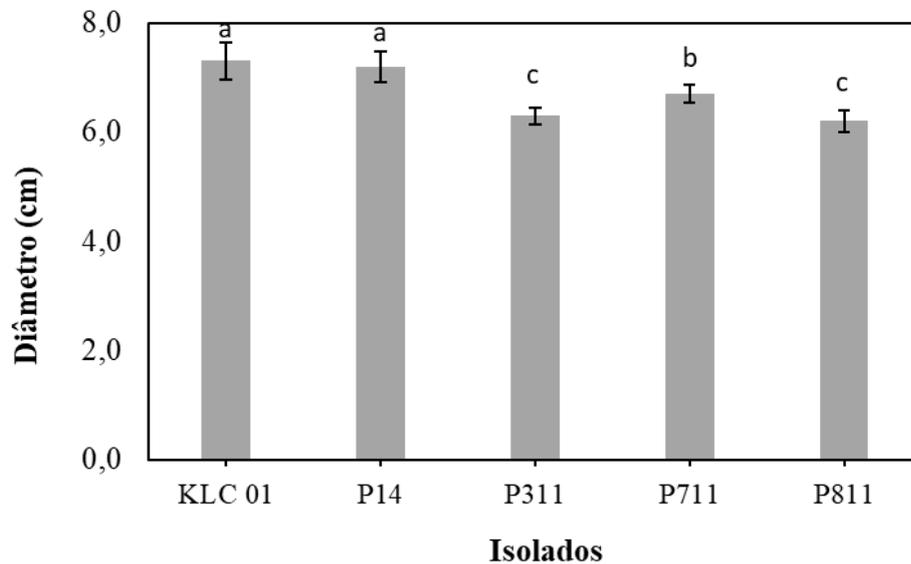
Fonte: Do autor (2024)

4.2. Avaliação das nanopartículas no controle *in vitro* de *C. manginecans*

Houve interação tripla, entre NP's, doses e isolados ($p < 0,05$) para a porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. manginecans*. Sendo assim, cada isolado teve um comportamento em relação às NP's e as suas doses. O tratamento adicional e o Fatorial foram estatisticamente significativos, ou seja, a porcentagem de inibição dos isolados foi diferente entre tiofanato metílico e a média das NP's, com 100 e 26,7%, respectivamente (Anexo Tabela 7A).

Os maiores valores de crescimento micelial ocorreram na testemunha absoluta, sem adição de NP's, com diferença entre os isolados. KLC 01 e P14 foram os de maior crescimento, sem diferenças entre si, com diâmetro médio de 7,3 e 7,2 cm, respectivamente. Em seguida, P711, com diâmetro médio de 6,7 cm. P311 e P811 foram os de menor crescimento, também sem diferenças entre si, com diâmetro médio de 6,3 e 6,2 cm, respectivamente. Esses últimos foram 15 e 14% inferiores, respectivamente, ao KLC 01, o de maior crescimento (Figura 3).

Figura 3. Diâmetro de crescimento micelial (cm), dose 0 mg/L, dos isolados de *Ceratocystis manginecans*. UFLA, 2024.



Fonte: Do autor (2024)

Na dose de 2,5 mg/L, houve diferenças ($p < 0,05$) entre as NP's e entre os isolados. O melhor tratamento foi a NP de ZnO, seguido por MoO₃, CuO e S, respectivamente. Contudo, ao aumentar a dose, de 10 a 40 mg/L, CuO juntamente com ZnO, passaram a ser os melhores tratamentos, com maior inibição em quase todos isolados, chegando a 33,0 e 37,5% de inibição, com CuO e ZnO, respectivamente. Esses tratamentos foram seguidos por NP de MoO₃ entretanto, o isolado P811 foi o mais sensível, 50,4%, quando tratado com essa NP (Tabela 3).

As NP's não inibiram 100% do crescimento micelial, mesmo na dose máxima de 640 mg/L. A partir da dose de 160 mg/L a NP de MoO₃ passou a proporcionar maiores valores de inibição, chegando a 62,7, 78,3 e 85,5%, nas doses de 160, 320 e 640 mg/L respectivamente. O MoO₃ foi seguido por ZnO e CuO, com inibições até 63,8 e 55,8%, respectivamente, na última dose, 640 mg/L.

Tabela 5. Porcentagem de inibição do crescimento micelial em relação a testemunha, de isolados de *Ceratocystis manginecans*, em diferentes doses de quatro nanopartículas. UFLA, 2024.

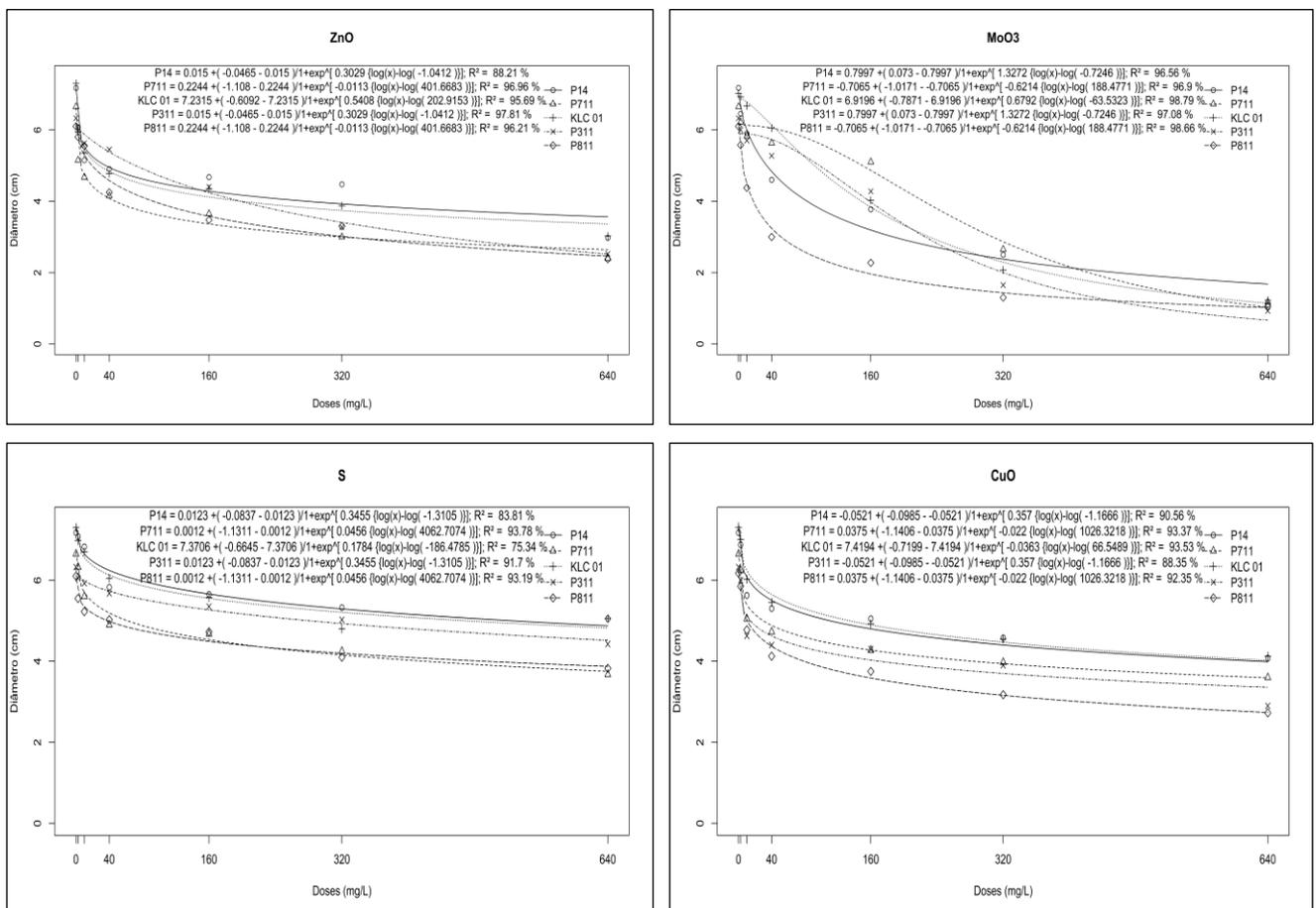
Dose 2,5 mg/L					
Nanopartículas	Isolado				
	KLC 01	P14	P311	P711	P811
ZnO	18,1 Ab	15,3 Ab	5,8 Ac	22,4 Aa	5,1 Bc
MoO ₃	5,0 Bb	10,5 Ba	5,3 Ab	6,1 Bb	8,6 Aa
S	4,5 Bb	1,9 Cb	4,4 Ab	4,9 Bb	9,3 Aa
CuO	4,2 Ba	4,9 Ca	5,3 Aa	5,2 Ba	5,2 Ba
Dose 10 mg/L					
ZnO	26,5 Aa	28,5 Aa	10,9 Bb	29,3 Aa	9,0 Db
MoO ₃	8,6 Cc	17,9 Bb	9,8 Bc	12,1 Cc	28,1 Aa
S	7,9 Cb	5,2 Cb	6,3 Bb	15,9 Ca	14,3 Ca
CuO	17,3 Bb	21,9 Ba	27,1 Aa	23,9 Ba	22,7 Ba
Dose 40 mg/L					
ZnO	34,3 Aa	31,9 Ab	14,0 Bc	37,5 Aa	30,8 Bb
MoO ₃	17,0 Cc	35,9 Ab	17,1 Bc	15,1 Cc	50,4 Aa
S	11,9 Dc	19,5 Cb	9,9 Cc	26,1 Ba	17,9 Cb
CuO	25,2 Bb	26,2 Bb	30,6 Aa	29,2 Ba	33,0 Ba
Dose 160 mg/L					
ZnO	40,4 Ba	35,2 Bb	30,7 Ac	45,3 Aa	43,0 Ba
MoO ₃	44,8 Ab	47,4 Ab	32,6 Ac	23,0 Dd	62,7 Aa
S	23,6 Db	20,3 Db	15,4 Bc	29,3 Ca	22,3 Db
CuO	32,3 Cb	29,8 Cb	32,1 Ab	35,6 Ba	37,1 Ca
Dose 320 mg/L					
ZnO	47,0 Bb	37,9 Bc	48,1 Bb	55,0 Ba	45,9 Bb
MoO ₃	71,3 Ab	65,4 Ac	74,3 Ab	60,1 Ad	78,3 Aa
S	25,8 Db	25,9 Cb	20,8 Dc	36,1 Ca	32,5 Ca
CuO	37,7 Cb	37,0 Bb	27,4 Cc	39,7 Cb	48,3 Ba
Dose 640 mg/L					
ZnO	58,7 Ba	58,8 Ba	60,1 Ba	63,8 Ba	61,5 Ba
MoO ₃	83,5 Aa	83,8 Aa	85,5 Aa	82,3 Aa	82,6 Aa
S	30,7 Dc	29,8 Dc	30,4 Dc	44,8 Ca	37,5 Db
CuO	43,6 Cb	43,2 Cb	53,9 Ca	45,7 Cb	55,8 Ca

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não foram estatisticamente diferentes segundo o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Fonte: Do autor (2024)

Com o aumento das doses das NP's, observou-se um decréscimo no crescimento micelial dos isolados de *C. manginecans*. O modelo exponencial decrescente proporcionou o melhor ajuste para a maioria das curvas dose-resposta, principalmente para MoO₃ e ZnO. Em todos os tratamentos, na dose mais alta, 640 mg/L, foi observada maior inibição embora nenhuma NP tenha alcançado 100% de inibição. Para o ZnO, observou-se um declínio gradual no crescimento micelial com o aumento da dose (Figura 4).

Figura 4. Crescimento micelial de isolados de *Ceratocystis manginecans* em diferentes doses (mg/L) de nanopartículas. UFLA, 2024.



Houve interação entre as NP's e os isolados para a EC50 ($p < 0,001$) (Anexo Tabela 8A). Os menores valores de EC50 foram observados para MoO₃ e ZnO, sem variações entre os isolados ($p > 0,001$), o EC50 variou de 47,0 a 302,0 mg/L e de 179,0 e 669,0 mg/L, respectivamente. Os maiores valores de EC50 foram observados para a NP de S, sendo o isolado P711, o de menor EC50, de 1249,0 mg/L, acentuando a diferença com os demais ($p < 0,001$), variando de 2405,0 a 3749,0 mg/L. Para o isolado P14, o maior EC50 do S, foi aproximadamente 30 vezes maior em relação ao do MoO₃ (Tabela 6).

Tabela 6. Dose letal de nanopartículas, em mg/Kg ou L, para inibir 50% do crescimento micelial (EC50) de isolados de *Ceratomyces manginecans*. UFLA, 2024.

Nanopartículas	Isolado				
	KLC 01	P14	P311	P711	P811
CuO	1300,0 Ba	1519,0 Ba	709,0 Bb	954,0 Ab	357,0 Bb
MoO ₃	188,0 Ca	126,0 Ca	229,0 Ba	302,0 Ba	47,0 Ba
S	2981,0 Ab	3749,0 Aa	2910,0 Ab	1249,0 Ac	2405,0 Ab
ZnO	400,0 Ca	669,0 Ca	421,0 Ba	179,0 Ba	293,0 Ba

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não foram estatisticamente diferentes segundo o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).

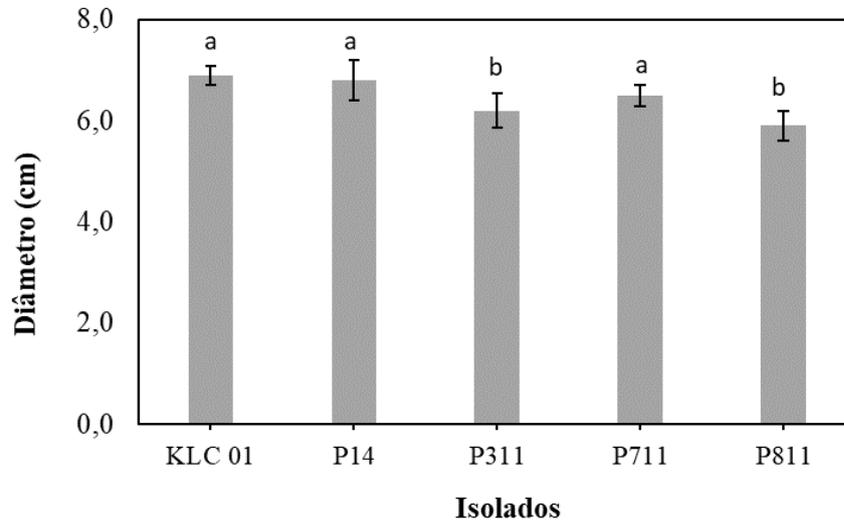
Fonte: Do autor (2024)

4.3. Avaliação dos óleos essenciais no controle *in vitro* de *C. manginecans*

Também houve interação tripla, entre óleos, doses e isolados ($p < 0,05$) para a porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. manginecans*. Sendo assim, cada isolado teve um comportamento em relação aos óleos e as suas doses. O tratamento adicional e o Fatorial foram estatisticamente significativos, ou seja, a porcentagem de inibição dos isolados foi diferente entre Tiofanato metílico e os óleos, com 100 e 34,5% de média dos tratamentos, respectivamente (Anexo Tabela 9A).

Os maiores valores de diâmetro de crescimento micelial ocorreram na testemunha absoluta, sem adição de óleos, dose 0 µL/L, com diferença entre os isolados. KLC 01, P14 e P711 foram os de maior crescimento, sem diferenças entre si ($p > 0,05$), com diâmetro médio de 6,9; 6,8 e 6,5 cm, respectivamente. Foram seguidos por P311 e P811, também sem diferenças entre si, com diâmetro médio de 6,2 e 5,9 cm, respectivamente. Estes últimos foram 10 e 14% inferiores, respectivamente, ao KLC 01, o de maior crescimento (Figura 5).

Figura 5. Diâmetro de crescimento micelial (cm), dose 0 $\mu\text{L/L}$, dos isolados de *Ceratocystis manginecans*. UFLA, 2024.



Fonte: Do autor (2024)

Na dose de 100 $\mu\text{L/L}$, o Capim-limão e Tomilho foram os melhores tratamentos, com maiores valores de inibição do crescimento micelial, variando de 24,2 a 25,3%. Entretanto, nas doses de 200 e 400 $\mu\text{L/L}$, o óleo de Tomilho ficou como o único melhor tratamento, com inibição observada até 74,2% no isolado P311, na dose de 400 $\mu\text{L/L}$. Mas, com aumento da dose, de 400 para 800 $\mu\text{L/L}$, o óleo de Capim-limão ficou como o melhor tratamento, seguido por Tomilho (Tabela 7).

A partir da sexta dose, 1600 $\mu\text{L/L}$, o óleo de Capim-limão, diferente dos demais ($p < 0,05$), foi o melhor tratamento, com 100% de inibição do crescimento micelial em todos isolados. Esse tratamento, foi seguido por Tomilho e Melaleuca, com inibições até 90,4 e 77,4%, respectivamente, do isolado P311, nessa dose.

Além do efeito de inibição de 100% do crescimento micelial de todos os isolados já observado por Capim-limão, a partir da dose de 1600 $\mu\text{L/L}$, a Melaleuca causou inibição total somente nos isolados KLC 01 e P311, diferentes dos demais ($p < 0,05$), na última dose, 3200 $\mu\text{L/L}$. Assim, esse óleo tornou-se o segundo com maior inibição de crescimento micelial e o Tomilho passou para o terceiro, na máxima dose, 3200 $\mu\text{L/L}$. O Tomilho, apesar de sua alta eficiência em doses intermediárias, não atingiu 100% de inibição na dose máxima para todos os isolados, com valores variando entre 81,5 e 91,0%.

Tabela 7. Porcentagem de inibição do crescimento micelial em relação à testemunha, de isolados de *Ceratocystis manginecans*, em diferentes doses de cinco óleos essenciais. UFLA, 2024.

		Dose 100 µL/L				
Óleos		Isolado				
Nome científico	Nome comum	KLC 01	P14	P311	P711	P811
<i>E. erythropappus</i>	Candeia	10,9 Ba	5,9 Ca	8,5 Ba	10,3 Ca	6,6 Ca
<i>C. citratus</i>	Capim-limão	24,2 Aa	25,3 Aa	12,9 Bb	16,4 Bb	15,6 Bb
<i>E. radiata</i>	Eucalipto	10,3 Ba	5,8 Ca	6,1 Ba	10,1 Ca	6,4 Ca
<i>M. alternifolia</i>	Melaleuca	14,7 Bb	10,9 Bc	3,5 Bd	23,6 Aa	18,0 Bb
<i>T. vulgaris</i>	Tomilho	12,2 Bb	13,5 Bb	24,5 Aa	10,7 Cb	24,3 Aa
		Dose 200 µL/L				
<i>E. erythropappus</i>	Candeia	19,6 Ba	10,5 Bb	10,1 Cb	18,3 Ba	10,4 Bb
<i>C. citratus</i>	Capim-limão	28,7 Aa	23,0 Ab	31,9 Ba	24,4 Ab	31,1 Aa
<i>E. radiata</i>	Eucalipto	15,4 Ba	8,5 Ba	10,1 Ca	11, 0 Ca	10,1 Ba
<i>M. alternifolia</i>	Melaleuca	24,4 Aa	13,8 Bb	14,7 Cb	25,6 Aa	23,0 Aa
<i>T. vulgaris</i>	Tomilho	25,9 Ab	27,5 Ab	56,7 Aa	25,7 Ab	28,9 Ab
		Dose 400 µL/L				
<i>E. erythropappus</i>	Candeia	24,5 Ca	15,4 Db	23,9 Ca	23,0 Ca	19,4 Bb
<i>C. citratus</i>	Capim-limão	43,8 Aa	40,0 Ba	42,5 Ba	28,4 Bb	34,1 Ab
<i>E. radiata</i>	Eucalipto	21,3 Ca	13,3 Db	13,3 Db	12,4 Db	11,9 Cb
<i>M. alternifolia</i>	Melaleuca	32,4 Ba	21,6 Cb	24,9 Cb	37,5 Aa	32,3 Aa
<i>T. vulgaris</i>	Tomilho	40,6 Ac	49,8 Ab	74,2 Aa	39,3 Ac	40,1 Ac
		Dose 800 µL/L				
<i>E. erythropappus</i>	Candeia	31,5 Ca	29,0 Ba	28,0 Ca	29,4 Ca	27,4 Ca
<i>C. citratus</i>	Capim-limão	72,9 Aa	74,2 Aa	78,2 Aa	70,7 Aa	68,3 Aa
<i>E. radiata</i>	Eucalipto	25,1 Ca	15,1 Cb	20,3 Da	16,9 Db	13,5 Db
<i>M. alternifolia</i>	Melaleuca	42,6 Bb	27,5 Bc	55,1 Ba	48,8 Ba	42,1 Bb
<i>T. vulgaris</i>	Tomilho	48,7 Bc	70,8 Ab	83,1 Aa	66,7 Ab	65,2 Ab
		Dose 1600 µL/L				
<i>E. erythropappus</i>	Candeia	37,5 Da	37,2 Da	39,0 Ca	36,7 Ca	38,1 Da
<i>C. citratus</i>	Capim-limão	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100, 0 Aa	100,0 Aa
<i>E. radiata</i>	Eucalipto	31,0 Da	20,8 Eb	23,9 Db	20,8 Db	16,3 Eb
<i>M. alternifolia</i>	Melaleuca	55,7 Cc	62,6 Cb	77,4 Ba	71,4 Ba	53,1 Cc
<i>T. vulgaris</i>	Tomilho	73,1 Bc	79,9 Bb	90,4 Aa	72,7 Bc	80,1 Bb

continua ...

Continuação ...

Óleos		Isolado				
Nome científico	Nome comum	KLC 01	P14	P311	P711	P811
		<i>E. erythropappus</i>	Candeia	45,4 Ca	50,8 Ca	46,8 Ca
<i>C. citratus</i>	Capim-limão	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
<i>E. radiata</i>	Eucalipto	35,9 Da	25,5 Db	27,8 Db	27,8 Db	27,2 Db
<i>M. alternifolia</i>	Melaleuca	100,0 Aa	80,9 Bc	100,0 Aa	87,5 Bb	78,1 Bc
<i>T. vulgaris</i>	Tomilho	81,5 Ba	84,7 Ba	91,0 Ba	84,8 Ba	83,7 Ba

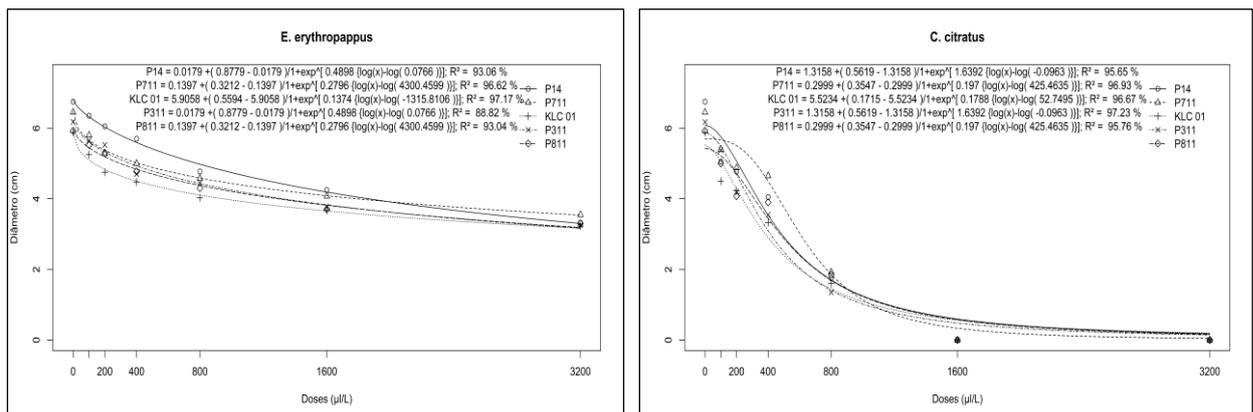
*Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não foram estatisticamente diferentes segundo o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Fonte: Do autor (2024)

Os isolados obtiveram variabilidade em relação aos diferentes óleos essenciais e suas doses. O P311 frequentemente obteve maior sensibilidade aos tratamentos, enquanto os isolados tratados com óleo de Eucalipto geralmente foram menos sensíveis, com inibições abaixo de 30% mesmo na dose mais alta. A Candeia também não alcançou inibição total, embora tenha sido mais eficiente em relação ao Eucalipto.

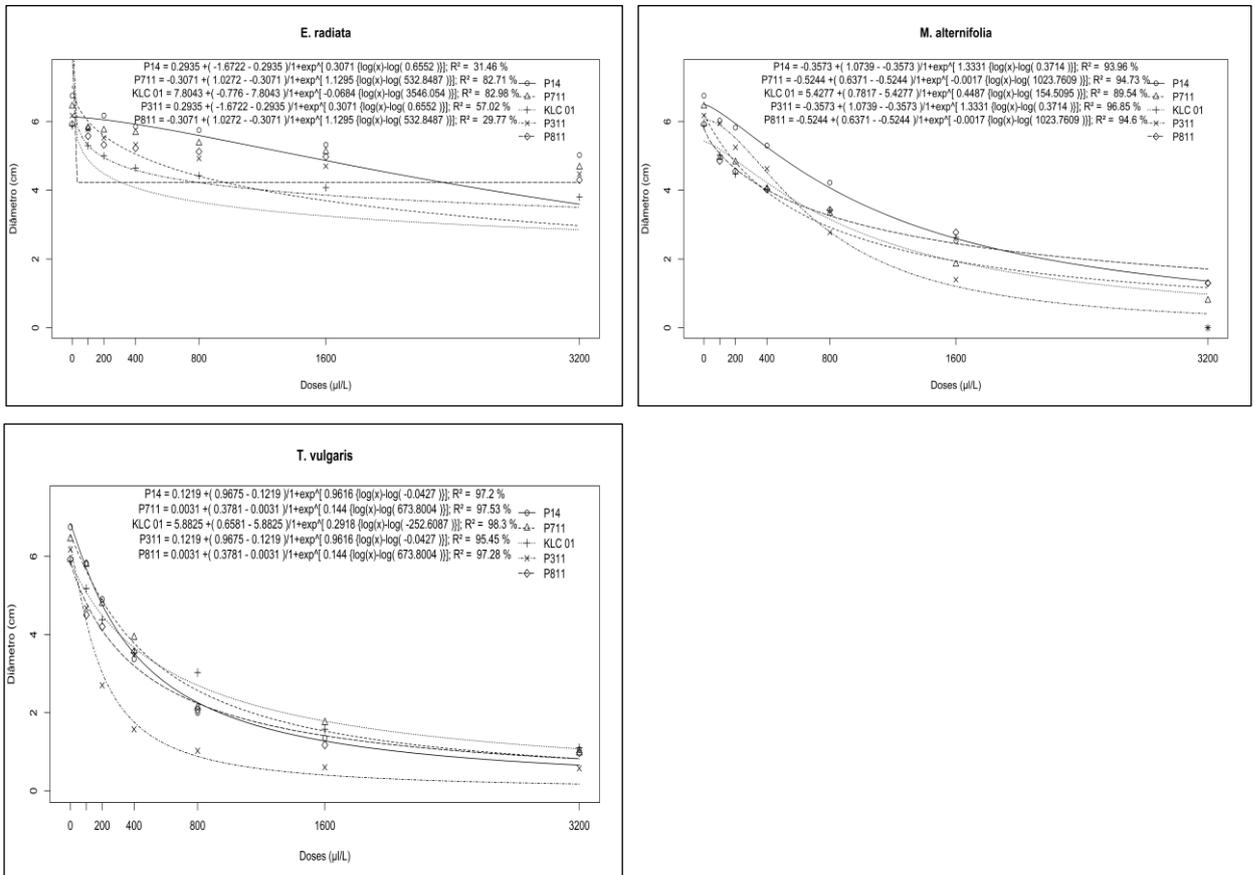
Todas as doses aqui testadas, com exceção da testemunha, tiveram efeito no crescimento micelial do *C. manginecans*. Observou-se a redução do diâmetro da colônia com o aumento das doses dos óleos, seguindo modelo exponencial decrescente. As curvas de resposta aos óleos essenciais apresentaram padrões distintos. Capim-limão e Tomilho apresentaram curvas com declínio acentuado e comportamento relativamente homogêneo entre os isolados. Por outro lado, Melaleuca, Candeia e Eucalipto obtiveram curvas com declínio mais gradual e maior variabilidade nas respostas, especialmente nas doses iniciais (Figura 6).

Figura 6. Crescimento micelial de isolados de *Ceratocystis manginecans* em diferentes doses ($\mu\text{L/L}$) de óleos essenciais. UFLA, 2024.



continua ...

Continuação ...



Houve interação entre os óleos e os isolados para a EC₅₀ ($p < 0,001$) (Anexo Tabela 10A). Os menores valores de EC₅₀ foram observados para o Capim-limão e o Tomilho, sem diferenças entre os isolados ($p > 0,001$), variando de 409,0 a 625,0 e de 188,0 a 673,0 µL/L, respectivamente. Os maiores valores de EC₅₀ foram observados para Candeia e Eucalipto. Para a Candeia, o EC₅₀ variou de 2991,0 a 4572,0 µL/L. Já, o Eucalipto obteve o EC₅₀ nos isolados KLC 01, P711 e P311, de 12052,0, 15441,0 e 18709,0 µL/L, acentuando a diferença ($p < 0,001$) para os demais, P811 e 144, de 25416,0 e 32795,0 µL/L, respectivamente. Esse último tratamento, Eucalipto, foi diferente dos demais ($p < 0,001$), com os maiores EC₅₀ para todos os isolados, chegando a ser, para o isolado P14, 68 vezes maior em relação ao do Capim-limão (Tabela 8).

Tabela 8. Dose letal de óleos essenciais, em $\mu\text{L/L}$, para inibir 50% do crescimento micelial (EC50) de isolados de *Ceratocystis manginecans*. UFLA, 2024.

Óleos		Isolado				
Nome científico	Nome comum	KLC 01	P14	P311	P711	P811
		<i>E. erythropappus</i>	Candeia	4434,0 Ba	2991,0 Ba	3576,0 Ba
<i>C. citratus</i>	Capim-limão	449,0 Ba	481,0 Ba	409,0 Ba	625,0 Ba	537,0 Ba
			32795,0	18709,0	15441,0	
<i>E. radiata</i>	Eucalipto	12052,0 Ac	Aa	Ac	Ac	25416,0 Ab
<i>M. alternifolia</i>	Melaleuca	1023,0 Ba	1174,0 Ba	746,0 Ba	711,0 Ba	1085,0 Ba
<i>T. vulgaris</i>	Tomilho	673,0 Ba	425,0 Ba	188,0 Ba	542,0 Ba	490,0 Ba

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não foram estatisticamente diferentes segundo o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Fonte: Do autor (2024)

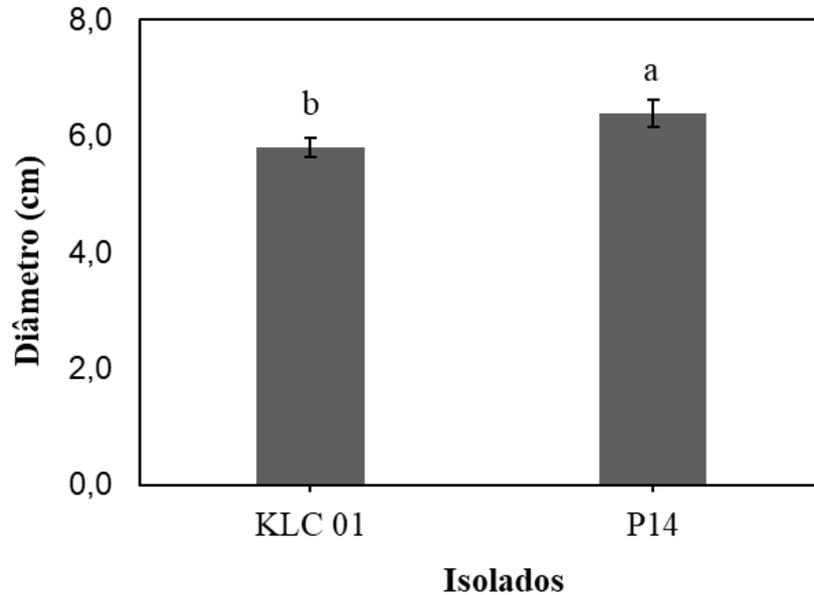
4.4. Comparação dos melhores tratamentos para o controle de *C. manginecans*

A seleção dos tratamentos foi baseada nos valores de EC50 obtidos nos experimentos anteriores, sendo os tratamentos mais eficientes foram identificados por apresentarem os menores valores de EC50, enquanto os isolados menos sensíveis obtiveram os maiores valores de EC50 em relação a todos os tratamentos. Com base nestes critérios, foram selecionados os fungicidas com i.a Ciproconazol, Tebuconazol e a mistura de Azoxistrobina com Ciproconazol; as NP's de MoO_3 , ZnO e CuO; e os óleos essenciais de Capim-limão (*C. citratus*), Tomilho (*T. vulgaris*) e Melaleuca (*M. alternifolia*). O KLC 01 e P14 foram os isolados menos sensíveis.

Houve interação tripla, entre tratamentos, doses e isolados ($p < 0,05$) para a porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. manginecans*. Sendo assim, cada isolado teve um comportamento em relação aos tratamentos e as suas doses. O tratamento adicional e o Fatorial foram estatisticamente significativos, ou seja, a porcentagem de inibição dos isolados foi diferente entre tiofanato metílico e a média dos tratamentos, com 100 e 38,2%, respectivamente (Anexo Tabela 11A).

Os maiores valores de crescimento micelial ocorreram na testemunha absoluta, sem adição de tratamentos, dose 0 mg ou $\mu\text{L/L}$, com diferença entre os isolados. Os isolados KLC 01 e P14 obtiveram diâmetro médio de 5,8 e 6,4 cm, respectivamente (Figura 7).

Figura 7. Diâmetro de crescimento micelial (cm), dose 0 mg ou $\mu\text{L/L}$, dos isolados de *Ceratocystis manginecans*. UFLA, 2024.



Fonte: Do autor (2024)

Os isolados de *C. manginecans* apresentaram respostas variadas aos diferentes tratamentos e suas doses. Os fungicidas foram mais eficientes, com ciproconazol, azoxistrobina+ciproconazol e tebuconazol proporcionando os maiores valores de inibição desde as doses mais baixas. Na dose de 1 mg/L, estes fungicidas já proporcionavam inibições entre 34,9 e 65,5% para os isolados KLC 01 e P14. Na dose de 10 mg/L, o ciproconazol obteve inibições de até 87,8% e a partir da terceira dose, 100 mg/L, todos os fungicidas paralisaram o crescimento dos isolados, ou seja, atingiram 100% de inibição (Tabela 9).

Os óleos essenciais e NP's foram os segundos foram os segundo melhores tratamentos, com maiores valores de inibição. Entre os óleos essenciais, o Capim-limão foi o mais eficiente, com 100% de inibição na dose de 1000 $\mu\text{L/L}$ para o isolado KLC 01. E, as NP's MoO_3 e ZnO também foram eficientes, atingindo 100% de inibição para todos isolados, na dose máxima, 1000 mg/L.

Tabela 9. Porcentagem de inibição do crescimento micelial em relação a testemunha, de isolados de *Ceratocystis manginecans*, em diferentes doses de nove tratamentos. UFLA, 2024.

Dose 1 mg ou $\mu\text{L/L}$		
Tratamentos	Isolado	
	KLC 01	P14
Ciproconazol	65,5 Aa	63,1 Aa
Capim-limão	14,2 Da	1,1 Gb
CuO	4,1 Ea	2,2 Ga
Melaleuca	0,7 Fa	0,9 Ga
MoO ₃	2,6 Fa	4,6 Fa
Azoxistrobina+Ciproconazol	59,6 Ba	49,8 Bb
Tebuconazol	37,9 Ca	34,9 Cb
Tomilho	7,0 Ea	7,6 Ea
ZnO	5,2 Eb	11,4 Da
Dose 10 mg ou $\mu\text{L/L}$		
Ciproconazol	85,9 Aa	87,8 Aa
Capim-limão	24,4 Da	4,2 Fb
CuO	14,1 Ga	16,3 Da
Melaleuca	4,2 Ia	4,2 Fa
MoO ₃	10,5 Hb	16,6 Da
Azoxistrobina+Ciproconazol	81,3 Ba	81,9 Ba
Tebuconazol	77,7 Cb	83,1 Ba
Tomilho	16,4 Fa	10,3 Eb
ZnO	21,1 Eb	24,8 Ca
Dose 100 mg ou $\mu\text{L/L}$		
Ciproconazol	100,0 Aa	100,0 Aa
Capim-limão	34,3 Ba	14,5 Eb
CuO	27,0 Da	24,7 Da
Melaleuca	11,2 Fa	13,0 Ea
MoO ₃	30,5 Ca	35,6 Ba
Azoxistrobina+Ciproconazol	100,0 Aa	100,0 Aa
Tebuconazol	100,0 Aa	100,0 Aa
Tomilho	17,4 Ea	11,5 Eb
ZnO	26,0 Db	30,9 Ca

continua ...

Continuação ...

Produtos	Dose 1000 mg ou $\mu\text{L/L}$	
	Isolado	
	KLC 01	P14
Ciproconazol	100,0 Aa	100,0 Aa
Capim-limão	100,0 Aa	76,0 Bb
CuO	63,5 Ba	63,4 Ca
Melaleuca	43,9 Da	45,7 Da
MoO ₃	100,0 Aa	100,0 Aa
Azoxistrobina+Ciproconazol	100,0 Aa	100,0 Aa
Tebuconazol	100,0 Aa	100,0 Aa
Tomilho	55,3 Cb	75,2 Ba
ZnO	100,0 Aa	100,0 Aa

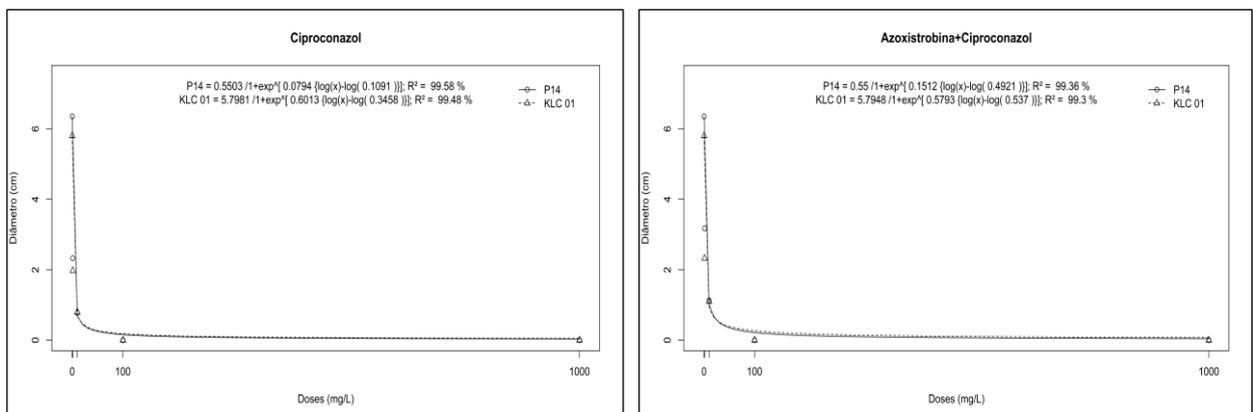
*Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não foram estatisticamente diferentes segundo o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Fonte: Do autor (2024)

O óleo de Melaleuca proporcionou os menores valores de inibição, mesmo na dose mais alta, 1000 $\mu\text{L/L}$, com inibições de apenas 43,9 e 45,7% para os isolados KLC 01 e P14, respectivamente.

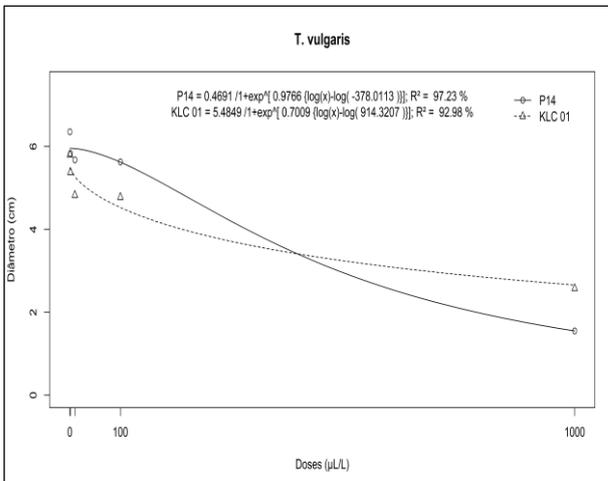
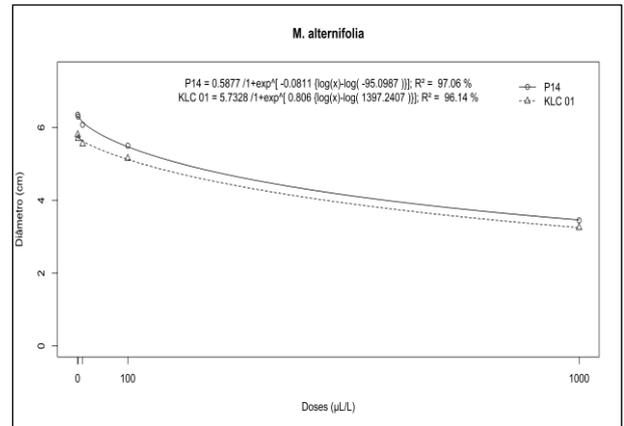
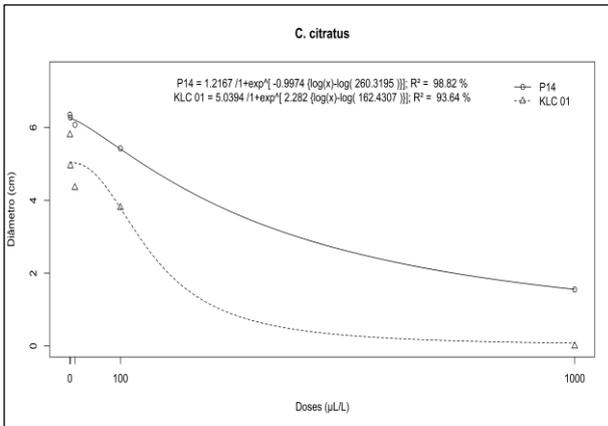
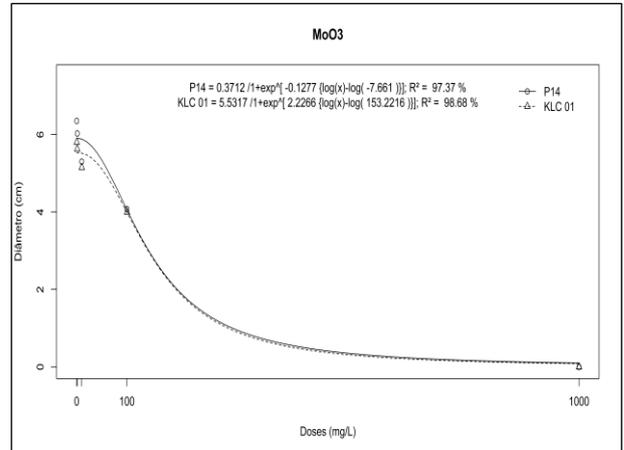
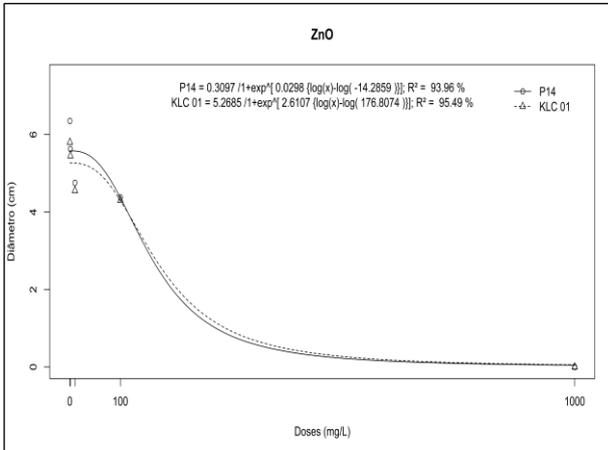
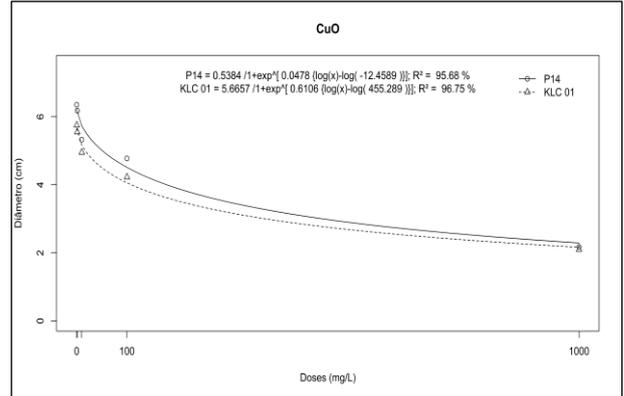
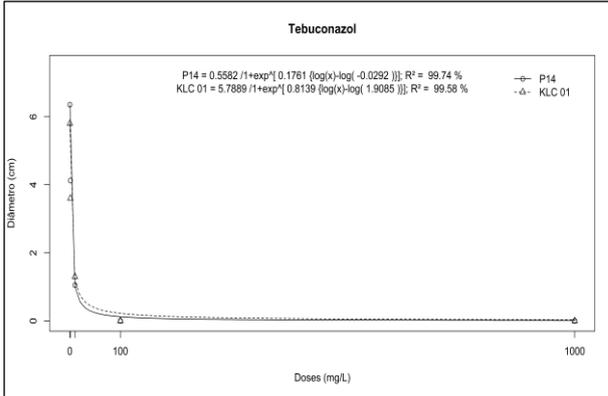
As curvas de resposta aos diferentes tratamentos apresentaram padrões distintos, com modelo exponencial decrescente. Para os fungicidas, observou-se declínio acentuado em doses baixas enquanto, as curvas de dose-resposta às NP's apresentaram declínio no crescimento micelial com o aumento da dose, apresentando variabilidade entre os isolados nas doses iniciais, mas tornando-se similares em doses mais elevadas. Já, as curvas de resposta aos óleos essenciais, por sua vez, exibiram um padrão diferente, com crescimento micelial alto, mantido mesmo em doses elevadas, com exceção do tratamento com Capim-limão para um dos isolados (Figura 8).

Figura 8. Crescimento micelial de isolados de *Ceratocystis manginecans* em diferentes doses (mg ou $\mu\text{L/L}$) de tratamentos. UFLA, 2024.



continua ...

Continuação ...



Houve interação entre os tratamentos e os isolados para o EC50 ($p < 0,001$) (Anexo Tabela 11A). Os menores EC50 foram do Ciproconazol, de Azoxistrobina+Ciproconazol e do Tebuconazol, não ocorrendo diferença entre os isolados, com variação de 0,4 a 0,5, de 0,5 a 1,0 e de 1,9 a 1,9 mg/L, respectivamente. Houve diferença entre os isolados para os óleos de Capim-limão e Tomilho ($p < 0,001$). No tratamento com Capim-limão, o menor EC50 foi obtido para KLC 01, 161,3 mg/L, com acentuada diferença ($p < 0,001$) em relação ao isolado P14, de 422,9 mg/L. Para Tomilho, o isolado P14 obteve menor EC50, 538,2 mg/L, em relação com KLC 01, de 910,8 mg/L. Os maiores EC50 foram observados para Melaleuca, não havendo diferença entre os isolados ($p > 0,001$), com 1430,6 $\mu\text{L/L}$ para KLC 01 e 1315,2 $\mu\text{L/L}$ para P14. Para os isolados KLC 01 e P14, Melaleuca foi diferente dos demais tratamentos ($p < 0,001$), com os maiores EC50. Em relação ao Ciproconazol, o EC50 de Melaleuca foi aproximadamente 3576 e 2630 vezes maior para o isolado KLC 01 e P14, respectivamente (Tabela 10).

Tabela 10. Dose letal de tratamentos, em mg ou $\mu\text{L/L}$, para inibir 50% do crescimento micelial (EC50) de isolados de *Ceratocystis manginecans*. UFLA, 2024.

Tratamentos	Isolados	
	KLC 01	P14
Ciproconazol	0,4 Ea	0,5 Da
Capim-limão	161,3 Db	422,9 Ba
CuO	464, 1 Ca	452, 7 Ba
Melaleuca	1430,6 Aa	1315,2 Aa
MoO ₃	148,7 Da	147,5 Ca
Azoxistrobina+Ciproconazol	0,5 Ea	1,0 Da
Tebuconazol	1,9 Ea	1,9 Da
Tomilho	910,8 Ba	538,2 Bb
ZnO	170,8 Da	167,5 Ca

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha não foram estatisticamente diferentes segundo o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Fonte: Do autor (2024)

5. DISCUSSÃO

Os fungicidas foram eficientes em reduzir o crescimento micelial *in vitro* de *C. manginecans*. No entanto, os isolados apresentaram variabilidade no crescimento *in vitro*, mesmo com a ausência de fungicidas no meio de cultura. O comportamento foi diferente entre os isolados em relação aos ingredientes ativos. O fungicida com maior eficiência, na menor dose, de 2,5 mg/Kg, com 100% de inibição do crescimento micelial foi o tiofanato metílico. Enquanto, na dose 40 mg/L, o ciproconazol também já teve o mesmo comportamento, paralização total do crescimento de todos isolados. Esse comportamento, desses fungicidas, permaneceu igual, com aumento na porcentagem de inibição dos demais ingredientes ativos, até a última dose, 640 mg/Kg ou L. Os fungicidas tiofanato metílico e ciproconazol foram eficientes em pequenas quantidades, quando comparados com a dose de campo. Nesse caso, as doses necessárias para inibir 100% do crescimento micelial de *C. manginecans* foram 99,8 e 78,7% menores em relação as doses de bula recomendadas, de 1.531,25 e 187,5 mg/Kg ou L, respectivamente. Os menores valores de EC50 foram observados para ciproconazol (0,5 a 1,0 mg/L), enquanto, para o tiofanato metílico, embora não tenha sido possível determinar o EC50 devido à inibição total na menor dose testada, estima-se sendo inferior a 0,5 mg/Kg.

A partir da dose 160 mg/Kg a mistura ciproconazol + azoxistrobina e de 320 mg/Kg também o tebuconazol e o mancozeb já foram eficientes em reduzir 100% o crescimento micelial, com EC50 de até 2,2, 1,7 e 55,3 mg/Kg ou L, respectivamente. Sendo a dose de bula recomendada de 375,0, 500,0 e 10.000,0 mg/Kg ou L, 2,3, 1,6 e 31,3 vezes maiores em relação as doses para inibir completamente o crescimento, respectivamente. Já, para os fungicidas hidróxido de cobre e azoxistrobina não foi obtida a inibição total do crescimento do patógeno. Provavelmente, para o hidróxido de cobre, porque a dose empregada foi menor em relação a de bula, ou seja, a maior dose foi de 640 mg/Kg ou L, enquanto a recomendada, para o produto avaliado, é de 1.750,0 mg/L. Quanto à Azoxistrobina, embora registrada para doenças em várias culturas, incluindo o cafeeiro, não tem dosagem recomendada específica para *C. manginecans*. Assim, sua eficiência limitada, mesmo em alta dose testada, pode ser atribuída a essa falta de especificidade para esse fungo. Ademais, o mecanismo de ação da azoxistrobina está restrito ao controle de conídios (COSTA e COTA, 2009), sem impacto efetivo no micélio. O aumento das doses resultou em esbranquiçamento das colônias, substituindo a coloração marrom original, em decorrência da redução de aleureconídios, evidenciando assim a ineficiência do desse fungicida no controle completo do patógeno. Para esses fungicidas, hidróxido de cobre e

azoxistrobina, houve variação no controle entre os isolados, demonstrando claramente a variabilidade entre as populações.

Poussio *et al.* (2016) também observaram 100% de inibição do crescimento micelial de *C. fimbriata*, isolados em ramos de mangueira, em Paquistão, por tiofanato metílico, porém, a menor concentração utilizada foi 10 vezes maior em relação a utilizada no presente trabalho, ou seja, 25 mg/Kg. Enquanto Benso *et al.* (2016) utilizando a dose de 1 mg/Kg desse fungicida, ou seja, 60% menor, também obtiveram a inibição de 100% da colônia, porém, de *Ceratocystis* sp, a espécie não foi citada, isolada de ramos de magno africano (*Khaya senegalensis*), no Brasil. Porém, para o grupo químico dos triazóis outros autores encontraram resultados diferentes. Kerakalamatti *et al.* (2018), avaliaram o efeito de diferentes doses de fungicidas, 250, 500 e 1000 mg/L, *in vitro*, no controle *C. fimbriata*, isolados na romã (*Punica granatum* L.), na Índia. Esses autores observaram inibição total da colônia do patógeno, na dose de 250 mg/L para hexaconazol e propiconazol, e 1000 mg/L para difenoconazol e tebuconazol. Enquanto, para esse último fungicida foi observada completa paralização a 320 mg/L e o ciproconazol em dose menor ainda, de 10 mg/L. A diferença pode estar associada à exposição dos isolados a esses fungicidas nos locais de origem, às espécies avaliadas *in vitro* e a variabilidade entre os isolados, pois esses autores avaliaram um isolado. A ausência da exposição ao tiofanato metílico pode explicar sua eficiência em doses menores, no caso observada já a 2,5mg/L, a menor dose.

Segundo os critérios de Edgington, Khew e Barron (1971), a azoxistrobina foi classificada como não tóxica aos isolados avaliados, de *C. manginecans*, com $EC_{50} > 50$ mg/Kg. Contudo, quando combinada com ciproconazol, a mistura tornou-se moderadamente fungitóxica, com EC_{50} entre 1-50 mg/L, certamente devido a ação do triazol. Este aumento na eficiência por combinação de fungicidas está de acordo com os resultados de Somasekhara (2018). Esses autores também observaram maior fungitoxicidade contra *C. fimbriata* ao combinar triazóis e estrobilurinas. Tal fato, também foi observado por Saranya e Yashoda (2023), quando testaram diferentes doses de princípios ativos, 250, 500 e 1000 mg/L, de estrobilurina e mistura de triazol com estrobilurina (tebuconazol+trifloxistrobina), para *C. fimbriata*, isolados na romã, na Índia. De acordo com os autores, a azoxistrobina apresentou baixa eficiência, com apenas 25,4% de inibição do crescimento micelial, mesmo na sua maior dose testada, de 1000 mg/L, enquanto a combinação proporcionou maior valor de inibição em todas doses testadas, chegando a 94,80% na dose mais alta. Enquanto em outro estudo, a trifloxistrobina foi menos tóxica às raças de *Puccinia triticina*, agente causal da ferrugem da

folha do trigo (ARDUIM *et al.*, 2012). Assim, também foi necessário realizar a mistura da estrobilurina com um triazol. No presente trabalho, observou-se aumento na inibição de menos de 50% na dose de 640 mg/L de QoI, isolado, para 100% na dose de 320 mg/L quando combinado com DMI.

As combinações de fungicidas de diferentes grupos químicos são importantes não só para aumentar a eficiência no controle de fitopatógenos, mas também para reduzir a seleção de isolados resistentes aos princípios ativos e até a de grupos químicos (BRENT e HOLLomon, 2007; VALLIERI *et al.*, 2011; VAN DEN BOSCH *et al.*, 2015; HAWKINS *et al.*, 2019; MÜLLER *et al.*, 2024). Por exemplo, segundo Costa e Cota (2009), os triazóis proporcionaram o controle dos fungos nos estádios mais avançados do ciclo de vida (colonização e pré-esporeção) e estrobilurinas (inibidores externos de quinona) são mais efetivos no início do ciclo de vida (germinação dos esporos e crescimento do tubo de penetração). Esse conhecimento de diversidade de mecanismos de ação tem importância no manejo de doenças em plantas.

Esses resultados, em conjunto, destacam a importância de selecionar os fungicidas e suas combinações para o manejo de *C. manginecans*. A variação na eficiência entre diferentes compostos e combinações ressalta a necessidade de continuar investigando novas formulações e estratégias, para desenvolver soluções mais eficientes e sustentáveis no controle deste importante patógeno. Nesse caso, avaliar, a combinação de triazóis com tiofanato metílico ou mancozeb, nas doses responsáveis por inibir 100% do crescimento micelial, mas *in vitro* e depois avaliar as doses a partir dessas até as de bula em mudas e no campo.

Assim como os fungicidas, as NP's também foram eficientes em reduzir o crescimento micelial *in vitro* de *C. manginecans*, porém não alcançaram 100% de inibição. Destas, a NP de MoO₃ teve maior destaque por manter altas porcentagens de inibição, chegando a 85,5% de inibição da colônia do fungo, na dose mais alta, 640 mg/L. Enquanto a NP com segundo maior desempenho, ZnO, só reduziu em média 60% o crescimento micelial dos isolados, nessa mesma dose. Já, as NP's de CuO e S obtiveram baixo desempenho, de 34,7 e 47,6%, em relação a NP mais eficiente, o MoO₃. Os isolados tiveram o mesmo comportamento somente na última dose para essas duas melhores NP's, contudo, para CuO e S, a variabilidade das populações foi observada em todas doses empregadas. Com isso, as NP's de MoO₃ e ZnO obtiveram baixos valores de EC₅₀, 47 e 179 mg/L, respectivamente, entretanto os de maiores valores, com variação entre os isolados, foram observados no CuO e S, de 1.519 e 3.749 mg/L, ou seja, 32 e 80 vezes maior em relação a MoO₃.

Segundo Mu *et al.* (2014), características como tamanho (<10 nm), razão superfície/volume e defeitos estruturais podem influenciar significativamente a toxicidade das NP's aos fungos. No presente estudo, observou-se possível correlação entre o tamanho das NP's e sua eficiência. Por exemplo, as NP's de MoO₃, ZnO, CuO e S apresentaram tamanhos mínimos de 13, 35, 40 e 60 nm, respectivamente. Deste modo, a maior eficiência observada com MoO₃ pode estar relacionada a essa diferença de tamanho, sendo quase 5 vezes menor em relação ao tamanho do S, a de menor eficiência.

Existem poucos trabalhos sobre o efeito antifúngico de NP de MoO₃, principalmente para *C. manginecans*. A concentração mínima fungicida de 1500 mg/L dessa NP, foi capaz de inibir totalmente o crescimento de *Aspergillus fumigatus* (QURESHI *et al.*, 2016). Esse resultado foi semelhante ao obtido no presente trabalho. Embora a dose usada fosse diferente, 2,3 vezes menor, esses ensaios confirmam o efeito fungitóxico dessa NP. E, em outro estudo realizado por Basu *et al.* (2020), a concentração de 2000 mg/L de NP de Mo(O,N)S₂, reduziu o crescimento micelial de *Alternaria alternata* e *Fusarium oxysporum* em 84,2 e 72,5%, respectivamente. O mesmo autor, por meio de microscopia eletrônica de varredura e fluorescência detectou deformidades morfológicas causadas por perfurações induzidas por espécies reativas de oxigênio (ROS) dentro da parede celular, levando à morte celular. No entanto, no estudo feito por Zhang *et al.* (2019), as NP's de MoS₂ composto com quitosana (MoS₂-CS), Ag e MoS₂-CS-Ag obtiveram concentração inibitória mínima de 13,4 ± 0,5, 7,4 ± 0,1 e 4,2 ± 0,1 mg/L, respectivamente, para *Aspergillus niger*. Assim como para os fungicidas, a combinação de diferentes tipos de NP's podem exercer um efeito sinérgico no controle de fitopatógenos.

Recentemente, Saranya *et al.* (2024) e Mosquera-Sánchez *et al.* (2020) reportaram o efeito antifúngico de NP de Zn e ZnO em reduzir o crescimento micelial de *C. fimbriata* e *Colletotrichum* sp. em 84,7 e 96,4%, respectivamente, contudo, a máxima dose utilizada foi quase 50% menor em relação a usada no presente estudo, ou seja, 1500 e 1200 mg/L. Entretanto, a NP de Zn, na dose de 500 mg/L, inibiu em 100% o crescimento da colônia de *C. coffeicola* (CARVALHO *et al.*, 2022). Do mesmo modo, a dose de 500 e 1000 mg/L de S, inibiu em 86,6 e 100%, respectivamente, o crescimento micelial de *C. fimbriata* (SARANYA *et al.*, 2024). Essas doses foram mais eficientes, até 58,8 e 70,2%, em relação a maior dose, 640 mg/L, testada nesse trabalho. Similarmente, Leal *et al.* (2024) observaram uma redução de 94,4% na germinação de esporos de *H. vastatrix* com 400 mg/L de NP's de CuO, além de 92% de eficiência no controle da ferrugem em mudas de cafeeiro. Embora eficiência dessas NP's obtida

nesse trabalho seja menor ou igual, em relação aos estudos acima citados, ainda é significativa e essa variação de eficiência observada entre populações fúngicas evidencia a complexidade das interações entre NP's e patógenos. Essa variabilidade, para Hussain *et al.* (2016) e Khan e Rizvi (2014), pode ser atribuída ao mecanismo de ação das NP's, dependente das características físicas, assim como o tempo de exposição do patógenos às NP's.

No entanto, estes resultados não diminuem o potencial das NP's como agentes antifúngicos, mas sim destacam a necessidade de otimização e pesquisas adicionais. Futuros estudos poderiam explorar a dose, o tamanho e a composição das NP's, bem como investigar combinações sinérgicas de diferentes tipos de NP's de modo aumentar a eficácia contra *C. manginecans*. Além disso, a compreensão dos mecanismos de ação das NP's, como a interação com membranas celulares fúngicas e a indução de estresse oxidativo a partir da geração de ROS, conforme descrito por Ahmad *et al.* (2013) e Jahan *et al.* (2018), fornece uma base sólida para o desenvolvimento de estratégias antifúngicas mais eficientes e específicas. Esta abordagem, fundamentada na compreensão dos mecanismos de ação das NP's, oferecerá alternativas favoráveis para o aprimoramento do controle de *C. manginecans* e potencialmente outros fitopatógenos.

Os óleos essenciais proporcionaram atividade fungicida contra *C. manginecans*. Essa capacidade de reduzir o crescimento micelial presente nos óleos essenciais, para Simões e Spitzer (2000), deve-se a presença de componentes químicos majoritários em concentrações distintas, em sua grande maioria, apresentando um composto principal e outros em concentração menor.

O óleo essencial de Capim-limão apresentou desempenho superior em comparação aos demais óleos avaliados. Na dose máxima testada de 3200 $\mu\text{L/L}$, esse óleo inibiu completamente (100%) o crescimento micelial dos isolados. O mesmo foi seguido por Melaleuca, apresentando variabilidade dos isolados, com variação de inibição entre 78,1 a 100%. Enquanto, sem variação entre as populações, o Tomilho obteve o terceiro melhor desempenho, chegando a 91% de inibição. Já, os de menor desempenho, foram os óleos de Candeia e Eucalipto, sendo 2 e 4 vezes menos eficientes em relação ao Capim-limão, o melhor óleo, na última dose. Apesar de não ter paralisando o crescimento dos isolados, o óleo de Tomilho obteve os menores EC50, 181 $\mu\text{L/L}$, sendo 70% menor em relação ao isolado menos sensível ao Capim-limão, ou seja, com 625 $\mu\text{L/L}$. O Eucalipto apresentou variabilidade entre as populações dos isolados, com maiores EC50.

A eficiência de Capim-limão também foi observada por Pansera et al. (2023), inibindo completamente (100%) o crescimento micelial de *C. fimbriata*, a partir da dose de 1000 µL/L, entretanto, sendo essa dose 3,2 vezes menor em relação à usada nesse trabalho. Assim como também, o estudo conduzido por Mudyiwa et al. (2017) utilizando já os extratos vegetais de Capim-limão na sua dose máxima, 100%, proporcionou inibição de 94,5% da germinação de esporos de *H. vastatrix*. Essa eficiência do Capim-limão pode ser atribuída à presença de diversos metabólitos secundários, incluindo flavonóis, flavonas, xantonas (SOUZA et al., 2015), taninos (LINS et al., 2015) e alcaloides (SILVA et al., 2014). O Citral destaca-se como o composto químico majoritário deste óleo, com mais de 75% de sua composição (PANSERA et al., 2023). Este componente possui a capacidade de potencializar a atividade antifúngica, promovendo a degradação das paredes celulares dos patógenos (LI et al., 2014). Por outro lado, nesse trabalho, o *C. manginecans* foi quase 4 e 8 vezes mais sensíveis a Melaleuca, em relação a *Penicillium italicum* e *P. digitatum*, respectivamente, segundo a pesquisa realizada por Zhang et al. (2018), obtiveram concentração inibitória mínima de 12000 e 24000 µL/L desse óleo, nesses dois fungos. Esse efeito antifúngico da Melaleuca, segundo Cox et al. (2000), é atribuído aos terpenos, devido à sua natureza hidrofóbica, interação com os lipídios das membranas dos fungos, alterando sua permeabilidade e comprometendo a integridade celular.

Atividade antifúngica de Tomilho, aqui descrita, também foi confirmada em estudos anteriores, como o de Nunes et al. (2021), sendo as doses de 300 µL/L para *A. niger* e *S. rolfssii*, 200 µL/L para *Penicillium expansum* e *Sclerotinia sclerotiorum*, resultaram na redução de 50% do crescimento micelial destes patógenos. Fialho et al. (2015) também reportaram a eficiência do Tomilho nas doses de 1000 e 40000 µL/L no controle de *Phakopsora euvitis*, alcançando inibição de 52 e 100%, respectivamente, da germinação de esporos. O timol, fenol monoterpene derivado do cimeno, é o responsável da atividade antifúngica desse óleo (SALEHI et al., 2018).

As variações na eficiência dos óleos contra o crescimento micelial de *C. manginecans* podem ser atribuídas a diversos fatores. Inicialmente, os tipos e quantidades de compostos bioativos presentes em cada óleo, influenciam no potencial fungitóxico para determinado patógeno (MELO et al., 2013; O'BRYAN et al., 2015). Vários autores afirmam, ainda, a existência de elementos adicionais, contribuindo para essas diferenças, tais como a parte da planta utilizada, as condições edafoclimáticas, a época e o horário da colheita. Estes aspectos, segundo a literatura, impactam na concentração e composição dos óleos, resultando na eficiência contra os fungos (TAIS e ZEIGER, 2013; ERYIGIT et al. 2017; SILVA et al. 2018; RIBEIRO et al., 2018; MENEZES FILHO e SOUZA, 2020; MENEZES FILHO et al. 2020).

Nesse estudo de comparação de métodos de controle de *C. manginecans*, os fungicidas apresentaram desempenho superior em relação às NP's e óleos, com 100% de inibição a partir da dose de 100 mg/L. Porém, o óleo de Capim-limão foi eficiente, com mais de 85% de inibição, na dose de 1000 µL/L, superando a NP de CuO, com inibição superior a 64%, na mesma dose. Os fungicidas tiveram os menores EC50, abaixo de 2 mg/L, enquanto as NP's e óleos obtiveram os maiores EC50, sendo até 480 e 750 vezes maior em relação aos fungicidas. O comportamento dos isolados foi variável para os óleos de Capim-limão e Tomilho.

A maior eficiência dos fungicidas no controle de doenças em plantas em relação a outros métodos também foi confirmado por Fontana *et al.* (2017), tendo o fungicida Tebuconazol maior inibição, 100%, em relação aos extratos vegetais de canela e cravo da Índia, com 0,33 e 46,4%, respectivamente, no controle de *Monilinia fructicola*. Assim como também em outro estudo, a dose de 1000 µL/L do Capim-limão e Melaleuca, 100 mg/Kg da mistura de difenoconazol com fludioxonil, inibiram o crescimento micelial de *Alternaria alternata* em 55,0, 68,1 e 100%, respectivamente (MOUMNI *et al.*, 2021).

No entanto, é importante notar a eficiência dos tratamentos pode variar dependendo da espécie de fungo alvo e das concentrações utilizadas. Isso foi evidenciado nesse trabalho. Esse resultado foi consistente com o obtido por Mudyiwa *et al.* (2017), sendo a porcentagem de inibição da germinação de esporos de *H. vastatrix* por Oxicloreto de Cobre (1000 mg/Kg) inferior, em relação ao extrato vegetal de Capim-limão, com 69,1 e 85,4%, respectivamente. Por sua vez, a atividade antifúngica de NP de ZnO com oídio da pimenta em casa de vegetação foi mais efetiva em comparação ao fungicida penconazol. A porcentagem de severidade da doença por tratamento com o fungicida e NP, na concentração de 0,25 e 200 mg/L, foi de 10,3 e 13,6%, respectivamente (ISMAIL e El-GAWAD, 2021). Essa variabilidade nos resultados ressalta, mais uma vez, a importância de considerar as especificidades de cada patossistema ao avaliar a eficiência de diferentes agentes antifúngicos.

Os resultados obtidos neste estudo e em pesquisas anteriores evidenciam a maior eficiência dos fungicidas químicos em comparação aos óleos essenciais e NP's no controle de doenças fúngicas em plantas. No entanto, apesar da maior eficiência dos fungicidas químicos, os óleos essenciais e NP's podem desempenhar um papel complementar no manejo integrado de doenças, reduzindo a pressão de seleção de resistência e mitigando impactos ambientais. Além disso, aplicação desses produtos fitossanitários em cafeeiros após colheita ou poda deve constituir uma estratégia preventiva, criando barreira protetiva eficiente para impedir a penetração de inóculos em ferimentos e minimizar a entrada de patógenos nos tecidos vegetais

expostos. Entretanto, mais estudos são necessários para otimizar a formulação e a aplicação desses produtos alternativos, além de estudos de maiores doses e outras nanopartículas e óleos essenciais.

6. CONCLUSÃO

Os fungicidas, NP's e óleos essenciais testados tiveram efeitos diferenciados sobre o crescimento micelial de *C. manginecans*.

Entre fungicidas, NP's e óleos essenciais testados, Tiofanato metílico, MoO₃ e Capim-limão, respectivamente, tiveram melhor desempenho no controle de *C. manginecans*.

O controle químico, fungicidas, foi o melhor método no controle de *C. manginecans*.

Houve variação na sensibilidade entre os isolados aos fungicidas, NP's e óleos essenciais testados.

7. REFERÊNCIAS

- ABDULLAHBDULLAH M. ALL-SADIADI, FATMAATMA A. ALL-OUWEISIUWEISI, NADIYAADIYA K. ALL-SHARIANIHARIANI1, ALILI O. ALL-ADAWIDAWI, EVELYNVELYN J. KAPLANAPLAN4AND MIKEIKEL.DEADMANEADMAN. Histological Changes in Mango Seedlings Following Infection with *Ceratocystis manginecans*, the Cause of Mango Decline. Department of Crop Sciences, Sultan Qaboos University, AlKhoud, Oman. J Phytopathol 158:738–743. 2010. doi:10.1111/j.1439-0434.2010.01691.x
- ADISA, I. O.; PULLAGURALA, V. L.; RAWAT, S.; HERNANDEZVIEZCAS, J. A.; DIMKPA, C.; ELMER, W. H. E GARDEATORRESDEY, J. L. Role of cerium compounds in Fusarium wilt suppression and growth enhancement in tomato (*Solanum lycopersicum*), J. Agric. Food Chem. 66, 5959–5970. 2018.
- AHMAD, T., MOOSA, A., & REHMAN, A. (2019). *In Vitro* Efficacy of Microbial Antagonists, Botanical Extracts and Synthetic Chemicals against Mango Quick Wilt Pathogen *Ceratocystis Manginecans*. *International Journal of Fruit Science*, 20(4), 705–719. <https://doi.org/10.1080/15538362.2019.1672612>
- AL ADAWI, A.O., BARNES, I., KHAN, I.A. *et al.* *Ceratocystis manginecans* associated with a serious wilt disease of two native legume trees in Oman and Pakistan. *Australasian Plant Pathol.* **42**, 179–193 (2013). <https://doi.org/10.1007/s13313-012-0196-5>
- AL ADAWI, A, DEADMAN, M, AL RAWAHI, A, AL ITMAQBALI, Y, AL JAHWARI, A, AL SAADI, B, AL AMRI, I & WINGFIELD, M 2006, 'Aetiology and causal agents of mango sudden decline disease in the Sultanate of Oman', *European Journal of Plant Pathology*, vol. 116, no. 4, pp. 247-254.
- ALMEIDA. K. A.; POZZA, E. A.; SILVA, G. A.; HARRINGTON, T. C.; COLARES, M. R. N.; FERREIRA, M. A. 2024. Primeiro relato de *Ceratocystis manginecans* causando cancrós e morte de *Coffea arabica* no Brasil. *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-23-0656-PDN>
- ALVES, K. A. ec50estimator: An Automated Way to Estimate EC50 for Stratified Datasets. R package version 0.2.0, <https://github.com/AlvesKS/ec50estimator>. 2022.
- ANUSUYA, S. E SATHIYABAMA, M. Foliar application of β -Dglucan nanoparticles to control rhizome rot disease of turmeric, *Int. J. Biol. Macromol.* 72, 1205–1212. 2015.
- ARDUIM, G. da S.; REIS, E. M.; BARCELLOS, A. L.; TURRA, C. In vivo sensitivity reduction of Puccinia triticina races, causal agent of wheat leaf rust, to DMI and QoI fungicides. *Summa Phytopathologica*, v. 38, n. 4, p. 306–311, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052012000400006>
- BARNES, I.; FOURIE, A.; WINGFIELD, M.J.; HARRINGTON, T.C.; MCNEW, D.L.; SUGIYAMA, L.S.; LUIZ, B.C.; HELLER, W.P.; KEITH, L.M. New *Ceratocystis* species

associated with rapid death of *Metrosideros polymorpha* in Hawaii. *Persoonia* 2018, 40, 154–181.

BARNES, I.; GAUR, A.; BURGUESS, T.; ROUX, J. 2001; WINGFELD, B. D.; WINGFELD, M. J. Microsatellite markers reflect intra-specific relationships between isolates of the vascular wilt pathogen *Ceratocystis fimbriata*. *Molecular Plant Pathology*, 2, 319-325.

BAKER, CJ, HARRINGTON, TC, KRAUSS, U & ALFENAS, AC 2003, 'Genetic variability and host specialization in the Latin American clade of *Ceratocystis fimbriata*', *Phytopathology*, vol. 93, no. 10, pp. 1274-1284.

BAPAT, R. A.; CHAUBAL, T. V.; JOSHI, C. P.; BAPAT, P. R.; CHOUDHURY, H.; PANDEY, M.; GORAIN, B.; KESHARWANI, P. (2018). *An overview of application of silver nanoparticles for biomaterials in dentistry. Materials Science and Engineering: C*, (), S0928493117335956–. doi:10.1016/j.msec.2018.05.069

BORGATTA, J.; MA, C.; HUDSON-SMITH, N.; ELMER, W.; PLAZA PÉREZ, C. D.; DE LA TORRE-ROCHE, R. E HAMERS, R. J. Copper based nanomaterials suppress root fungal disease in watermelon (*Citrullus lanatus*): role of particle morphology, composition and dissolution behavior, *ACS Sustainable Chem. Eng.* 6(11), 14847–14856. 2018.

BORJA, D. C.; CAYCEDO, J. E. L.; RÍOS, J. A. L. 1995: El secamiento de los cítricos en la zona cafetera central. *Cenicafé Avances Técnicos*, Colombia, 212, 1-8.

BRAWNER, J, JAPARUDIN, Y, LAPAMMU, M, RAUF, R, BODEN, D & WINGFIELD, MJ 2015, 'Evaluating the inheritance of *Ceratocystis acaciivora* symptom expression in a diverse *Acacia mangium* breeding population', *Southern Forests: A Journal of Forest Science*, vol. 77, no. 1, pp. 83-90.

Brent KJ, Hollomon DW (2007) Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed? FRAC Monograph No. 1 (second, revised edition). Fungicide Resistance Action Committee, Global Crop Protection Federation Brussels, Belgium. <https://www.frac.info/docs/default-source/publications/monographs/monograph-1.pdf>

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

CARVALHO, C.A., POZZA, E.A., De SOUZA, P.E. *et al.* Nanoparticles in the management of brown eye spot in coffee. *Eur J Plant Pathol* **163**, 767–774 (2022). <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02511-z>

CASTRO C., B.; CORTINA G., H. Evaluación de resistencia a *Ceratocystis colombiana* y *Ceratocystis papillata* en genotipos de café. *Cenicafé* 63 (2): 23-30. 2012.
Castro, B. (1991): Nuevas recomendaciones para el control de la llaga macana del cafeto. *Avances Técnicos Cenicafé* 160, 1–4.

CBP&D/Café - Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café. VALOR BRUTO DE PRODUÇÃO–VBP Dezembro2022. Disponível em:

http://www.consorciopesquisacafe.com.br/images/stories/noticias/2021/2022/dezembro/VBP_12_2022.pdf

CHI NM. 2022. Pathogenicity of *Ceratocystis manginecans* in inoculated Acacia roots. *Indian Phytopathology* 75: 231–237.

CHI NM, TRANG TT, NHUNG NP ET AL. 2021. Ceratocystis wilt in *chukrasia tabularis* in Vietnam: identification, pathogenicity and host tolerance. *Australasian Plant Pathology* 50: 17–27

CHI NM, THU PQ (2016) Ceratocystis wilt disease of Eucalyptus in Vietnam. *Sci Tech J Agric Rural Dev* 6:119–123.

CHI NM, QUANG DN, ANH NT, GIANG BD, ANH CN. Disease resistance of eucalypt clones to *Ceratocystis manginecans*. *Journal of Tropical Forest Science* 35(1): 1–9. 2023. Forest Research Institute Malaysia <https://doi.org/10.26525/jtfs2023.35.1.1>

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de café - safra 2023, nº 1 - 1º Levantamento, Brasília, Janeiro 2023, ISSN 2318-7913. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/cafes>. Acesso em: 05 de Fevereiro de 2023.

DANANJAYA, S. H. S.; ERANDANI, W. K. C. U.; KIM, C. H.; NIKAPITIYA, C.; LEE, J. and DE ZOYSA, M. Comparative study on antifungal activities of chitosan nanoparticles and chitosan silver nano composites against *Fusarium oxysporum* species complex, *Int. J. Biol. Macromol.* 105, 478–488. 2017.

DE Beer ZW, DUONG TA, BARNES I, et al. (2014). Redefining *Ceratocystis* and allied genera. *Studies in Mycology* 79: 187–219.

DIMKPA, C. O.; WHITE, J. C.; ELMER, W. H. AND GARDEATORRESDEY, J. Nanoparticle and ionic Zn promote nutrient loading of sorghum grain under low NPK fertilization, *J. Agric. Food Chem.* 65(39), 8552–8559. 2017.

DIMKPA, C. O.; SINGH, U.; ADISA, I. O.; BINDRABAN, P.; ELMER, W.; GARDEATORRESDEY, J. AND WHITE, J. C. Effects of manganese nanoparticle exposure on nutrient acquisition in wheat, (*Triticum aestivum* L.), *Agronomy*. 8(9), 158. 2018.

DOUGLAS Soligo Fracasso. 2019. Avaliação in vitro de extratos vegetais no controle de *Ceratocystis fimbriata*. Trabalho de Conclusão de Curso de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia na Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.

DURÁN, N.; NAKAZATO, G.; SEABRA, A. B. (2016). *Antimicrobial activity of biogenic silver nanoparticles, and silver chloride nanoparticles: an overview and comments.* *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(15), 6555–6570. doi:10.1007/s00253-016-7657-7

ELMER, W. H. AND WHITE, J. C. The use of metallic oxide nanoparticles to enhance growth of tomatoes and eggplants in disease infested soil or soilless medium, *Environ. Sci.: Nano.* 3(5), 1072–1079. 2016.

ELMER, W. and White, J.C. The Future of Nanotechnology in Plant Pathology. *Annual Review of Phytopathology*. Vol. 56:111-133. 2018. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080417-050108>.

ERYIGIT T, YILDIRIM B, EKICI E, ÇIRKA M (2017). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant properties of *Schinus molle* L. essential Oil from Turkey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 20: 570-577. (<https://doi.org/10.1080/0972060X.2017.1304286>)

FALAVESSA, M. 2014: Impacto das mudanças climáticas na resistência de clones de eucalipto a *Ceratocystis fimbriata*. 61 p. Dissertação (Mestre em Ciências Florestais)- Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória. 2014.

FERA, M. T.; LA CAMERA, E.; DE SARRO, A. New triazoles and echinocandins: mode of action, *in vitro* activity and mechanisms of resistance. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, [s. l.], v. 7, n. 8, p. 981–998, 2009.

FERREIRA, F, DEMUNER, A, DEMUNER, N & PIGATO, S 1999, 'Murca de *Ceratocystis* em eucalipto no Brasil', *Fitopatologia Brasileira*, vol. 24, no. sSuplemento, pp. 273-284.

FERREIRA, W. P. M. Boas práticas agrícolas aplicadas à lavoura cafeeira para o estado de Minas Gerais. EMPBRAPA. 2022. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1148365>. Acessado em 03 de Fevereiro de 2023.

FIALHO, R. O.; PAPA, M. F. S.; PEREIRA, D. A. S.. 2015. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Phakopsora euvitis*, agente causal da ferrugem da videira. *Plant Pathology / Scientific Article*. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.82, p. 1-7. DOI: 10.1590/1808-1657000702013

FIRMINO, A. C.; JÚNIOR; H. J. T.; COSTA, P. N.; FURTADO, E. L. 2012: *Ceratocystis fimbriata* causando seca em atemóia na região de Botucatu-SP. *Summa Phytopathologica, Botucatu*. 38, 171-171.

FOURIE, A.; WINGFIELD, M.J.; WINGFIELD, B.D.; BARNES, I. Molecular markers delimit cryptic species in *Ceratocystis sensu stricto*. *Mycol. Prog.* 2015, 14, 1–18.

HAO, Y.; CAO, X.; MA, C.; ZHANG, Z.; ZHAO, N.; ALI, A. and XING, B. Potential applications and antifungal activities of engineered nanomaterials against gray mold disease agent *Botrytis cinerea* on rose petals, *Front. Plant Sci.* 8, 1332. 2017.

HAWKINS NJ, BASS C, DIXON A, NEVE P (2019) The evolutionary origins of pesticide resistance. *Biol Rev* 94:135–155. <https://doi.org/10.1111/brv.12440>

HARRINGTON, T. C., FERREIRA, M. A., SOMASEKHARA, Y. M., VICKERY, J., & MAYERS, C. G. (2023). An expanded concept of *Ceratocystis manginecans* and five new species in the Latin American clade of *Ceratocystis*. *Mycologia*, 116(1), 184–212. <https://doi.org/10.1080/00275514.2023.2284070>

HARRINGTON, TC 2007, 'The genus *Ceratocystis*. Where does the oak wilt fungus fit?', in RF Billings & DN Appel (eds), *Proceedings of the 2nd National Oak Wilt Symposium*, Austin, Texas, United States, June 4-7 2007, vol. 4, pp. 27-42.

HARRINGTON, TC 2013, '11 *Ceratocystis* Diseases', in *Infectious Forest Diseases*, pp. 230-255.

HARRINGTON, TC, HUANG, Q, FERREIRA, MA & ALFENAS, AC 2015, 'Genetic analyses trace the Yunnan, China population of *Ceratocystis fimbriata* on pomegranate and taro to populations on Eucalyptus in Brazil', *Plant Disease*, vol. 99, no. 1, pp. 106-111.

HOLLAND, L.A.; LAWRENCE, D.P.; NOURI, M.T. 2019. Taxonomic revision and multi-locus phylogeny of the North American clade of *Ceratocystis*. *Fungal Systematics and Evolution*, 3(1), 135-156. <https://doi.org/10.3114/fuse.2019.03.07>

HUSSAIN, I.; SINGH, N.B.; SINGH, A.; SINGH, H. and SINGH, S.C. Green synthesis of nanoparticles and its potential application. *Biotechnol Lett* 38: 545–560. 2016.

ICO—International Coffee Organization. Annual Review 2021/22. Disponível em: https://www.ico.org/annual_review.asp?section=About_Us (acessado em 02 de Fevereiro de 2023).

ISMAIL, A e EL-GAWAD, M. E. A. The antifungal effect of MgO and ZnO nanoparticles against powdery mildew disease of pepper (*Capsicum annuum* L.) under greenhouse conditions. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, v. 0, n. 0, p. 0–0, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.21608/ejar.2021.96252.1150>

JAYASEELAN, C.; RAHUMAN, A. A.; KIRTHI, A. V.; MARIMUTHU, S.; SANTHOSHKUMAR, T.; BAGAVAN, A. AND RAO, K. B. Novel microbial route to synthesize ZnO nanoparticles using *Aeromonas hydrophila* and their activity against pathogenic bacteria and fungi, *Spectrochim. Acta, Part A*. 90, 78–84. 2012.

JO, Y.K.; KIM, B.H. and JUNG, G. Antifungal activity of silver ions and nanoparticles against selected crop phytopathogenic fungi. *Plant Disease*. 93(10):1037-1043. 2009.

KAMGAN, N, JACOBS, K, DE BEER, Z, WINGFIELD, M & ROUX, J 2008, 'Ceratocystis and Ophiostoma species including three new taxa, associated with wounds on native South African trees', *Fungal Divers*, vol. 29, pp. 37-59.

KHAN, M. and RIZVI, F.T. Nanotechnology: scope and applications in plant management. *Plant Pathol* 13:214–231. 2014.

KHORRAMI, S.; NAJAFABADI, J. F.; ZAREPOUR, A.; ZARRABI, A. (2019). Is *Astragalus gossypinus* Honey a Natural Antibacterial and Cytotoxic Agent? An Investigation on A. gossypinus Honey Biological Activity and Its Green Synthesized Silver Nanoparticles. *BioNanoScience*, (), -. doi:10.1007/s12668-019-00646-8

KILE, G 1993, 'Plant diseases caused by species of *Ceratocystis sensu stricto* and *Chalara*', in MJ Wingfield, KA Seifert & JF Webber (eds), *Ceratocystis and Ophiostoma: taxonomy, ecology and pathogenicity*, American Phytopathological Society (APS), St. Paul, USA, pp. 173-183.

KUMARASWAMY, R. V.; KUMARI, S.; CHOUDHARY, R. C.; PAL, A.; RALIYA, R.; BISWAS, P. AND SAHARAN, V. Engineered chitosan based nanomaterials: Bioactivity, mechanisms and perspectives in plant protection and growth, *Int. J. Biol. Macromol.* 113, 494–506. 2018.

LEAL, F.D.S., SANTOS Neto, H., PINHEIRO, I.C.L. *et al.* Copper and silver nanoparticles control coffee rust: decrease the quantity of sprayed active ingredients and is an alternative for

sustainable coffee production. *Eur J Plant Pathol* **168**, 39–51 (2024).
<https://doi.org/10.1007/s10658-023-02726-8>

LAIA M L, ALFENAS AC, HARRINGTON TC. Isolation, detection in soil, and inoculation of *Ceratocystis fimbriata*, causal agent of wilting, die-back and canker in Eucalyptus. *Fitopatologia Brasileira* 2000; 25: 384.

LI, L.; LI, L.; ZHOU, X.; YU, Y.; LI, Z.; ZUO, D.; WU, Y. (2019). Silver nanoparticles induce protective autophagy via Ca²⁺/CaMKK β /AMPK/mTOR pathway in SH-SY5Y cells and rat brains. *Nanotoxicology*, (), 1–23. doi:10.1080/17435390.2018.1550226

LI RY, WU XM, YIN XH, LIANG JN, LI M. The natural citral can cause significant damage to the hyphal cell walls of *Magnaporthe grisea*. *Molecules*. 2014; 19(7):10279-90.

LIAO, C.; LI, Y.; TJONG, S. (2019). Bactericidal and Cytotoxic Properties of Silver Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(2), 449–. doi:10.3390/ijms20020449

LINS, A. D. F., OLIVEIRA, M. N., DE OLIVEIRA Fernandes, V., ROCHA, A. P. T., SOUSA, F. C., Martins, A. N. A., & Nunes, E. N. (2015). Quantificação de compostos bioativos em erva cidreira (*Melissa officinalis* L.) e capim cidreira [*Cymbopogon citratus* (dc) Stapf.]. *Gaia Scientia*, 9(1).

LIU F, DUONG TA, BARNES I, WINGFIELD MJ, CHEN S. Population Diversity and Genetic Structure Reveal Patterns of Host Association and Anthropogenic Impact for the Globally Important Fungal Tree Pathogen *Ceratocystis manginecans*. *Journal of Fungi*. 2021; 7(9):759. <https://doi.org/10.3390/jof7090759>

MAGALHÃES, D. M. A.; LUZ, E. D. M. N.; LOPES, U. V.; NIELLA, A. R. R.; DAMACENO, V. O. 2016: Leaf disc method for screening *Ceratocystis* wilt resistance in cacao cacao. *Tropica Plant Pathology*. 41, 155–161.

MARADIAGA, C. 2022. Manual Técnico para una Caficultura Sostenible y Productiva. Enfermedades del café. Disponível em:
https://issuu.com/cesarmaradiaga2/docs/pdf_manual_tcnico_para_uma_caficultura_sostenible/s/16561078

MCCANDLESS, L. 2005. Nanotechnology Offers New Insights into Plant Pathology. College of Agriculture and Life Sciences at Cornell University.

MENEZES FILHO ACP, SOUSA WC, CASTRO CFD (2020b). Composição química, físico-química e atividade antifúngica dos óleos essenciais da flor e do fruto de *Myrcia guianensis* (Aubl.) DC. *Revista Principia* 52: 92-104. (<https://doi.org/10.18265/1517-0306a2020v1n52p92-104>).

MENICHETTI, A.; MAVRIDI-PRINTEZI, A.; MORDINI, D.; MONTALTI, M. Effect of Size, Shape and Surface Functionalization on the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles. *J. Funct. Biomater*. 2023, 14, 244. <https://doi.org/10.3390/jfb14050244>

MARIN, M.; CASTRO, B.; GAITAN, A.; PREISIG, O.; WINGFIELD, B. D.; WINGFIELD, M. J. 2003: Relationships of *Ceratocystis fimbriata* isolates from Colombian Coffee-Growing regions based on molecular data and pathogenicity. *Journal of Phytopathology*. 151, 395-405.

- MUDYIWA, RM, N. MWATSIYA, BT MANENJI, P. CHIDOKO E C. MAHOYA. 2017. "Avaliação de Diferentes Botânicos para o Controle da Ferrugem do Café (*Hemileia vastatrix* Berkeley e Broome)". *Jornal Internacional de Ciências de Plantas e Solo* 14 (6):1-8. <https://doi.org/10.9734/IJPSS/2017/28252>.
- Müller, MA, Simões, K., Kochinski, EG *et al.* Seleção de isolados resistentes a *Phakopsora pachyrhizi* por aplicações de fungicidas no campo dentro da mesma estação. *J Plant Dis Prot* 131 , 1279–1287 (2024). <https://doi.org/10.1007/s41348-024-00895-0>
- MURAMOTO, N, TANAKA, T, SHIMAMURA, T, MITSUKAWA, N, HORI, E, KODA, K, OTANI, M, HIRAI, M, NAKAMURA, K & IMAEDA, T 2012, 'Transgenic sweet potato expressing thionin from barley gives resistance to black rot disease caused by *Ceratocystis fimbriata* in leaves and storage roots', *Plant Cell Reports*, vol. 31, no. 6, pp. 987-997.
- NASUTION, Aswardi . Management Approaches for *Ceratocystis* Wilt and Canker Disease in Acacia Plantations. University of Tasmania, Australia . 2019.
- NAYANTARA and KAUR, P. Biosynthesis of nanoparticles using ecofriendly factories and their role in plant pathogenicity: a review. *Biotechnol Res Innov* 2:63–73. 2018.
- NUNES, C. R.; VALENTE, P. M.; SILVA, F. D.; VALENTE, V. M. M. 2021. Composição química e atividade antifúngica do óleo essencial de *Thymus vulgaris* sobre *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*, *Sclerotinia sclerotiorum* E *Sclerotium Rolfsii*. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v.7, n.2, p.14250-14260. DOI:10.34117/bjdv7n2-173
- O'BRYAN, C. A.; PENDLETON, S. J.; CRANDALL, P. G.; ROCKE, S. C. Potential of plant essential oils and their components in animal agriculture – in vitro studies on antibacterial mode of action. *Frontiers in Veterinary Science*v.2, p.1-8, 2015.
- PANSERA, M. R., VERGANI, C. T., & SANTOS, M. C. dos. (2023). Uso de produtos alternativos para controle de *Ceratocystis fimbriata* em mudas de quiveiro. *Revista Interdisciplinar De Ciência Aplicada*, 7(12). <https://doi.org/10.18226/25253824.v17.n12.02>
- PEREIRA, J.C.R. & SANTOS, A.F. dos. Avaliação de fungicidas e técnicas de aplicação no controle de *Ceratocystis fimbriata*, em seringueira. *Fitopato l. bras.* 11:811-816. 1986.
- PEREIRA, R. B.; LUCAS, G. C.; PERINA, F. J.; ALVES, E. Essential oils for rust control on coffee plants. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 36, n. 1, p. 16-24, jan./fev., 2012.
- PIVETA G, ALFENAS AC, MUNIZ MFB, VALDEBENITO-SANHUEZA RM, FERREIRA MA. Ocorrência de *Ceratocystis fimbriata* em kiwi (*Actinidia deliciosa*) no sul do Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura* 2013; 35(2): 665-669. 10.1590/ S0100-29452013000200040
- PORNSURIYA, C & SUNPAPAO, A 2015, 'A new sudden decline disease of bullet wood in Thailand is associated with *Ceratocystis manginecans*', *Australasian Plant Disease Notes*, vol. 10, no. 1, p. 26.
- POZZA, E. A. 2021. Diagnose e controle de doenças. IN: Cafeicultura do Cerrado. A Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG. Capítulo 13. Belo Horizonte – MG.

PRATAMA, R.; MUSLIM, A; SUWANDI, S.; DAMIRI, N.; SOLEHA, S. First report of bullet wood (*Mimusops elengi*) sudden decline disease caused by *Ceratocystis manginecans* in Indonesia. B I O D I V E R S I T A Volume 22, Number 5, 2021. DOI: 10.13057/biodiv/d220522

PULLAGURALA, V. L. R.; ADISA, I. O.; RAWAT, S.; KALAGARA, S.; HERNANDEZ-VIEZCAS, J. A.; PERALTA-VIDEA, J. R. AND GARDEA-TORRESDEY, J. L. ZNO nanoparticles increase photosynthetic pigments and decrease lipid peroxidation in soil grown cilantro (*Coriandrum sativum*), Plant Physiol. Biochem. 132, 120–127. 2018.

RAMKUMAR, V. S.; PUGAZHENDHI, A.; GOPALAKRISHNAN, K.; SIVAGURUNATHAN, P.; SARATALE, G. D.; DUNG, T. N. B.; KANNAPIRAN, E. (2017). Biofabrication and characterization of silver nanoparticles using aqueous extract of seaweed *Enteromorpha compressa* and its biomedical properties. Biotechnology Reports, 14(), 1–7. doi:10.1016/j.btre.2017.02.001

RAMOS, K.; ANDREANI JUNIOR, R.; KOZUSNY- ANDREANI, D.I. 2016. Óleos essenciais e vegetais no controle in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides*. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.18, n.2, supl. I, p.605-612.

RAJAT SHARMA AND KISHORE KHOSLA. 2020. In vitro evaluation of plant extracts and fungicides on *Ceratocystis fimbriata* (ELLIS & HALST.), Incitant Of Pomegranate Wilt. www.thebioscan.com

RODAS, C 2008, '*Ceratocystis neglecta* sp. nov., infecting Eucalyptus trees in Colombia', Fungal Divers, vol. 28, pp. 73-84.

RODRIGUES, G.S.; MAGALHÃES, D.M.A.; COSTA, A.M.; LUZ, E.D.M.N. Antagonismo de *Trichoderma spp.* ao agente etiológico da Murcha de *Ceratocystis* em cacauzeiro. Summa Phytopathologica, v.44, n.1, p.72-78, 2018. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/172774>

ROUX, J, HEATH, R, LABUSCHAGNE, L, NKUEKAM, GK & WINGFIELD, M 2007, 'Occurrence of the wattle wilt pathogen, *Ceratocystis albifundus* on native South African trees', Forest Pathology, vol. 37, no. 5, pp. 292-302.

ROUX, J & WINGFIELD, MJ 2009, 'Ceratocystis species: emerging pathogens of non-native plantation Eucalyptus and Acacia species', Southern Forests: A Journal of Forest Science, vol. 71, no. 2, pp. 115-120.

S. D. COX, C. M. MANN, J. L. MARKHAM et al., “The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil),” Journal of Applied Microbiology, vol. 88, no. 1, pp. 170–175, 2000.

SALEHI, B., MISHRA, A. P., SHUKLA, I., SHARIFI-RAD, M., CONTRERAS, M. DEL M., SEGURA-CARRETERO, A., ... SHARIFI-RAD, J. (2018). Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses. Phytotherapy Research. doi:10.1002/ptr.6109

SABOIA, C. da S., CARDOSO, D. T., SANTOS, J. V. dos, SABOIA, C. da S., BARBOSA, R. T. P., Teles, A. M., & MOUCHREK, A. N. (2022). Caracterização química e atividade antimicrobiana do óleo essencial e do extrato bruto do capim limão (*Cymbopogon citratus*).

Research, Society and Development, 11(7), e37611730064. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i7.30064>

SHANMUGANATHAN, R.; MUBARAKALI, D.; PRABAKAR, D.; MUTHUKUMAR, H.; THAJUDDIN, N.; KUMAR, S. S.; PUGAZHENDHI, A. (2017). An enhancement of antimicrobial efficacy of biogenic and ceftriaxone-conjugated silver nanoparticles: green approach. *Environmental Science and Pollution Research*, (), -. doi:10.1007/s11356-017-9367-9

SHUAI FEI Chen, MARELIZE Van Wyk, JOLANDA Roux, MICHAEL J. Wingfield, YAO Jian Xie, XU Dong Zhou. Taxonomy and pathogenicity of *Ceratocystis* species on Eucalyptus trees in South China, including *C. chinaeucensis* sp. nov. *Fungal Diversity*. 2013. 58:267–279. DOI10.1007/s13225-012-0214-5

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 2. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Universidade Federal de Santa Catarina, 2000. p. 394-412

SILVA, F. F. M., MOURA, L. F., BARBOSA, P. T., FERNANDES, A. B. D., BERTINI, L. M., & ALVES, L. A. (2014). Análise da composição química do óleo essencial de capim santo (*Cymbopogon citratus*) obtido a partir de extrator por arraste com vapor d água construído com materias de fácil aquisição e baixo custo. *Holos*, 4, 144-152.

SILVA EAJ, SILVA VP, ALVES CCF, ALVES JM, SOUCHIE EL, BARBOSA LCA (2018). Chemical composition of the essential oil of *Psidium guajava* leaves and its toxicity against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Semina: Ciências Agrárias* 39: 865-874. (<https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n2p865>)

SILVEIRA, S. F.; HARRINGTON, T. C.; MUSSI-DIAS, V.; ENGELBRECHT, C. J. B.; ACELINO C. ALFENAS, A. C.; SILVA, C. R. 2006: *Annona squamosa*, a new host of *Ceratocystis fimbriata*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília. 31, 394-397.

SILVEIRA, A. P.; OLIVEIRA, D. A.; CARDOSO, R. M. G.; NETO, F. B.; ORTOLANI, A. A.; GODOY, G. 1994: Caracterização do prejuízo provocado pelo mofo cinzento (*Ceratocystis fimbriata*) em painéis de seringueira (*Hevea brasiliensis*). *Summa Phytopathologica*. 20, 96-199.

SOUZA, N. S. Controle da ferrugem do cafeeiro com óleos essenciais. Dissertação (Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, 2020.

SOUZA, E. E. D., RIBEIRO, M. D. F., SODRE, L. F., SOARES, I. M., ASCÊNCIO, P. G., & ASCÊNCIO, S. D. (2015, July). Perfil fitoquímico das folhas de uma variedade de *Cymbopogon citratus* cultivada no município de Palmas-TO. In 6ª JICE-JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E EXTENSÃO.

TANVIR Ahmad, ANAM Moosa & ABDUL Rehman (2020) In Vitro Efficacy of Microbial Antagonists, Botanical Extracts and Synthetic Chemicals against Mango Quick Wilt Pathogen *Ceratocystis manginecans*, *International Journal of Fruit Science*, 20:4, 705-719, DOI: 10.1080/15538362.2019.1672612

TAIZ L, ZEIGER E (2013). *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Artmed.

- TARIGAN, M, ROUX, J, VAN WYK, M, TJAHOJONO, B & WINGFIELD, MJ 2011, 'A new wilt and die-back disease of *Acacia mangium* associated with *Ceratocystis manginecans* and *C. acaciivora* sp nov. in Indonesia', *South African Journal of Botany*, vol. 77, no. 2, pp. 292-304.
- THU, P, QYNH, D & DELL, B 2012, '*Ceratocystis* sp. causes crown wilt of *Acacia* spp. planted in some ecological zones of Vietnam. In: Proceeding of International Conference on The Impacts of Climate Change to Forest Pests and Diseases in The Tropics, 8 - 10 October, Yogyakarta, Indonesia.', pp. 38-44.
- TRAN, T.T.T., PHAM, T.Q., BARBER, P.A. et al. Control of *Ceratocystis manginecans* causing wilt disease on *Acacia mangium* seedlings. *Australasian Plant Pathol.* 47, 579–586 (2018). <https://doi.org/10.1007/s13313-018-0594-4>
- TSOPELAS, P.; SANTINI, A.; WINGFIELD, M.J.; DE BEER, Z.W. Canker stain: A lethal disease destroying iconic plane trees. *Plant Dis.* 2017, 101, 645–658
- VALARINI, P. J. E TOKESHI, H.: 1980. *Ceratocystis fimbriata*: agente causal da seca da figueira e seu controle. *Summa Phytopathologica, Botucatu*, 6, 102-106
- 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.
- VAN WYK, M., Wingfield, B.D., Marin, M. et al. New *Ceratocystis* species infecting coffee, cacao, citrus and native trees in Colombia. *Fungal Diversity* **40**, 103–117 (2010). <https://doi.org/10.1007/s13225-009-0005-9>
- VAN WYK, M.; ROUX, J.; NKUEKAM, G.K.; WINGFIELD, B.D.; WINGFIELD, M.J. *Ceratocystis eucalypticola* sp. nov. from Eucalyptus in South Africa and comparison to global isolates from this tree. *IMA Fungus* 2012, 3, 45–58.
- WANG, T; WANG, X; HAN, M; SONG, X; YANG, D; WANG, S; LABORDA, P; SHI, X. Enhanced spoVF operon increases host attachment and biocontrol ability of *Bacillus subtilis* for the management of *Ceratocystis fimbriata* in sweet potato. 2021. *Biological Control* 161 104651 <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104651>
- XING, Ke; TENG JIE Lia ;YUAN Fang Liua; JIAN Zhanga;YU Zhanga; XIAO Qiang Shenb; XIAO Yan Lic; XIANG Min Miaoa; ZHAO Zhong Fenga; XUE Penga; ZONG Yun Lia; SHENG Qind. Antifungal and eliciting properties of chitosan against *Ceratocystis fimbriata* in sweet potato. 2018. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.088>
- MARIN-FELIX, Y.; J.Z. GROENEWALD1 , L. CAI , Q. CHEN , S. MARINCOWITZ , I. BARNES , K. BENSCH, U. BRAUN , E. CAMPORESI, U. DAMM, Z.W. DE BEER, A. DISSANAYAKE, J. EDWARDS, A. GIRALDO , M. HERNANDEZ-RESTREPO, K.D.

HYDE, R.S. JAYAWARDENA, L. LOMBARD, J. LUANGSA-ARD, A.R. MCTAGGART, A.Y. ROSSMAN, M. SANDOVAL-DENIS, M. SHEN, R.G. SHIVAS, Y.P. TAN, E.J. VAN DER LINDE, M.J. WINGFIELD, A.R. WOOD, J.Q. ZHANG, Y. ZHANG, AND P.W. CROUS. 2017. Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 1. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute. *STUDIES IN MYCOLOGY* 86: 99–216.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.simyco.2017.04.002>.

ZAMBOLIM, L.; CAIXETA, E.T. An overview of physiological specialization of coffee leaf rust—New designation of pathotypes. *Int. J. Curr. Res.* 2021, 13, 15479–15490.

ZANETTI, G. F. B. Efeito do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* na germinação de esporos e crescimento micelial de *Colletotrichum* spp., *Fusarium* sp. e *Cylindrocladium* sp. Monografia (Graduação em agronomia) – Universidade Federal de Lavras, 2018.

ZHANG M, LIU M, PAN S, PAN C, LI Y and TIAN J (2018) Perillaldehyde Controls Postharvest Black Rot Caused by *Ceratocystis fimbriata* in Sweet Potatoes. *Front. Microbiol.* 9:1102. doi: 10.3389/fmicb.2018.01102

ZHANG, X., GUO, Y., GUO, L., JIANG, H., & JI, Q. (2018). In Vitro Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Melaleuca alternifolia* Essential Oil. *BioMed Research International*, 2018, 1–8. doi:10.1155/2018/2396109

ZHANG M, Liu M, Pan S, Pan C, Li Y and Tian J (2018) Perillaldehyde Controls Postharvest Black Rot Caused by *Ceratocystis fimbriata* in Sweet Potatoes. *Front. Microbiol.* 9:1102. doi: 10.3389/fmicb.2018.01102

ANEXOS

Tabela 1A - Quantidades das soluções estoque de fungicidas (SE) e meio (MYEA) vertidos em placas de Petri. UFLA, 2024.

Fungicidas	Dose (mg/Kg ou L)			SE (mL)	MYEA (mL)	Concentração SE
Hidróxido de Cobre	0			0,00	100,00	5 mL/L
	2,5			0,14	99,86	
	10			0,57	99,43	
	40			2,29	97,71	
	160			9,14	90,86	
	320			18,29	81,71	
	640			36,57	63,43	
Mancozeb	0			0,00	100,00	12,5 g/L
	2,5			0,03	99,98	
	10			0,10	99,90	
	40			0,40	99,60	
	160			1,60	98,40	
	320			3,20	96,80	
	640			6,40	93,60	
Azoxistrobina	0			0,00	100,00	0,25 g/L
	2,5			0,07	99,93	
	10			0,27	99,73	
	40			1,07	98,93	
	160			4,27	95,73	
	320			8,53	91,47	
	640			17,07	82,93	
Azoxistrobina+Ciproconazol	0			0,00	100,00	28,125 mL/L
	2,5			0,04	99,96	
	10			0,18	99,82	
	40			0,71	99,29	
	160			2,84	97,16	
	320			5,69	94,31	
	640			11,38	88,62	
Tiofanato metílico	0			0,00	100,00	17,5 g/L
	2,5			0,02	99,98	
	10			0,07	99,93	
	40			0,26	99,74	
	160			1,04	98,96	
	320			2,09	97,91	
	640			4,18	95,82	
Tebuconazol	0			0,00	100,00	50 mL/L

	2,5	0,03	99,98	
	10	0,10	99,90	
	40	0,40	99,60	
	160	1,60	98,40	
	320	3,20	96,80	
	640	6,40	93,60	
	0	0,00	100,00	
	2,5	0,05	99,95	
	10	0,21	99,79	
Ciproconazol	40	0,85	99,15	46,875 mL/L
	160	3,41	96,59	
	320	6,83	93,17	
	640	13,65	86,35	

Tabela 2A - Quantidades das soluções estoque (SE) de nanopartículas e meio (MYEA) vertidos em placas de Petri. UFLA, 2024.

Dose (mg/L)	SE (mL)	MYEA (mL)	Concentração SE
0	0,00	100,00	
2,5	0,13	99,88	
10	0,50	99,50	
40	2,00	98,00	2 g/L
160	8,00	92,00	
320	16,00	84,00	
640	32,00	68,00	

Tabela 3A - Quantidades das soluções estoque (SE) de óleos e meio (MYEA) vertidos em placas de Petri. UFLA, 2024.

Dose (µL/L)	SE (mL)	MYEA (mL)	Concentração SE
0	100,00	100,00	
100	99,50	99,88	
200	99,00	99,50	
400	98,00	98,00	20 mL/L
800	96,00	92,00	
1600	92,00	84,00	
3200	84,00	68,00	

Tabela 4. Quantidades das soluções estoque (SE) e meio (MYEA) vertidos em placas de Petri. UFLA, 2024.

Tratamentos	Dose (mg/Kg-L)	SE (mL)	MYEA (mL)	Concentração SE
Azoxistrobina+Ciproconazol	0	0,00	100,00	28,125 mL/L
	1	0,02	99,98	
	10	0,18	99,82	
	100	1,78	98,22	
	1000	17,78	82,22	
Tebuconazol	0	0,00	100,00	50 mL/L
	1	0,01	99,99	
	10	0,10	99,90	
	100	1,00	99,00	
	1000	10,00	90,00	
Ciproconazol	0	0,00	100,00	46,875 mL/L
	1	0,02	99,98	
	10	0,21	99,79	
	100	2,13	97,87	
	1000	21,33	78,67	
Nanopartículas	0	0	100	2 g/L
	1	0,05	99,95	
	10	0,5	99,5	
	100	5	95	
	1000	50	50	
Óleos	0	0	100	20 mL/L
	1	0,005	99,995	
	10	0,05	99,95	
	100	0,5	99,5	
	1000	5	95	

Tabela 5A - Análise de Variância para o fatorial triplo do experimento com fungicidas.

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	3.831950e+00	1.27732	0.7713	0.5102
Fungicida	6	4.395886e+05	73264.77116	44241.517	0
Dose	6	7.958705e+05	132645.0898	80098.7965	0
Isolado	4	3.274850e+03	818.71238	494.386	0
Fungicida*Dose	36	1.548301e+05	4300.83639	2597.0944	0
Fungicida*Isolado	24	1.373098e+04	572.12411	345.4817	0
Dose*Isolado	24	1.560995e+03	65.04148	39.2758	0
Fungicida*Dose*Isolado	144	1.203073e+04	83.54671	50.4503	0
Residuo	732	1.212206e+03	1.65602		
Total	976	1.422103e+06			

CV = 2.07 %

Tabela 6A - Análise de Variância para o EC50 do experimento com fungicidas.

	Df	Sum Sq	Mean.Sq	F value	Pr(F)
Fungicida	5	23649300.34	4729860.07	181.3600081	1.909147e-44
Isolado	4	1738460.33	434615.08	16.6647203	3.564870e-10
Block	3	31953.13	10651.04	0.4083997	7.473491e-01
Fungicida × Isolado	20	9731708.11	486585.41	18.6574511	2.193093e-23
Residuals	87	2268955.71	26079.95		

CV (%) = 66.7 %

Tabela 7A - Análise de Variância para o fatorial triplo do experimento com NP's.

	GL	SQ	QM	FC	Pr>Fc
Bloco	3	65.08473	21.69491	2.5192	0.0576
NP	3	25500.92834	8500.30945	987.0519	0
Dose	6	199646.63218	33274.4387	3863.812	0
Isolado	4	2788.97554	697.24388	80.9636	0
NP*Dose	18	29019.16954	1612.17609	187.2051	0
NP*Isolado	12	6109.74604	509.1455	59.1217	0
Dose*Isolado	24	2991.02621	124.62609	14.4715	0
NP*Dose*Isolado	72	7512.31921	104.33777	12.1157	0
Ad vs Fatorial	1	21325.10373	21325.10373	2476.2609	0
Resíduo	420	3616.96277	8.61182		
Total	563	298575.94828			

CV = 10.77 %

Contraste do tratamento adicional com o fatorial

Medias	
Adicional	100.00000 a
Fatorial	26.72411 b

Tabela 8A - Análise de Variância para o EC50 do experimento com NP's.

	Df	Sum Sq	Mea.Sq	F value	Pr(F)
NP	3	75742395,8	25247465,3	156.0127551	1,898699e-27
Isolado	4	7429779,0	1857444,7	11,4777887	6,674746e-07

Block	3	127893,3	42631,1	0,2634322	8,514524e-01
NP × Isolado	12	10302966,8	858580,6	5,3054641	6,422628e-06
Residuals	57	9224281,2	161829,5		

CV = 38,34 %

Tabela 9A - Análise de Variância para o fatorial triplo do experimento com óleos.

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	63,39369	21.13123	0.7494	0,523
Oleo	4	139483,27791	34870.81948	1236.6507	0
Dose	6	380254.05374	63375.67562	2247.5403	0
Isolado	4	2386.31349	596.57837	21.1569	0
Oleo*Dose	24	79811.56869	3325.48203	117.9341	0
Oleo*Isolado	16	6157.88280	384.86768	13.6489	0
Dose*Isolado	24	2460.99011	102.54125	3.6365	0
Oleo*Dose*Isolado	96	10804.82460	112.55026	3.9915	0
Ad vs Fatorial	1	17155.46678	17155.46678	608.3975	0
Residuo	525	14803.84131	28.19779		
Total	703	653381.61312			

CV = 15.3%

Contraste do tratamento adicional com o fatorial

	Medias
Adicional	100.000000 a
Fatorial	34.493428 b

Tabela 10A - Análise de Variância para o EC50 do experimento com óleos.

	Df	Sum Sq	Mean.Sq	F value	Pr(F)
Óleo	4	4975463772	1243865943	111.8561829	4.077925e-30
Isolado	4	58298942	14574736	1.3106511	2.742252e-01
Block	3	12139133	4046378	0.3638755	7.792701e-01
Óleo × Isolado	16	296241540	18515096	1.6649929	7.397887e-02
Residuals	72	800656214	11120225		

CV (%) = 67.92 %

Tabela 11A - Análise de Variância para o fatorial triplo do experimento com tratamentos.

	GL	SQ	QM	FC	Pr>Fc
Bloco	3	33.31275	11.10425	3.0215	0.0302
Produto	8	160080.78472	20010.09809	5444.83	0
Dose	4	290822.46150	72705.61537	19783.4969	0
Isolado	1	90.00000	90	24.4894	0
Produto*Dose	32	82162.85750	2567.5893	698.6516	0
Produto*Isolado	8	2517.57950	314.69744	85.6305	0
Dose*Isolado	4	78.45750	19.61438	5.3372	4e-04
Produto*Dose*Isolado	32	1968.38550	61.51205	16.7377	0
Ad vs Fatorial	1	15103.10565	15103.10565	4109.6172	0
Residuo	270	992.26725	3.67506		
Total	363	553849.21187			

CV = 4.93 %

Contraste do tratamento adicional com o fatorial

	Medias
Adicional	100.00000 a
Fatorial	38.21222 b

Tabela 12A. Porcentagem inibição do crescimento micelial, de isolados de *Ceratocystis manginecans*, em função de doses de tratamentos, em relação ao controle, dose zero de produtos. UFLA, 2024.

KLC 01					
Tratamentos	Doses				
	0	1	10	100	1000
Ciproconazol	0 d	65,5 c	85,9 b	100 a	100 a
Capim-limão	0 e	14,2 d	24,4 c	34,3 b	100 a
CuO	0,9 e	4,1 d	14,1 c	27,0 b	63,5 a
Melaleuca	0 d	0,7 d	4,2 c	11,2 b	43,9 a
MoO ₃	0 d	2,7 d	10,5 c	30,5 b	100 a
Azoxistrobina+Ciproconazol	0 d	59,6 c	81,3 b	100 a	100 a
Tebuconazol	0 d	37,9 c	77,7 b	100 a	100 a
Tomilho	0 d	7,0 c	16,4 b	17,4 b	55,3 a
ZnO	0 e	5,5 d	21,1 c	26,0 b	100 a

P14					
Produtos	Doses				
	0	1	10	100	1000
Ciproconazol	0 d	63,1 c	87,8 b	100 a	100 a
Capim-limão	0 d	1,1 d	4,2 c	14,5 b	76,0 a
CuO	0 d	2,2 d	16,3 c	24,7 b	65,7 a
Melaleuca	0 d	0,9 d	4,2 c	13,0 b	45,7 a

MoO ₃	0 e	4,6 d	16,6 c	35,6 b	100 a
Azoxistrobina+Ciproconazol	0 d	49,9 c	81,9 b	100 a	100 a
Tebuconazol	0 d	34,9 c	83,1 b	100 a	100 a
Tomilho	0 d	7,6 c	10,3 b	11,5 b	75,2 a
ZnO	0 e	11,4 d	24,6 c	30,9 b	100 a

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha não foram estatisticamente diferentes segundo o teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Fonte: Do autor (2024)

Tabela 13A - Análise de Variância para o EC50 do experimento com tratamentos.

	Df	Sum Sq	Mean.Sq	F value	Pr(F)
Tratamentos	8	13123298.30	1640412.288	171.618776	4.192775e-34
Isolado	1	12973.92	12973.920	1.357322	2.494225e-01
Block	3	34177.78	11392.595	1.191885	3.221535e-01
Produto × Isolado	8	428398.04	53549.755	5.602338	4.190117e-05
Residuals	51	487481.78	9558.466		

CV = 27,77 %