



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

**ATIVIDADE DE NOVAS MOLÉCULAS DE TRIAZÓIS SOBRE**  
*Hemileia vastatrix*

**TATIANE PAULINO DA CRUZ**

**ALEGRE**

**2017**

**TATIANE PAULINO DA CRUZ**

**ATIVIDADE DE NOVAS MOLÉCULAS DE TRIAZÓIS SOBRE**  
*Hemileia vastatrix*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Produção Vegetal, na área de concentração de Fitossanidade.

APROVADA: 17 de Fevereiro de 2017.

---

DSc. Willian Bucker Moraes  
Examinador Interno

---

DSc. João Paulo Bestete de Oliveira  
Examinador Externo

---

DSc. Fábio Ramos Alves  
Examinador Interno

---

DSc. Waldir Cintra de Jesus Junior  
Orientador

---

DSc. Patrícia Fontes Pinheiro  
Examinador Externo ao Programa

## **Dedicatória**

À minha mãe, **Sônia Maria Botelho da Cruz** e ao meu pai, **João Batista da Cruz**.

## AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pela vida.

Aos meus pais, Sônia Maria Botelho da Cruz e João Batista da Cruz, pelo apoio, incentivo e dedicação.

A minha irmã, Taís Paulino da Cruz e demais familiares, pelo incentivo.

Ao professor DSc. Waldir Cintra de Jesus Junior, meu orientador, pelo apoio, dedicação, amizade e confiança depositada em mim.

Ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), pela oportunidade de realização do curso.

Ao [Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior](#) (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Aos professores conselheiros DSc. Willian Bucker de Moraes, pela colaboração, sugestões e esclarecimentos e amizade.

Ao Professor DSc. Vagner Tebaldi e DSc. Adilson Vidal Costa pela colaboração e sugestões.

Aos eternos Amigos: Lilian Katiany Castelo Rabello Zinger, Fernando Domingos Zinger, Leonardo Alvarez Junger, Vera Lúcia Alvarez, Rebeca Leal Marcellos, Aline Nazário.

Aos amigos que direta ou indiretamente me ajudaram Rodolfo Ferreira Mendonça, Barbara Favalessa, Athaise Ferreira, Edielen Gomes, Angelo Olveira, Larissa Cabral Milen, Mariana Fonseca, Jessely Medeiros, Nasla Tembra, Mateus Santos, Anatam da Matta obrigada pela força e amizade.

Aos demais professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e do NUDEMAFI.

Agradeço a todos que contribuíram para que este trabalho tivesse sucesso. Obrigada por poder contar com vocês, e peço desculpas aqueles cujos nomes não mencionei.

## **BIOGRAFIA**

TATIANE PAULINO DA CRUZ, filha de Sônia Maria Botelho da Cruz e João Batista da Cruz, nasceu em Caratinga - MG, em 01 de abril de 1986.

Em fevereiro de 2011 graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alegre – ES.

Em 2013 defendeu seu mestrado em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES, concentrando seus estudos na Área de Fitossanidade/Fitopatologia.

Em março de 2013 ingressou no Programa de doutorado em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES, concentrando seus estudos na Área de Fitossanidade/Fitopatologia, submetendo-se a defesa de dissertação em fevereiro de 2017.

"Ninguém vai te bater tão forte como a vida, mas não se trata de bater forte. Se trata de quanto você aguenta apanhar e seguir em frente, o quanto você é capaz de aguentar e continuar tentando. É assim que se consegue vencer (Balboa, Rock 2006)".

## RESUMO

CRUZ, Tatiane Paulino da. Universidade Federal do Espírito Santo, Fevereiro de 2017.

**Atividade de novas moléculas sobre *Hemileia vastatrix*.** Orientador: DSc. Waldir Cintra de Jesus Junior. Co-orientadores: DSc. Adilson Vidal Costa e DSc. Willian Bucker Moraes.

Em virtude do sério problema que *Hemileia vastatrix* representa para a cafeicultura, objetivou-se verificar a eficiência das novas moléculas de triazóis sintetizadas a partir do glicerol na inibição do desenvolvimento de *H. vastatrix* em cafeeiro. As sínteses das novas moléculas utilizadas foram produzidas nos Laboratório de Fitoquímicos e Síntese de Novos Compostos do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI). Foram utilizadas 17 novas moléculas com as seguintes concentrações: 0, 10, 25, 50, 75 e 100 ppm das novas moléculas a quais foram adicionadas em meio de cultura ágar-água e então depositados suspensão com  $5 \times 10^4$  urediniosporos/mL de *H. vastatrix* e posteriormente incubados por 48 horas na ausência de luz, em seguida foram contados o número de urediniosporos germinados. O ensaio in vivo foi conduzida em casa de vegetação climatizada com temperatura média de 25°C. Foram utilizadas mudas de cafeeiro conillon vitória clone 12, no ensaio preventivo e curativo as mudas foram pulverizadas com as novas moléculas nas concentrações (0, 100, 200, 300, 400 ppm), no ensaio preventivo após 24 horas da aplicação as mudas foram inoculadas com suspensão de  $5 \times 10^4$  urediniosporos/mL de *H. vastatrix*. No ensaio curativo as mudas foram inoculadas e após a severidade da doença atingir 5% as mudas foram pulverizadas com as novas moléculas, ambos foram avaliados frequência de infecção; período de incubação e latente; severidade, eficiência relativa dos produtos, trocas gasosas, teores de pigmentos fotossintetizantes, altura das plantas, tamanho de raiz, diâmetro de caule e área foliar. As novas moléculas de triazóis foram eficientes na redução do número de urediniosporos de *H. vastatrix* e na diminuição da intensidade da ferrugem. Os triazóis inéditos não afetaram as variáveis fisiológicas das plantas de cafeeiro, ou seja, não causaram fitotoxidez às plantas.

**Palavras-chave:** Triazóis; fungicidas; eficiência relativa; *Hemileia vastatrix*.

## ABSTRACT

CRUZ, Tatiane Paulino da. Universidade Federal do Espírito Santo, Fevereiro de 2017.  
**Evaluation of the activity of unreleased triazoles in the control of coffee rust.**  
Orientador: DSc. Waldir Cintra de Jesus Junior. Co-orientadores: DSc. Adilson Vidal Costa e DSc. Willian Bucker Moraes.

Due to the serious problem that *Hemileia vastatrix* represents for the coffee crop, it was aimed to verify the efficiency of the new triazoles molecules synthesized from the glycerol in inhibiting the development of *H. vastatrix* in coffee. The syntheses of the new molecules used were produced in the Laboratory of Phytochemicals and Synthesis of New Composites of the Nucleus of Scientific and Technological Development in Phytosanitary Management of Pests and Diseases (NUDEMAFI). 17 new molecules were used with the following concentrations: 0, 10, 25, 50, 75 and 100 ppm of the new molecules to which they were added in agar-water culture medium and then deposited with  $5 \times 10^4$  urediniospores / mL of *H. vastatrix* and Subsequently incubated for 48 hours in the absence of light, counted the number of germinated urediniospores. The in vivo test was conducted in a greenhouse with an average temperature of 25°C. Coffee seedlings were used conillon victory clone 12, in the preventive and curative assay the seedlings were sprayed with the new molecules in the concentrations (0, 100, 200, 300, 400 ppm), in the preventive test after 24 hours of application the seedlings Were inoculated with  $5 \times 10^4$  urediniospores / mL suspension of *H. vastatrix*. In the curative assay the seedlings were inoculated and after the disease severity reached 5% the seedlings were sprayed with the new molecules, both were evaluated frequency of infection; Incubation period and latent; Severity, relative efficiency of the products, gas exchange, photosynthetic pigment contents, plant height, root size, stem diameter and leaf area. The new triazoles molecules were efficient in reducing the number of urediniospores of *H. vastatrix* and in decreasing the intensity of the rust. The unpublished triazoles did not affect the physiological variables of the coffee plants, that is, they did not cause phytotoxicity to the plants.

**Keywords:** Triazoles; Fungicides; Relative efficiency; *Hemileia vastatrix*.

## LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Porcentagem de germinação de uredíniosporos de <i>Hemileia vastatrix</i> em meio ágar-ágar, sob diferentes concentrações das novas moléculas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.....	36
Tabela 2: Concentração inibitória de 50% (ED50) da germinação de uredíniosporos de <i>H. vastatrix</i> . CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.....	38
Tabela 3- Valores médios do período de incubação (dias) de <i>Hemileia vastatrix</i> em mudas de cafeeiro em resposta ao tratamento preventivo com diferentes concentrações ( $\mu\text{L}$ ) das moléculas inéditas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.....	43
Tabela 4 - Valores médios do período latente (dias) de <i>Hemileia vastatrix</i> em mudas de cafeeiro em resposta ao tratamento preventivo com diferentes concentrações ( $\mu\text{L}$ ) das novas moléculas de triazóis. ....	45
Tabela 5 - Valores médios de uredíniosporos de <i>Hemileia vastatrix</i> ( $10^4$ esporos/ml) por área foliar lesionada em mudas de cafeeiro em resposta ao tratamento preventivo com diferentes concentrações ( $\mu\text{L}$ ) das novas moléculas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.....	47
Tabela 6- Valores médios da severidade (%) de <i>Hemileia vastatrix</i> em resposta ao tratamento preventivo com diferentes concentrações ( $\mu\text{L}$ ) das novas moléculas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.....	49
Tabela 7- Eficiência relativa (%) de diferentes concentrações das novas moléculas de triazóis sobre <i>Hemileia vastatrix</i> em mudas de cafeeiro, quando aplicadas de forma preventiva. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.....	49
Tabela 8: Valores médios de teor de clorofila, número de folhas, diâmetro do caule, altura das mudas, área foliar, peso de matéria seca da folha, peso de matéria seca da raiz, fotossíntese líquida, condutância estomática, concentração interna de $\text{CO}_2$ , taxa de transpiração de cafeeiro produzidas em resposta ao tratamento preventivo com diferentes concentrações ( $\mu\text{L}$ ) das novas moléculas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117. ..	51



Tabela 9- Valores médios do período latente de <i>Hemileia vastatrix</i> em mudas de cafeeiro em resposta ao tratamento curativo com diferentes concentrações ( $\mu\text{L}$ ) das novas moléculas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117. ....	58
Tabela 10 - Valores médios da produção de uredíniosporos ( $10^4$ esporos/ml) por área foliar lesionada de mudas de cafeeiro em resposta ao tratamento curativo com diferentes concentrações ( $\mu\text{L}$ ) das novas moléculas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117. ..	61
Tabela 11- Valores médios da severidade (%) de <i>H. vastatrix</i> das mudas de cafeeiro em resposta ao tratamento curativo com diferentes concentrações ( $\mu\text{L}$ ) das novas moléculas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117. ....	63
Tabela 12- Eficiência relativa (%) das diferentes concentrações das novas moléculas de triazóis, aplicadas de forma curativa em mudas de cafeeiro. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117. ....	64
Tabela 13: Valores médios de teor de clorofila, número de folhas, diâmetro do caule, altura das mudas, área foliar, peso de matéria seca da folha, peso de matéria seca da raiz, fotossíntese líquida, condutância estomática, concentração interna de $\text{CO}_2$ , taxa de transpiração de cafeeiro produzidas em resposta ao tratamento curativo com diferentes concentrações ( $\mu\text{L}$ ) das novas moléculas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117. ..	66

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cascata de biossíntese do ergosterol e etapas de inibição pelos triazóis. ....	23
Figura 2- Porcentagem de esporos não germinados de <i>Hemileia vastatrix</i> em função das concentrações (0, 10, 25, 50, 75 e 100 ppm) das moléculas inéditas de triazóis. ....	41
Figura 3: Período de incubação de <i>H. vastatrix</i> em folhas de mudas de cafeeiro em resposta a diferentes concentrações dos triazóis inéditos 2, 9, 8 e 10. ....	44
Figura 4: Período latente de <i>H. vastatrix</i> em folhas de mudas de cafeeiro em resposta as diferentes concentrações dos triazóis 2, 9, 8 e 10. ....	46
Figura 5: Período latente de <i>H. vastatrix</i> em folhas de mudas de cafeeiro em resposta as diferentes concentrações dos triazóis aplicados de forma curativa. ....	60
Figura 6: Severidade causada por <i>H. vastatrix</i> mudas de cafeeiro em resposta as diferentes concentrações dos triazóis aplicados de forma curativa. ....	64

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>17</b>
2.1 A cultura do cafeeiro.....	17
2.2 <i>Hemileia vastatrix</i> .....	18
2.3 Utilização de triazóis no manejo da ferrugem e suas implicações na fisiologia da planta .....	21
2.4 Efeitos fisiológicos de triazois .....	27
<b>3. OBJETIVO</b> .....	<b>30</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>30</b>
4.2. Obtenção dos triazóis inéditos .....	31
4.3. Efeito dos triazóis inéditos sobre a germinação de uredíniosporos de <i>H. vastatrix</i> em testes em condições controladas (“ <i>in vitro</i> ”) .....	31
4.5. Ação preventiva dos triazóis inéditos no manejo de <i>H. vastatrix</i> em cafeeiro .....	32
4.6 - Ação curativa de fungicidas no manejo da ferrugem do cafeeiro .....	34
4.7.- Produção de uredíniosporos de <i>H. vastatrix</i> em folhas provenientes do ensaio de ação preventiva e curativa.....	34
4.8 Respostas fisiológicas das mudas de cafeeiro em função da aplicação dos triazóis inéditos .....	35
5.1 Germinação de uredíniosporos de <i>H. vastatrix</i> no ensaio em condições controladas (“ <i>in vitro</i> ”) .....	36
5.2. Avaliação preventiva dos triazóis inéditos .....	42
5.3. Respostas fisiológicas de plantas de cafeeiro a aplicação preventiva das moléculas inéditas de triazóis .....	51
5.4 Efeito curativo das novas moléculas de triazol.....	58
5.5 Análises fisiológicas das plantas de cafeeiro em resposta à aplicação curativa das novas moléculas de triazóis .....	66
<b>7. CONCLUSÕES</b> .....	<b>72</b>
<b>8. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>73</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A produção e exportação brasileira de café ocupam o primeiro lugar no ranking mundial, com produção de 49.152 sacas de café beneficiado e uma área de aproximadamente 2.375,79 mil hectares (INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION, 2016). O Estado de Minas Gerais ocupa o primeiro lugar, com 1.241,12 mil hectares, predominando o cultivo do café arábica, enquanto o Estado do Espírito Santo ocupa o segundo lugar, com 496,76 mil hectares, sendo 308,08 mil hectares cultivados com o café conilon e 188,68 mil com a cultura do café arábica (CONAB, 2016).

As doenças estão associadas às principais causas de redução da produção cafeeira, dentre elas a ferrugem vem sendo considerada a principal doença nas lavouras de café de todo o mundo, causando graves danos. Sua descoberta em território brasileiro foi em janeiro de 1970, pelo pesquisador Arnaldo Gomes Medeiros, no sul da Bahia. Poucos meses depois da constatação da sua presença já era possível ser encontrada em quase todos os estados (ZAMBOLIM et al., 1997).

A ferrugem do cafeeiro é causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. e é considerada a principal doença desta cultura, pertence à família Pucciniaceae, ordem Uredinales, classe Basidiomycetes. As características que distinguem o gênero *Hemileia* dos demais gêneros que possuem teliósporos unicelulares da mesma família são: hábito de esporulação através de estômatos, esporos pedicelados e reunidos em feixes e uredíniosporos reniformes, equinados dorsalmente e lisos ventralmente (KIMATI et al., 1997).

Nas lavouras, o sintoma mais característico da doença é a desfolha das plantas (abscisão), o que pode retardar o desenvolvimento e definhando as plantas, comprometendo, assim, a produção. A desfolha ocorrida antes do florescimento interfere no desenvolvimento dos botões florais e na frutificação, e se a desfolha ocorrer durante o desenvolvimento dos frutos, poderá ocorrer à formação de grãos anormais e defeituosos (ZAMBOLIM et al., 2002).

Dentre os fatores que contribuem para o ataque desse patógeno os principais são: alto potencial de inóculo, perspectiva de grande produção e condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento fungico (ALMEIDA, 1986). A colonização dos tecidos vegetais é feita através do crescimento micelial intercelular e da emissão de haustórios intracelulares.

O início do controle químico da ferrugem começou na década de 1970 quando recomendaram a utilização de fungicidas cúpricos, posteriormente com o surgimento dos

grupos dos triazóis na década de 1980 a 1990 as recomendações passaram a se basear no uso dos fungicidas via solo. Na década seguinte as tecnologias de aplicação começaram a ganhar força e esses triazóis passaram a ser utilizados via foliar. Atualmente, o manejo químico da ferrugem está baseado no uso de misturas de triazóis com o grupo químico das estrobilurinas, visto que com essa mistura poderia incluir também o controle da cercosporiose (MATIELLO e ALMEIDA, 2006).

Os fungicidas a base de triazóis atuam inibindo a síntese do ergosterol, lipídio componente da parede celular de fungos. São considerados mais eficientes por possuírem rápida penetração/translocação e também efeito residual prolongado na planta, podendo atuar como protetores, desempenhando ação tóxica sobre a formação do tubo germinativo e apressório do fungo, ou como efeito curativo, impedindo o desenvolvimento do haustório e crescimento micelial (FORCELINI, 1994).

Pesquisadores buscam intensivamente novas alternativas para o controle de doenças e têm proposto o desenvolvimento de novas moléculas de fungicidas capazes de induzir o sistema de defesa das plantas a ataque de fitopatogenos (LACROIX e MERCER, 2001; TÖFOLI et al., 2002).

Sendo assim, com a preocupação da sustentabilidade da produção agrícola surge novas vertentes para o manejo da ferrugem, sendo uma delas a produção de novas moléculas de triazóis. O surgimento destas novas moléculas de substâncias abre probabilidades na proteção de plantas, viabilizando a redução de resistências de fitopatogenos aos ingredientes ativos, visto que haverá um número maior de produtos para fazer a rotação de ingrediente ativo, aumentando o potencial de sua eficiência através do uso de misturas ou programas de aplicação.

Com o aumento do consumo de combustível e maior demanda de biodiesel para a utilização em misturas com diesel fóssil ocorre um aumento na produção de resíduos e de co-produtos, o aproveitamento desses resíduos é de extrema importância econômica e ambiental (MOTA e PESTANA, 2011). Uma grande preocupação é que o excesso de glicerol produzido, altamente poluidor, possa ser destinado de maneira incorreta no meio ambiente (COSTA, 2008). Diante do exposto, pesquisas estão sendo desenvolvidas voltadas a dar um destino correto a esse volume excedente de glicerol. Desta forma, uma aplicação promissora deste álcool seria utilizá-lo como matéria-prima para a produção de novas moléculas de triazóis.

Diante do exposto e em virtude do sério problema que *Hemileia vastatrix* representa para a cafeeicultura, objetivou-se verificar a eficiência das novas moléculas de triazóis sintetizadas a partir do glicerol na inibição do desenvolvimento de *Hemileia vastatrix* em cafeeiro.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 A cultura do cafeeiro

A produção e exportação brasileira de café ocupam o primeiro lugar no ranking mundial, com produção de 49.152 sacas de café beneficiado e uma área de aproximadamente 2.375,79 mil hectares (INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION, 2016). O cafeeiro Conilon (*Coffea canephora* Pierre ex Froenher) também conhecido como café robusta possui grande importância econômica e social, sendo a espécie mais plantada no estado do Espírito Santo e cultivada em mais de 35 mil propriedades, sobretudo por cafeeicultores que trabalham em regime familiar. O Espírito Santo destaca-se como segundo maior produtor brasileiro de café e maior produtor da espécie *C. canephora*, sendo responsável por 309, mil hectares plantados, seguido de Rondônia, com 95,7 mil hectares e da Bahia, com 39 mil hectares. (CONAB, 2016).

O cafeeiro conilon possui os ramos verticais (ortotrópicos) ou as hastes, nas quais são inseridos os ramos horizontais (plagiotrópicos) ou também chamados de ramos produtivos. O conilon se diferencia do arábica devido ao seu formato do tipo arbusto multicaula, ocorre a presença de diversas hastes verticais (FERRÃO et al., 2007). Possui crescimento contínuo, pode chegar 2 a 4 m de altura, dependendo das condições climáticas da região, e também apresenta dimorfismo de ramos. O seu caule é cilíndrico, lenho duro, branco amarelado. Os ramos ortotrópico são os ramos empregados para produção das mudas clonais, que se desenvolve verticalmente, outra função é a sustentação dos ramos plagiotrópicos ou produtivos que são ramos que se formam aos pares a partir do tronco, são dispostos de forma “oposta e cruzada”, nos são inseridas as folhas, as flores, os frutos (CARVALHO et al., 1950; RENA e MAESTRI, 1986).

O cafeeiro conilon é mais cultivado em regiões de clima quente, encontrando-se boa parte nas zonas mais baixas do estado do Espírito Santo, altitude abaixo de 400-500m, as

temperaturas médias anuais são na faixa de 22 a 26°C, a maior concentração da produção esta localizada na região norte/noroeste com aproximadamente 77% e a região sul com 11%, (MATIELLO, 1998).

Para a formação de lavouras vigorosas e altamente produtivas o primeiro passo é a produção de mudas sadias (isentas de pagas e doenças). Cafeeiro conilon é propagado em larga escala assexuadamente devido a grande variabilidade genética da propagação por sementes, pois assim garante a transmissão de características genéticas desejáveis da planta mãe, além de elevar o nível de produtividade dos cafezais, tem-se uma maior uniformidade das plantas e da maturação dos grãos, permite ainda escalonar a colheita, melhora o tamanho e a qualidade dos grãos e ainda admite a produção de mudas em qualquer época do ano (PAULINO et al. 1985).

## **2.2 *Hemileia vastatrix***

A ferrugem do cafeeiro é causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. e é considerada a principal doença desta cultura em todo o mundo, pertence à família Pucciniaceae, ordem Uredinales, classe Basidiomycetes. As características que distinguem o gênero *Hemileia* dos demais gêneros que possuem teliósporos unicelulares da mesma família são: hábito de esporulação através de estômatos, esporos pedicelados e reunidos em feixes e uredíniosporos reniformes, equinados dorsalmente e lisos ventralmente (KIMATI et al., 1997).

A disseminação dos uredíniosporos ocorre através da ação do vento, gotas de chuva, por meio de escoamento de água das margens do limbo para a superfície inferior, pelo homem, durante o processo de tratamentos culturais, também pode ocorrer por insetos e outros animais que entrem em contato com as plantas infectadas. Dentre todos os mecanismos de disseminação a água é considerada como o mais eficiente a curta distância, o impacto de uma gota, caindo numa lesão, consegue liberar imediatamente os esporos, inclusive desmanchando os aglomerados. Já a disseminação a longa distância é realizada principalmente pelo homem e pelo vento (KIMATI et al., 1997).

Após serem disseminados, os uredíniosporos que caírem na face abaxial das folhas germinarão em um período de aproximadamente 3 a 6 horas em condições de muita umidade ou água livre e temperatura entre 21 e 25°C, na ausência de luz. A germinação pode começar em um ou vários poros germinativos simultaneamente, mas geralmente só um tubo

germinativo segue o processo de infecção. Os tubos germinativos ramificam-se e formam apressórios próximos ao estômato. Em seguida, a hifa de infecção penetra na cavidade subestomatal e o processo de colonização intracelular tem início com os haustórios, que são os órgãos de nutrição do patógeno. Dentro do período de incubação, o micélio do fungo segue crescendo nos espaços intercelulares, dentro da folha, sem que se manifestem sintomas visíveis (KIMATI et al., 1997).

O poder germinativo dos uredíniosporos é variável, quando eles se encontram nas lesões sobre as folhas podem ter normalmente um poder germinativo de 30 a 50% e, nessas condições, podem permanecer viáveis durante tempo variável, até 3 meses em período seco. Entretanto, uma vez retirados das lesões, perdem rapidamente seu poder germinativo, que pode cair a 5%, depois de 5 dias, e a 1%, depois de 20 dias. As fases de germinação e penetração são demoradas, podendo prolongar-se por dois a três dias, na dependência das condições de ambiente. Os sintomas iniciais surgem 7 a 15 dias após a penetração, variando em função da temperatura, suscetibilidade da planta e idade do órgão afetado. A esporulação na face inferior da folhas inicia-se uma semana mais tarde. Precedendo a esporulação, há formação de um aglomerado de hifas na câmara subestomática, seguindo-se a produção de vários pedicelos que saem pelos estômatos. Nas extremidades desses pedicelos são formados os uredíniosporos, que permanecem aglomerados (KIMATI et al., 1997).

A sintomatologia da ferrugem começa a aparecer nas folhas na forma de pústulas, de coloração alaranjada e na face abaxial da folha; essas pústulas são formadas pelos uredíniosporos do fungo. Na face adaxial das folhas surgem manchas cloróticas com o mesmo formato que as pústulas (KIMATI et al., 1997).

Nas lavouras, o sintoma mais característico é a desfolha das plantas (abscisão), o que pode retardar o desenvolvimento e definhar as plantas, comprometendo, assim, a produção. A desfolha ocorrida antes do florescimento interfere no desenvolvimento dos botões florais e na frutificação, e se a desfolha ocorrer durante o desenvolvimento dos frutos, poderá ocorrer à formação de grãos anormais e defeituosos (ZAMBOLIM et al., 2002).

Os danos na produção do cafeeiro devido a presença da ferrugem podem chegar na ordem de 15-20% no campo (FERREIRA e BOLEY, 1991; BROWN et al., 1995). O limiar de dano econômico para a ferrugem do café é estimado em 5% de folhas infectadas, três meses após o florescimento (SIERRA et al., 1995). A severidade da ferrugem e os prejuízos ocasionados na produção do cafeeiro, de modo geral, variam de região para região e de ano



para ano, em decorrência da carga pendente dos cafeeiros e das condições climáticas prevalentes (POZZA, 2004).

Segundo Moraes (1983), a *H. vastatrix* gasta uma média de 33 dias para iniciar o processo de esporulação e uma média de 40 dias para o desenvolvimento de 50% das pústulas, e também produz de uma média de 100 a 200.000 uredíniosporos em cada uma das lesões. A disseminação desses uredíniosporos é principalmente através do vento (GALLI e CARVALHO, 1980, GODOY et al., 1997). Além disso, os uredíniosporos têm mecanismos que auxiliam para prolongar sua viabilidade durante os períodos desfavoráveis à sua germinação, o que é favorável a uma epidemia, dificultando o controle devido ao grande acúmulo de fonte de inóculo (ALMEIDA, 1986).

O ciclo de vida de *H. vastatrix* é semelhante aos das demais ferrugens, a germinação dos uredíniosporos e o estabelecimento da infecção do hospedeiro ocorrem em média 5 horas após a sua deposição no tecido com temperatura de 21 a 29°C, na presença de água livre (MABBETT, 1998). Para diferenciar a *H. vastatrix* das demais ferrugens é simples os uredíniosporos não possuem substância de adesão em sua epiderme e o seu tubo germinativo é mais longo quando comparado com os outros fungos causadores de ferrugens (COUTINHO et al., 1993).

De acordo com os dados da literatura as lesões alaranjadas encontradas nas folhas do cafeeiro representa o estágio assexuado do fungo, onde uredínias são produzidas através aberturas dos estômatos, formando massas pulverulentas de esporos assexuados urediniósporos, que funcionam como estruturas de dispersão e infecção. Ocasionalmente, esporos da fase sexuada com paredes finas e lisas (teliósporos) são formados nestas lesões e germinam produzindo propágulos de outro tipo (basidiósporos). Os basidiósporos não tiveram até hoje sua infectividade demonstrada para o cafeeiro e nem foi, até então, descoberto um hospedeiro alternativo, suscetível para este tipo de propágulo, como ocorre para as ferrugens ditas heteróicas. O papel do estágio sexuada no ciclo de vida de *H. vastatrix* permanece, portanto, desconhecido (WARD, 1882; AGRIOS, 2005).

Dentre os fatores que contribuem para o ataque desse patógeno os principais são: alto potencial de inóculo, perspectiva de grande produção e condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento fungico (ALMEIDA, 1986). A colonização dos tecidos vegetais é feita através do crescimento micelial intercelular e da emissão de haustórios intracelulares.

Figueiredo et al. (1974), ao analisar a flutuação populacional da ferrugem do cafeeiro no Estado de São Paulo, distinguiram que existe três fases distintas do ciclo da doença. De

acordo com esses autores a primeira fase corresponde o período da colheita a meados de novembro, nessa época ocorre uma redução do índice de infecção, combinando com o período mais seco do ano e época de repouso vegetativo das plantas de cafeeiro, além de intensa desfolha dessas plantas; a segunda fase do ciclo compreende de novembro a março, nesse período começa a ocorrer o aumento do índice de infecção da doença, época essa que se caracteriza pelo aumento do índice pluviométrico, temperatura começa a ficar mais altas e começa a ocorrer também a recuperação da lavoura; a terceira fase que começa a partir de março a infecção aumenta significativa até atingir seu máximo, a chuvas nesse período começa a reduzir assim como a temperatura também começa a ter uma leve queda e o potencial de inóculo nessa fase é considerado como muito elevado.

De acordo com Capucho (2011), os meses que existe maior favorabilidade à infecção da ferrugem no estado do Espírito Santo compreendem no período de maio a outubro, pois nesse período coincidem com inverno quando as temperatura ficam mais amenas (20-24°C) e com pouca chuva (<50 mm), favorecendo o desenvolvimento da doença e o aumento da sua intensidade.

Os estudos demonstraram que o desenvolvimento da doença era máximo no final do período chuvoso e que, para ocorrer infecção, as folhas deveriam permanecer molhadas por pelo menos 48 horas (VENTURA et al., 2007). Segundo Zambolin (2002), a germinação de uredíniosporos da ferrugem é mais frequente em folhas novas do que em folhas velhas e mais acentuadas nas margens do que próximos à nervura principal.

### **2.3 Utilização de triazóis no manejo da ferrugem e suas implicações na fisiologia da planta**

Dentro da classe dos fungicidas sistêmicos, o grupo químico dos triazóis foi lançado no mercado após 1976 e vêm demonstrando elevada eficiência na redução do inóculo inicial, promovendo o atraso do início das pulverizações e a redução de seu número, quando aplicados por meio de pulverizações ou via sistema radicular (SILVA-ACUNÃ et al., 1993).

Os triazóis são compostos heterocíclicos orgânicos e são obtidos através de fontes naturais ou sintéticas, essas moléculas são absorvidas e translocadas de forma acropetal, seu composto difere um do outro através da adição de radicais químicos diferentes a molécula básica de 1,2,4-triazol, de acordo com esses radicais eles podem ser classificados quimicamente como: a) triazóis com radicais ceto seria o triadimefol; b) triazóis com radicais

cetal sendo os propiconazole e etaconazole; c) triazóis com radicais hidroxí nesse grupo encontra-se o triadimenol, bitertanol e diclobutrazole; d) triazóis sem outros grupos funcionais como o fluotrimazol (KRAMER, 1986; EICHER; HAUPTMANN, 2003). Muitos destes compostos são utilizados mundialmente pelas suas atividades farmacológicas diversificadas, tais como: antiviral, antitumoral, antifúngica, anti-inflamatória, analgésica antiprotozoária e antimicrobiana (BARREIRO; FRAGA, 2001).

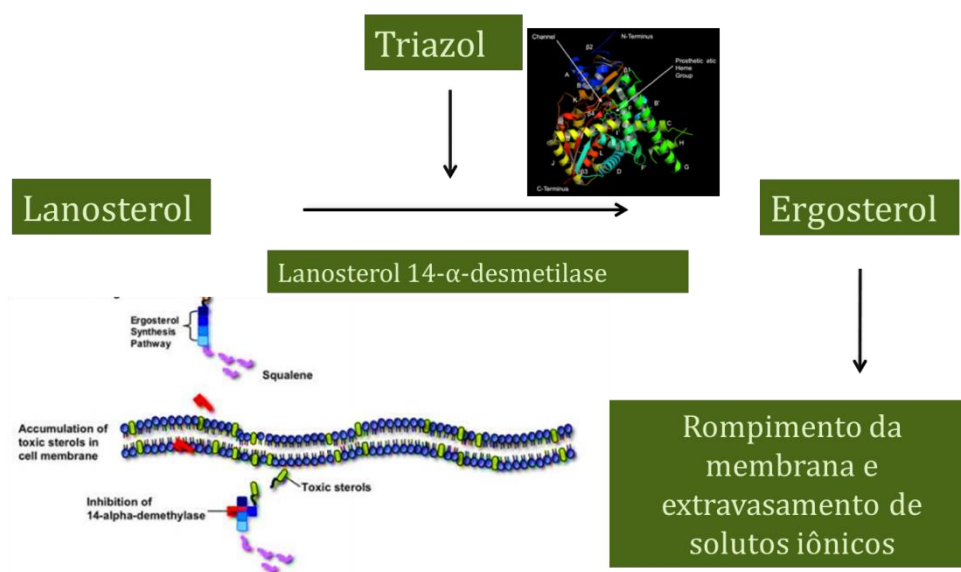
Segundo Rodrigues (2006), os fungicidas do grupo triazóis é usado para controle de doenças dos seguintes grupos: Doenças do Grupo I (podridões em órgãos de reserva), Grupo II (danos em plântulas), Grupo III (podridão de raízes), Grupo V (ferrugem, oídio; manchas foliares) e do Grupo VI (carvões).

Os fungicidas pertencentes ao grupo químico dos triazóis são considerados como o maior e mais importantes grupo de compostos desenvolvidos para o manejo de doenças fungicas de plantas e animais é os mais modernos fungicidas sistêmicos o que potencializa sua ação, possui um amplo espectro de ação (AMORIM et al., 2011). Segundo Castro (2009) os fungicidas da classe dos triazóis são compostos modernos com um amplo espectro de uso e de menor persistência no meio ambiente, com meia-vida e bioacumulação menores que fungicidas anteriores a eles, eles agem de forma curativa bloqueando o desenvolvimento fungico e impedimento o aumento do progresso da doença.

Os triazóis são classificados como inibidores da síntese de esterol (SBI: “sterol biosynthesis inhibitors”). Os esteróis são componentes que auxiliam na integridade da membrana celular fungica, os lipídios são componentes estruturais juntamente com as proteínas, nos fungos o principal lipídeo da membrana é o ergosterol, cujo seu precursor é o lanosterol e sua síntese é conseguida através da ação catalítica da acetil-CoA, essa rota metabólica ocorre nos fungos superiores (Ascomycetos, Basidiomycetes e Fungos mitospóricos) e é ausentes na classe de fungos dos Oomycetes que suprem a sua necessidade diretamente do substrato através da absorção pelas hifas, outro fator importante dessa classe de fungicidas é que eles não inibem a germinação de esporos, visto que esse fato pode ocorrer na ausência de biossíntese do ergosterol, utilizando somente o produto armazenado, eles são absorvidos e translocados pela planta de forma acropetal (FORCELINI, 1994; ZAMBOLIM et al., 2007).

Os fungicidas inibidores da biossíntese de esterol podem ser divididas em inibidores do C-14 e os inibidores de D<sup>8,7</sup> isomerase e D<sup>14</sup> redutase. Nos fungos os triazóis atuam inibindo a síntese de ergosterol, através da demetilação do C14 da enzima C14-demethylase, a qual é

membro da família da heme-proteínas citocromo P450 e participa da conversão do lanosterol (e sua síntese é realizada através da ação catalítica da acetil-CoA) em ergosterol figura 7, o qual que desempenha um papel importante na constituição da membrana celular, sem esse lipídeo a membrana torna-se menos fluída e resulta no rompimento e extravasamento do conteúdo celular e conseqüentemente leva ao colapso da célula fúngica (micélio) e à interrupção do crescimento micelial (corpo fúngico) (GOULART, 1995; ZAMBOLIM et al., 2007; GOETZ et al., 2007). Quando as células fúngicas entram em contato com os triazóis, ocorre o acúmulo de esteróis como o 4,4-dimetil e o 4 $\alpha$ -metil, ambos com radical 1,4  $\alpha$ -metil, desencadeando a inativação do processo da demetilação do lansoterol composto este intermediários para produção do ergosterol. Este fato deve-se a ocupação pelo fungicida de sítios ativos figura 4 destinados a ligação da enzima 1,4  $\alpha$ -metilase ao citocromo P-450, catalisador da reação de oxidação de 1,4  $\alpha$ -metil até 1,4  $\alpha$ -hidroximetil, primeiro passo no processo de demetilação (GADHER et al., 1983; ZAMBOLIM et al., 2007).



**Figura 1** - Cascata de biossíntese do ergosterol e etapas de inibição pelos triazóis.

**Fonte:** Apatado da Syngenta

Segundo Zambolim et al. (2007) os esteróis formados que são formados em fungos causadores de ferrugem ocorre a demetilação do C-14 que é catalisada pelo citocromo P450 (enzima esterol-C-14 demetilase), os triazóis inibem esse citocromo impedindo que ocorra a demetilação do C-14, o processo de biossíntese de esteróis continua, porém em vez de formar o ergosterol e outros esteróis demetilados, ocorre a formação de compostos metilados, esses compostos formados executam algumas funções na constituição da

membrana, mais não conseguem executar funções específicas o que acaba levando ao desequilíbrio entre os lipídeos das membranas, com a inibição de fosfolipídios e acúmulo de ácidos graxos livres, que podem chegar a ser tóxicos para os fungos, levando à morte do fungo.

De acordo com o trabalho realizado Kato (1986) doses elevadas de triazóis promovem danos diretos na membrana, além também de ocasionar alterações morfológicas identificadas como inchamento de células, vacuolização excessiva, septação incompleta, surgimento de vesículas entre a membrana e a parede celular, além também de formação de inclusões membranosas.

Esse processo de desmetilação conduz a um acúmulo de 14- $\alpha$ -metilesteróis, o que causa desagregação do arranjo compacto das cadeias acílicas dos fosfolipídeos de membranas fator esse que é prejudicial às funções de determinados sistemas enzimáticos que estão acoplados à membrana, como a ATPase e enzimas da cadeia de transporte de elétrons, inibindo dessa forma o desenvolvimento dos fungos (GOODMAN e GILMAN, 1999).

São considerados mais eficientes por possuir rápida penetração/translocação e também efeito residual prolongado na planta, eles podem atuar como protetores, desempenhando ação tóxica sobre a formação do tubo germinativo e apressório do fungo, ou como efeito curativo, impedindo o desenvolvimento do haustório e crescimento micelial (FORCELINI, 1994; FORCELINI et al., 2001; ZAMBOLIM et al., 2007).

De acordo com a base de dados on-line Agrofit (2015), pertencente ao Ministério da Agricultura, estão cadastrados para uso em território brasileiro 18 princípios ativos: bitertanol; bromuconazole; cyproconazole; difenoconazole; epoxiconazole; fluquinconazole; flutriafol; hexaconazole; imibenconazole; ipconazole; metconazole; myclobutanil; propiconazole; tebuconazole; tetraconazole; triadimefon; triadimenol; triticonazole.

A partir da década de 80 houve um grande avanço no controle da ferrugem, com o desenvolvimento da técnica de aplicação de fungicidas via solo, no início da estação chuvosa (ZAMBOLIM et al., 1987).

Segundo Zambolim et al. (1997), se a porcentagem de infecção estiver abaixo de 5% de folhas com pústulas esporulando, recomenda-se aplicar fungicida de contato a base de cobre no controle da doença. Se o índice de infecção estiver entre 5 e 12%, recomenda-se a fazer aplicação de fungicidas sistêmicos. Acima deste valor, a eficácia dos produtos no controle da doença pode apresentar comportamento variável.

Um problema enfrentado é que muitos produtores ignoram essa recomendação e optam por realizar as aplicações quando o índice de infecção está mais elevado que o recomendado, visando o controle curativo da doença. Essa tática pode ter alguma vantagem do ponto de vista econômico, visto que em certos casos, ocorre redução do número de aplicações devido ao efeito curativo dos fungicidas sistêmicos (MENDONÇA et al., 1999). Porém, não é uma tarefa fácil determinar o momento exato da aplicação devido à rápida evolução da doença, que em condições favoráveis pode fugir ao controle e causar danos severos à lavoura (MANSK e MATIELLO, 1992).

Diante do prejuízo econômico causado pela ferrugem do cafeeiro alguns trabalhos foram conduzidos visando avaliar o seu controle. O primeiro estudo realizado para testar a eficiência dos fungicidas sistêmicos no controle da ferrugem via solo foram desenvolvidos Matiello e Mansk em 1979, nesse trabalho ficou comprovado bons resultados no controle da ferrugem com triadimefon, promovendo a inibição do desenvolvimento das lesões e destruindo os uredíniosporos produzidos nas lesões adultas. Observaram ainda, que o triadimefon tinha maior efetividade aos 60 dias após a aplicação, demonstrando a necessidade de um maior período para que ocorra a absorção e translocação do fungicida. Fazendo comparação da forma de aplicação os triazóis triadimefon e triadimenol têm se destacado e aumentado sua eficiência quando aplicados via solo que as aplicações foliares (SANTINI, 1989).

Mansk e Matiello (1992) relataram ação positiva de fungicidas sistêmicos do grupo dos triazóis no controle da ferrugem, quando aplicados sobre plantas com índices de infecção superiores a 15%. Miguel et al. (1981) fizeram uma aplicação de 125 g de triadimefon para 1000 pés de café no mês de janeiro, em lavouras onde a doença era muito severa e observaram que foi possível obter um controle eficiente da ferrugem com apenas uma aplicação, eles também analisaram que quando o índice da infecção de ferrugem era de 20% apenas duas pulverizações foram suficientes para conter a doença. Silva-Acuña et al. (1992) ao investigarem o efeito de triadimefon, verificaram menores valores da área abaixo da curva de progresso da ferrugem quando o fungicida foi aplicado por via foliar com até 8% de incidência da ferrugem, se aplicado em parcelas com graus de ferrugem superior a 12% ocorre queda de folhas nas plantas devido à doença.

Na pesquisa desenvolvida por Souza (1991), mudas de cafeeiro em vasos (1,5 L de capacidade), foi testado a aplicação de 0,06, 0,12, 0,18 g de triadimenol aos 15 dias da inoculação das mudas com solução de uredíniosporos de *H. vastatrix* e essas

concentração demonstraram bom resultado para reduzir o desenvolvimento da doença. Silva et al. (1993) observaram que o melhor controle da ferrugem foi obtido quando se aplicava triadimenol na formulação granulada a 1%, na dosagem de 50 g/cova, já na formulação de concentrado emulsionável a melhor seria de 1 L/há, comparando a aplicação do fungicidas o aumento da produção em relação a testemunha foi 250%.

Matiello et al. (1993), que ao testar os fungicidas triadimenol, na dose de 0,90 g mudas-1 e triadimenol + dissulfoton na dose de 0,5 g mudas-1, aplicados via solo na sua formulação granulada, constataram que essas doses proporcionaram reduções na altura e na massa de matéria seca de mudas de café.

Teste com vários fungicidas comercial foi realizado por Marques et al. (1998), os fungicidas foram aplicados via foliar, em diferentes doses, de forma preventiva no controle da ferrugem do cafeeiro, os tratamentos foram A) Alto 100 (0,4 e 0,5 L/ha), B) Taspas (0,3 e 0,4 L/ha), C) Tilt (0,75 L/ha), D) Alto 100 + Score (0,2+0,3 L/ha), E) Oxido cuproso (3,0 Kg/ha), eles concluíram os fungicidas nas doses testadas, foram eficientes no controle da ferrugem.

Londoño et al. (1995) e Rivillas et al. (2005), demonstraram eficiência no controle da ferrugem do cafeeiro na Colômbia, através da utilização de a moléculas de ciproconazol, propiconazol, hexaconazol, triadimefon e a combinação de moléculas ciproconazol + azoxistrobina e ciproconazol thiamethoxan, ainda foram observado que a aplicação desses produtos promoveram uma aumento na produção o que justifica a utilização desses produtos.

A utilização de fungicidas triazóis via solo no controle da ferrugem além de controlar o patógeno foi observado também um aumento no vigor dos cafezais, principalmente onde era usado o fungicida triadimenol, que de acordo com Matiello et al (1997), é capaz de aumentar significativamente o sistema radicular do cafeeiro proporcionando maior capacidade de absorção de nutrientes e conseqüentemente aumento de vigor, mesmo na ausência da ferrugem.

Rozo-Peña e Cristancho (2010) observaram que as moléculas de propiconazole e ciproconazole aplicados preventivamente no cafeeiro proporcionou uma inibição de 100% da esporulação de *H. vastatrix*, na avaliação do efeito curativo os produtos testados também demonstraram eficiência sendo que índice de infecção na testemunha (aplicação somente de água) foi de 0,81, enquanto que para as plantas tratadas o índice foi de 0,38.

No trabalho realizado por Capucho et al. (2013), foram avaliados diferentes produtos comerciais no controle da ferrugem no café conillon, dentro desse grupo de fungicidas havia

os triazóis isolados e eles misturados com outros grupos químicos. Entre os produtos químicos avaliados o ciproconazole e o flutriafol foram os ingredientes mais eficazes para o controle da ferrugem, ele associa a eficiência devido à capacidade de translocação desses compostos uma vez que eles foram aplicados via solo, enquanto outros produtos foram aplicados via folha.

O ciproconazole está listado entre os principais triazóis utilizados para o controle da ferrugem do cafeeiro em condições de campo, porém ele também está associado com axozistrobina para o controle simultâneo da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro. Outra mistura bastante utilizada é a de epoxiconazol + piraclostrobina também recomendada para o controle simultâneo da ferrugem e da cercosporiose (MATIELLO e ALMEIDA, 2006).

## 2.4 Efeitos fisiológicos de triazois

A fotossíntese é um processo essencial para o desenvolvimento das plantas, pois é por meio dela que acontece a ligação entre o ambiente externo e interno da planta. De acordo com a literatura o cafeeiro possui baixos valores das taxas fotossintéticas (ARAÚJO et al., 2008; DaMATTA et al., 2008), os valores mais elevados registrados estão entre de 7 a 12  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , entretanto, os valores mais frequentes estão em torno de 4 - 5  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (DaMATTA et al., 2007), esses valores demonstram que ao comparar o café arábica e o café Conilon com a maioria das plantas lenhosas sua eficiência fotossintética é relativamente baixa (CANNELL, 1985).

Os resultados da Taxa Fotossintética Líquida (A), da Condutância Estomática (gs), da Transpiração (E) obtidos nas plantas Controle de café Conilon no período da manhã, variaram de 3,87 a 8,31  $\mu\text{mol.m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$  para A; de 5,53 a 14,53  $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para E. Os valores de A, observados para o café Conilon podem ser considerados elevados, pois, segundo DaMatta (1997), as taxas fotossintéticas obtidas em cafeeiro Conilon cultivados no período de inverno e do verão, foram iguais a 2,8 e 4,9  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$ , respectivamente.

Para muitas espécies cultivadas em estufas, sob condições ótimas de nutrientes e água, ocorre um aumento na produtividade devido a uma maior concentração do dióxido de carbono em relação aos níveis atmosféricos naturais (TAIZ e ZEIGER, 2013). Plantas C<sub>3</sub>, como o café, têm o ponto de compensação do  $\text{CO}_2$  mais elevado, indicador de maior capacidade de se beneficiar dos aumentos atuais nas concentrações do  $\text{CO}_2$  na atmosfera



(LARCHER, 2013). Plantas podem respirar mais de 50% da produtividade fotossintética diária, e muitos fatores podem afetar a taxa respiratória, como a natureza e a idade do tecido vegetal, assim como fatores ambientais, como a luz, a concentração de oxigênio, a temperatura e a concentração de CO<sub>2</sub> (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Pesquisas dos efeitos fisiológicos causados por fungicidas que afetam ferrugens não são frequentes. A literatura relata alguns efeitos da utilização de compostos triazólicos em cafeeiro saudável, essas moléculas promovem um crescimento nas concentrações de clorofila e carotenóides em mudas de arroz (GUIRONG et al., 1995) e quiabo (SUJATHA et al., 1999). O triazol triadimefon proporcionou um aumento a concentração de clorofila em plantas de tomateiro (BUCHENAUER e ROHNER, 1981), rabanete (MUTHUKUMARASAMY e PANNEERSELVAM, 1997), feijão caupi (GOPI et al., 1999) e folhas de trigo (GAO et al., 1988). As moléculas de triazol conseguem aumentar o nível de citocinina que por sua vez aceleram a diferenciação dos cloroplastos e estimulam a biossíntese de clorofila (JALEEL et al., 2008).

Os estudos do efeito que os fungicidas da classe dos triazóis causa a bioquímica e fisiologia das plantas ainda são bem escassos comparados aos estudos com os fungicidas da classe das estrobirulinas. Alguns autores ao estudar o efeito dos triazóis nas plantas em teste *in vitro* e em mudas colocadas em casa de vegetação, relatam que as moléculas do grupo triazóis, conseguem atuar nas rotas de regulação do crescimento e da maturação das plantas, os triazóis promovem a inibição da atividade da enzima sintase ACC (ácido 1-aminocloropropano-1-carboxílico) na qual tem a função de converter o ACC em etileno, ele provoca desbalanço do ácido giberélico, promovendo a inibição da sua biossíntese, interfere também no ácido abscísico e citocininas (RADEMACHER, 2000; HAJIHASHEMI et al., 2007; SANKAR et al., 2014).

Berova e Zlatev (2000), ao estudar o efeito dos triazóis em plantas de tomateiro observaram que essas moléculas promoveram uma antecipação e maior uniformidade da maturação dos frutos, correu redução na altura das plantas e espessamento do caule, após a aplicação do triazol paclobutrazol. Outro estudo feito por Fletcher et al. (2000), demonstraram que os compostos triazólicos conseguiam retardar a senescência das plantas e frutos, o que indica que fungicida afeta a biossíntese de etileno ou de citocinina.

Pesquisas realizadas por Rodrigues et al. (1998) comprovaram que as moléculas de triazóis ao induzir a biossíntese de citocinina, as plantas apresentaram folhas com uma coloração verde escura e também aumentaram a concentração de clorofilas, acarretando uma

melhor atividade metabólica e enzimática, que por consequência levaria em aumento da produtividade. A clorofila é um pigmento presente na planta de grande importância, pois tem a função de converter a radiação luminosa em energia química, na qual é disposta na forma de ATP e NADPH, este pigmento ainda está relacionada com a eficiência fotossintética das plantas (STREIT et al. 2005).

De acordo com Matiello et al. (1997), o uso de fungicidas triazóis como o triadimenol aplicados via solo para o controle da ferrugem, promove um acréscimo no vigor dos cafezais, de acordo com os autores o fungicida possui a capacidade de aumentar significativamente o tamanho do sistema radicular do cafeeiro e por consequência ocorre uma maior absorção de nutrientes, o que acarreta em um melhor desenvolvimento da parte aérea e aumento de vigor.

Estudos realizados por Pan et al. (2013) com plantas de arroz demonstraram que ocorreu um aumento na produtividade de grãos de duas cultivares mediante a aplicação de paclobutrizol, os autores atribuíram esse incremento a maior atividade enzimática das plantas.

A ferrugem do cafeeiro é uma doença que reduz significativamente a capacidade das folhas de fixar CO<sub>2</sub> que é um composto necessário para a formação de açúcares, na qual será uma molécula muito requerida na fase reprodutiva das plantas (RIBOU et al., 2013).

A infecção por agentes patogênicos em plantas como a ferrugem pode afetar a taxa de fotossíntese e o metabolismo de carboidratos, quando a ferrugem coloniza os tecidos do cafeeiro ocorre danos severos no Fotossistema II (PSII), o qual é responsável pela produção de ATP e NADPH que são usados no processo de fixação de CO<sub>2</sub>, biossíntese de carboidratos e ácidos nucleicos, uma vez que essa rota é interrompida todos esses compostos terão sua produção reduzida e com isso ocorre também um menor desenvolvimento da planta (VOEGELE et al., 2009, MAJOR et al., 2010). De acordo com Capucho et al. (2011), em plantas de cafeeiro conilon a queda das folhas ocorre normalmente quando a severidade da doença é aproximadamente de 40%, valor esse que difere para o cafeeiro arábica que tem capacidade de suportar severidades de até 80% sem que ocorra a desfolha.

Honorato Junior et al. (2015), ao avaliarem a variável Fv/Fm (Rendimento quântico máximo do fotossistema II) obtida através da imagem da fluorescência da clorofila a, observaram que a colonização dos tecidos pela ferrugem afetou a capacidade fotossintética de *Coffea arabica* mesmo antes do aparecimento de sintomas visuais. Neste mesmo trabalho também foi analisado o efeito dos fungicidas epoxiconazol (triazol) e piraclostrobina (estrobilurina) nas pústulas das ferrugens, os resultados encontrados demonstraram que as

pústulas em folhas pulverizadas com epoxiconazol foram menores que as do tratamento controle mas, maiores do que as tratadas com piraclostrobina, porém os valores do parâmetro Fv/Fm no epicentro das pústulas foram menores do que os do tratamento controle.

### **3. OBJETIVO**

Objetivou estudar o potencial dos novos triazóis no manejo da ferrugem do cafeeiro conilon nas diferentes fases do ciclo das relações patógeno x hospedeiro.

#### **3.1 Objetivos específicos**

- 1) Avaliar em condições de experimento “in vitro”, a ação dos triazóis inéditos na germinação de uredíniosporos de *H. vastatrix*.
- 2) Estudar a ação preventiva, residual, curativa e antiesporulante das novas moléculas de triazóis em condições de laboratório e casa de vegetação.

### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário (NUDEMAFI) e no Laboratório de Meteorologia e Ecofisiologia Florestal, ambos pertencentes ao Centro de Ciências Agrárias e das Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE/UFES), localizados respectivamente em Alegre e Jerônimo Monteiro, ES.

#### **4.1. Obtenção dos isolados de *Hemileia vastatrix***

Os uredíniosporos foram coletados em lavouras de cafeeiro conilon naturalmente infectadas pelo fungo *H. vastatrix*. A coleta foi realizada destacando-se as folhas esporuladas, as quais foram levadas para o laboratório para retiradas dos uredíniosporos, com auxílio de um pincel de cerdas macias. Foram realizadas as raspagem das pústulas

esporuladas em placa de Petri, e os esporos recolhidos foram acondicionados em tubo de falcon de 15 mL.

#### **4.2. Obtenção dos triazóis inéditos**

As sínteses dos compostos utilizados foram realizadas nos Laboratórios de Fitoquímicos e Síntese de Novos Compostos do NUDEMAFI do CCAE-UFES, situados em Alegre, ES.

Os triazóis foram obtidos através da utilização da “reação de Click”, por meio de transformações de grupos funcionais do material de partida, o glicerol.

#### **4.3. Efeito dos triazóis inéditos sobre a germinação de uredíniosporos de *H. vastatrix* em testes em condições controladas (“*in vitro*”)**

Para a avaliação do efeito dos triazóis sobre a germinação de uredíniosporos, foram obtidas soluções-estoque (10.000 ppm em DMSO) de cada um dos 17 triazóis inéditos e feitas diluições em água destilada esterilizada até atingir as concentrações de 0, 10, 25, 50, 75 e 100 ppm.

Para verificar a inibição da germinação de uredíniosporos de *H. vastatrix* a metodologia foi ajustada segundo Capucho et al. (2012) e Pierozzi (2013). Foram preparadas placas de poliestireno (Placa de Petri – 90 x 15 mm) com meio de cultura ágar-água e placas contendo meio de cultura ágar-agua e triazol. Posteriormente foram feitos discos de 5mm de diâmetro do meio de cultura ágar-água e triazol que foram depositados nas placas contendo o meio de cultura ágar-agua. Em seguida foram depositados 20µl da suspensão com  $5 \times 10^4$  uredíniosporos/mL de *H. vastatrix* em cada um desses discos. Após esse procedimento as placas foram devidamente vedadas com Parafilm® e levadas para estufa do tipo BOD onde foram mantidas a temperatura de 22°C, 48 horas na ausência de luz. Após 48 horas foi realizada a contagem dos uredíniosporos germinados.

Para a contagem da germinação cada disco do meio de cultura ágar-água-triazol foi retirado da placa, colocado em uma lâmina e a estas foi depositada uma gota de lacto glicerol, para paralisar a germinação, em seguida foi colocada uma lamínula sobre a gota de lacto glicerol. As lâminas foram levadas ao microscópio óptico onde foi realizada a contagem dos uredíniosporos germinados. Como esporo germinado foi considerado aquele que

apresentasse tubo germinativo de comprimento igual ou maior ao comprimento do urediniosporo. A partir dos dados, foi estabelecido o percentual de urediniosporos germinados por repetição, em cada um dos tratamentos.

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 17 x 6 + 1 (dezessete fungicidas, 6 concentrações e uma testemunha adicional), com cinco repetições. Os fungicidas testados foram chamados de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 e 17. Os dados foram submetidos a análise de variância e o efeito das diferentes concentrações na inibição da germinação dos urediniosporos foram submetidos a análise de regressão e ao teste de Scott Knott. Todas as análises foram feitas com auxílio do programa estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011).

#### **4.5. Ação preventiva dos triazóis inéditos no manejo de *H. vastatrix* em cafeeiro**

O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação com mudas do clone 12 (CV12) da variedade clonal ‘Conilon Vitória’, conforme metodologia adaptada de Pierozzi (2013). Mudas do respectivo clone foram transplantadas para sacolas com capacidade de 3 litros, contendo substrato composto pela mistura de terra de barranco peneirada, areia e esterco na proporção de 3:1:1. A partir da emissão de novas folhas as mudas foram pulverizadas com os diferentes triazóis, correspondentes aos respectivos tratamentos. A pulverização das mudas foi realizada utilizando-se borrifadores manuais e para a comprovação da uniformidade de cobertura das gotas foi realizado o teste com papel hidrossensível de acordo com as instruções do fabricante. As tiras de papel hidrossensíveis comerciais são semirrígidas e com uma camada do indicador azul de bromofenol de cor amarela que se torna azul ao entrar em contato com a água devido a elevação do pH acima de 4,6 (NASCIMENTO et al., 2013).

Após 24 horas da pulverização todas as mudas foram inoculadas com uma suspensão de  $5 \times 10^4$  urediniosporos de *H. vastatrix*/mL. O inóculo utilizado neste estudo foi obtido a partir de folhas de cafeeiro infectadas naturalmente como descrito no item 3.1. A inoculação foi realizada com auxílio de um borrifador, de modo que a suspensão fosse aspergida sobre as folhas, em ambas as faces, até próximo ao ponto de escorrimento. Após a inoculação as mudas foram cobertas com saco plástico escuro para manter a umidade elevada e então levadas para uma câmara do tipo *Phytotron* à temperatura de  $22 \pm 1,1$  °C e umidade relativa

de  $84,5 \pm 3\%$ , após decorrer um período de 48 horas no escuro, as mudas foram retiradas do *Phytotron* e levadas à casa de vegetação onde foram mantidas até o término do experimento.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) em um esquema fatorial 4 fungicidas (2, 8, 9, 10) x 5 concentrações (0, 100, 200, 300, 400 ppm), com cinco repetições. Cada repetição foi composta por muda. A avaliação foi realizada a cada quatro dias após a inoculação, avaliando-se:

- 1- Períodos de incubação: É o intervalo em dias entre a inoculação das plantas com o patógeno até o aparecimento dos primeiros sintomas da doença (BETTENCOURT E RODRIGUES, 1988)
- 2- Período latente: É o intervalo em dias entre a inoculação das plantas com o patógeno e o aparecimento dos primeiros sinais da doença nas lesões. (BETTENCOURT E RODRIGUES, 1988);
- 3- Severidade ou área foliar: Calculada no final do experimento utilizando o programa Quant (Vale et al., 2003), o resultado foi expresso em porcentagem de área foliar lesionada;
- 4- Produção de Esporos - Ao final do experimento todas as folhas que apresentavam lesões esporuladas foram raspadas utilizando cápsulas de gelatina para a coleta dos uredíniosporos, em um volume conhecido de água destilada contendo 0,05% de Tween 80, posteriormente adicionadas as cápsulas para o preparo da suspensão de esporos, seguido de agitação até a completa homogeneização da suspensão, a contagem foi realizada com do hemacitômetro. Foram realizadas duas contagens por cápsula, sendo a PE originada da média das contagens;
- 5- Eficiência relativa dos produtos usando a seguinte fórmula adaptada de Henderson e Tilton (1955):

$$ER = \left(1 - \frac{P}{T}\right) * 100$$

Sendo:

P= severidade da doença em cada tratamento avaliado

T= severidade da doença no tratamento Testemunha

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F. As variáveis significativas no teste F da análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott knot a 5 % de probabilidade e regressão, com o auxílio do programa estatístico R.

#### **4.6 - Ação curativa de fungicidas no manejo da ferrugem do cafeeiro**

O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação com mudas do clone 12 (CV12) da variedade clonal 'Conilon Vitória', conforme metodologia adaptada de Pierozzi (2013). Mudas do clone 12 foram transplantadas para sacos plásticos com capacidade de 3 L, contendo substrato composto pela mistura de terra de barranco peneirada, areia e esterco na proporção de 3:1:1. A partir da emissão de novas folhas nas mudas foram inoculadas com suspensão de  $5 \times 10^4$  uredíniosporos/mL. O inoculo utilizado neste estudo foi obtido a partir de folhas de cafeeiro infectadas naturalmente como descrito no item 6.1. A inoculação foi realizada com auxílio de um borrifador manual e a suspensão de uredíniosporos foi aspergida sobre as folhas, em ambas as faces, até próximo ao ponto de escorrimento. Logo após a inoculação, as mudas foram cobertas com saco plástico escuro para manter a umidade elevada e então levadas para uma câmara do tipo *Phytotron* à temperatura de  $22 \pm 1,1$  °C e umidade relativa de  $84,5 \pm 3\%$ , após decorrer um período de 48 horas no escuro as, as mudas foram retiradas do *Phytotron* e em seguidas retornadas para casa de vegetação onde serão mantidas à temperatura de  $25 + 2^\circ$  C. Foram avaliadas: Períodos de incubação, Período latente, Severidade, Produção de esporos, Eficiência relativa dos produtos.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F. As variáveis significativas no teste F da análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott knot a 5 % de probabilidade e regressão, com o auxílio do programa estatístico R.

#### **4.7.- Produção de uredíniosporos de *H. vastatrix* em folhas provenientes do ensaio de ação preventiva e curativa**

Após avaliação da severidade da ferrugem no ensaio de ação preventiva foram coletadas das folhas os esporos produzidos com auxílio de uma capsula de gelatina. Em seguida, estas foram levadas para laboratório e preparada a suspensão de uredíniosporos, sendo a contagem realizada com o auxílio da câmara de Neubauer e microscópio óptico. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

#### **4.8 Respostas fisiológicas das mudas de cafeeiro em função da aplicação dos triazóis inéditos**

Os teores de clorofila foram obtidos aos 65 dias após a inoculação (d.a.i.) por meio da avaliação do terceiro par de folhas no terço superior de cada planta, em 5 repetições por tratamento, com o aparelho Clorofilog. A avaliação de trocas gasosas também foi realizada aos 65 d.a.i., sendo quantificada a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), taxa de transpiração (E), condutância estomática (gs) e concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (Ci) com o auxílio de um analisador de gás a infravermelho portátil – IRGA (marca Li-COR, modelo Li 6400), com intensidade luminosa de 1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e concentração externa de CO<sub>2</sub> de  $377 \pm 8$  ppm. A avaliação foi feita entre 9 e 12 horas do dia em uma folha do terceiro par de folhas de cada planta.

Para o cálculo da área foliar foram utilizadas todas as folhas de cada planta, após o término do experimento as folhas destacadas e passadas pelo aparelho medidor de área foliar (LI-3100 Area Meter) aos 65 d.a.i.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F. As variáveis significativas no teste F da análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade e regressão, com o auxílio do programa estatístico R.



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Germinação de uredíniosporos de *H. vastatrix* no ensaio em condições controladas (“*in vitro*”)

No teste de germinação em ágar-água os fungicidas testados apresentaram diferença significativa entre si nas concentrações testadas (Tabela 1). Na concentração de 10 ppm pode-se observar que dos 17 fungicidas testados somente em 5 a germinação dos uredíniosporos foi abaixo de 50%. O triazol inédito que causou menor germinação de esporos foi o 2, seguido pelos triazóis 13 e 15. Os triazóis, nesta concentração, menos efetivos foram os 7 e 16, em que se observou germinação acima de 70%. Na concentração de 25 ppm a quantidade de triazóis com germinação de esporos abaixo de 50% subiu para 12 do total de 17 triazóis testados. Observa-se que ao se aumentar a concentração há maior eficiência dos compostos, sendo que nessa concentração os que apresentaram menor eficiência foram os triazóis 3, 11, 16 e 17. A mesma tendência foi observada na concentração de 50 ppm onde ocorreu um aumento do número de triazóis com germinação de esporos abaixo de 50% que de 14 dos 17 testado, nessa concentração os menos eficientes foram os triazóis 3, 8 e 16. Na concentração de 75 ppm continua a mesma tendência das concentrações anteriores, mas dessa vez todas as moléculas testadas apresentaram germinação abaixo de 50%. Já na concentração de 100 ppm ocorreu um fato interessante com o triazol 6, uma vez que a porcentagem de germinação de esporos foi acima de 50% e superior aos apresentado na concentração anterior, esse fato pode ser explicado devido a ação toxica dos compostos que possui variação de acordo com algumas características das moléculas como por exemplo a propriedade físico – química. Os triazóis podem desempenhar ação tóxica sobre a formação do tubo germinativo e apressório do fungo como também impedir o desenvolvimento do haustório e crescimento micelial, após a formação do tubo germinativo, o que justifica os resultados encontrados no presente trabalho (FORCELINI, 1994; FORCELINI et al., 2001; ZAMBOLIM et al., 2007).

**Tabela 1** - Porcentagem de germinação de uredíniosporos de *Hemileia vastatrix* em meio ágar-ágar, sob diferentes concentrações das novas moléculas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.

Concentração	10 (ppm)	25 (ppm)	50 (ppm)	75 (ppm)	100 (ppm)
--------------	----------	----------	----------	----------	-----------

<b>Triazol</b>					
<b>1</b>	58,35 b	37,57 c	36,15 d	32,81 d	29,74 c
<b>2</b>	35,30 e	32,48 d	33,52 c	31,44 d	32,00 c
<b>3</b>	55,21 c	54,49 b	51,64 b	36,4 c	17,39 d
<b>4</b>	49,36 c	42,00 c	44,33 c	44,69 b	43,42 b
<b>5</b>	59,17 b	38,19 c	42,11 c	43,00 b	42,21 b
<b>6</b>	42,08 d	41,68 c	45,64 c	47,49 a	56,86 a
<b>7</b>	73,03 a	66,81 a	43,61 c	47,41 a	38,21 b
<b>8</b>	53,28 c	55,61 b	57,76 a	47,96 a	34,86 b
<b>9</b>	46,25 d	43,68 c	44,33 c	40,5 b	35,57 b
<b>10</b>	50,14 c	44,36 c	40,42 c	38,08 c	24,75 d
<b>11</b>	53,64 c	52,99 b	48,09 c	48,18 a	39,65 b
<b>12</b>	54,4 c	45,17 c	26,62 d	25,62 d	22,59 d
<b>13</b>	29,35 f	33,73 d	43,32 c	41,25 b	39,87 b
<b>14</b>	61,78 b	30,6 d	30,16 d	31,72 d	28,65 c
<b>15</b>	25,74 f	27,82 d	29,83 d	30,62 d	40,97 b
<b>16</b>	72,39 a	63,23 a	59,82 a	33,49 c	31,58 c
<b>17</b>	62,16 b	61,22 a	48,62 c	30,07 c	27,64 c
<b>Testemunha</b>	81,99	81,99	81,99	81,99	81,99
<b>Flutriafol</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Na concentração de 100 ppm encontrou-se resultados satisfatórios. O triazol3 proporcionou germinação de apenas 17,39% dos esporos, ao passo que na testemunha a germinação foi de 81,99%, demonstrando a efetividade do triazol. Mesmo que as novas moléculas não tenham se comportado com eficiência semelhante a do fungicida comercial, os resultados obtidos no ensaio em condições controladas justificam a necessidade e importância da realização de experimentos em condições “in vivo”.

Os valores da ED50 (Tabela 2) foi calculada a partir dos modelos logaritmos, demonstraram que o fungicida 2 foi o mais efetivo, seguido pelo o 4, 15, 13 e 9, os quais obtiveram menor valor.

**Tabela 2:** Concentração inibitória de 50% (ED50) da germinação de uredíniosporos de *H. vastatrix*. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.

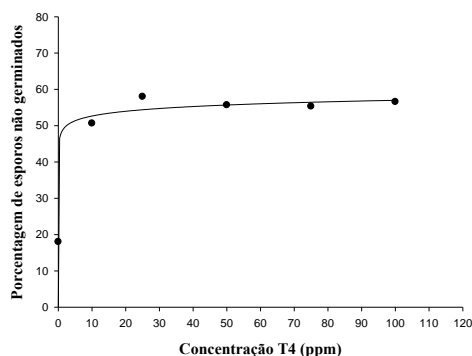
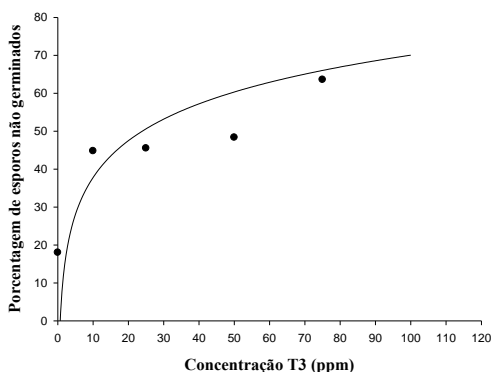
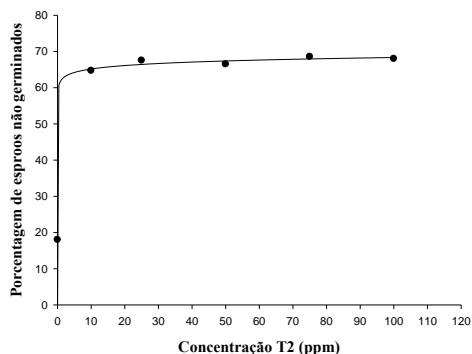
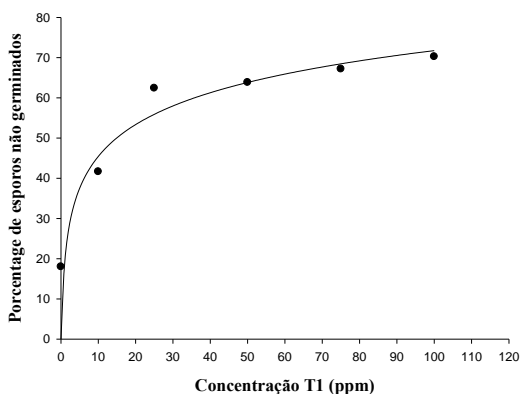
Triazol	Equação	R <sup>2</sup>	ED 50(ppm)
1	Y= 19,0971+11,4346lnx	0,9384	15
2	Y= 61,9835+1,3806lnx	0,9152	1
3	Y= 5,5209+14,0152lnx	0,8339	23,52
4	Y= 48,3303+1,8821lnx	0,8431	2
5	Y= 32,6582+6,1031lnx	0,8193	16,1
6	Y= 72,9025-5,3531lnx	0,8256	1,23
7	Y= -10,9853+15,5728lnx	0,8575	50
8	Y= 28,0118+6,0182lnx	0,7424	36
9	Y= 44,0126+3,7920lnx	0,8679	5
10	Y= 26,9788+9,1172lnx	0,8868	12
11	Y= 32,5891+5,1484lnx	0,8132	28
12	Y= 10,6552+14,8356lnx	0,9289	14
13	Y= 41,6286+6,0185lnx	0,9062	4
14	Y= 16,3959+12,8084lnx	0,8816	13,5
15	Y= 46,7958+6,0493lnx	0,9239	3
16	Y= -18,6926+18,1385lnx	0,8569	34
17	Y= -5,7558+16,2926lnx	0,8760	30

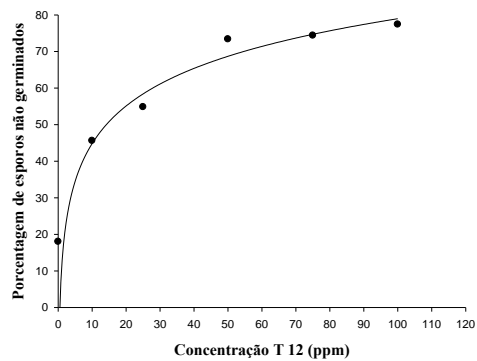
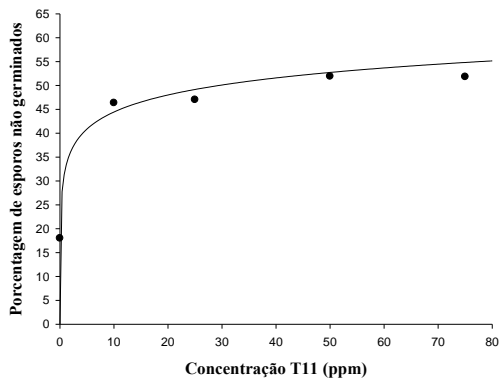
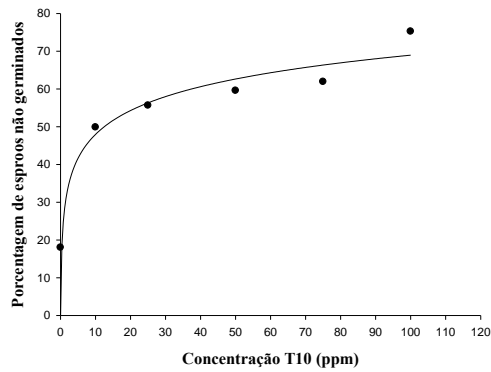
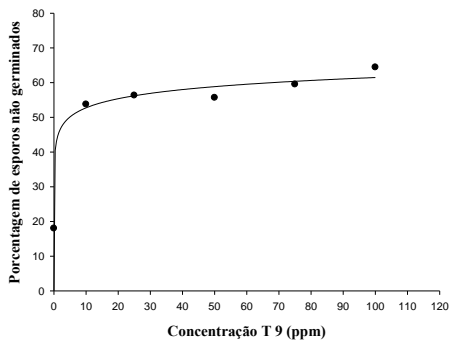
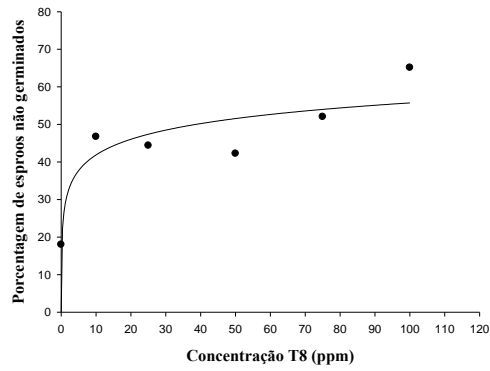
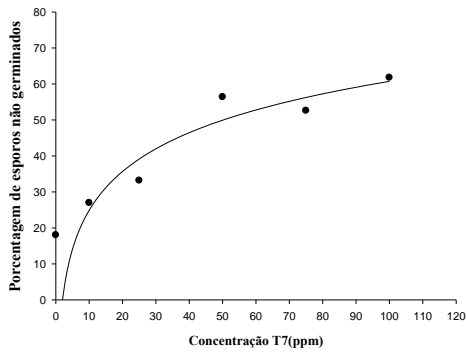
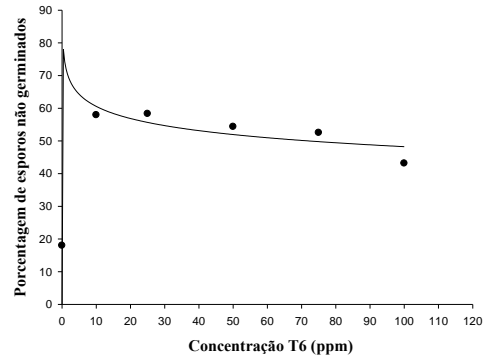
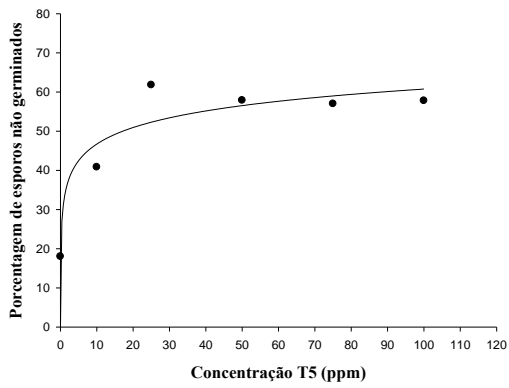
Quando as células fúngicas entram em contato com os triazóis ocorre acúmulo de esteróis como o 4,4-dimetil e o 4 $\alpha$ -metil, ambos com radical 1,4  $\alpha$ -metil, desencadeando a inativação do processo da demetilação do lansoterol, que é um composto intermediário da produção do ergosterol. Este fato deve-se a ocupação pelo fungicida de sítios ativos destinados a ligação da enzima 1,4  $\alpha$ -metilase ao citocromo P-450, catalisador da reação de oxidação de 1,4  $\alpha$ -metil até 1,4  $\alpha$ -hidroximetil, primeiro passo no processo de demetilação (GADHER et al., 1983; ZAMBOLIM et al., 2007).

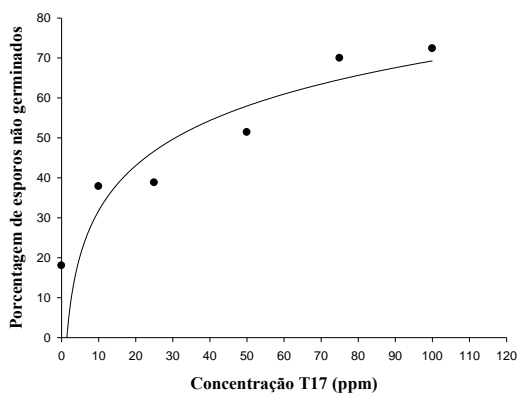
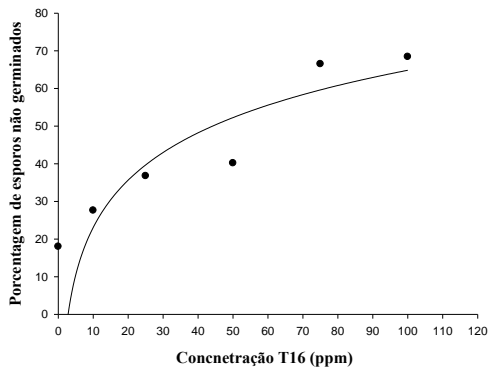
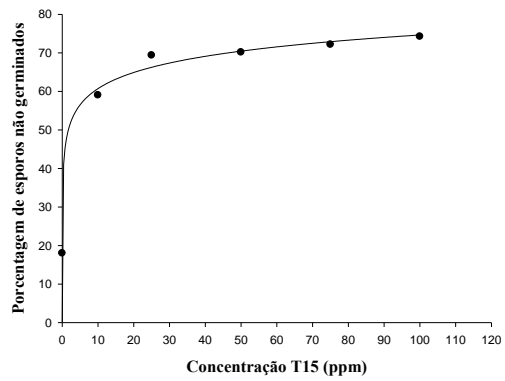
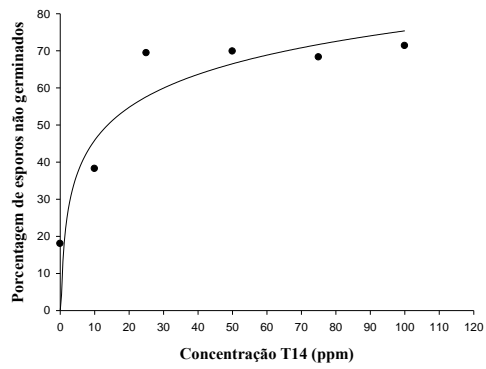
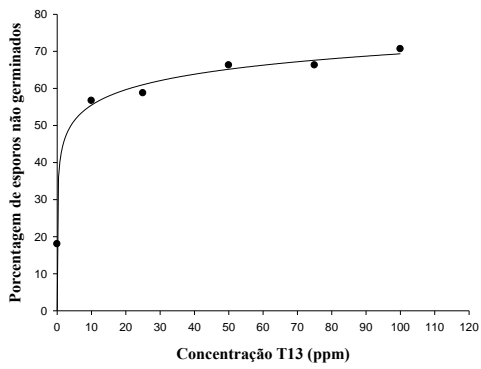
Esse processo de desmetilação conduz a acúmulo de 14- $\alpha$ -metilesteróis, o que causa desagregação do arranjo compacto das cadeias acílicas do fosfolipídeos de membranas, fator

esse que é prejudicial as funções de determinados sistemas enzimáticos que estão acoplados à membrana, como a ATPase e enzimas da cadeia de transporte de elétrons, inibindo dessa forma o desenvolvimento dos fungos (GOODMAN e GILMAN, 1999).

Ao analisar o efeito das concentrações dentro de cada fungicida, para os triazóis 2 e 4 não houve diferença significativa entre as concentrações, porém para demais triazóis foi verificada diferença significativa, sendo que o modelo que melhor se ajustou aos dados foi o quadrático (Figura 17). Observa-se que para os triazóis 6, 13 e 15 à medida que se aumenta a concentração há aumento do número de esporos germinados, fato que provavelmente ocorre em função do mecanismo de ação dos triazóis, que pode diferir de uma molécula para outra, alguns triazóis tem a capacidade de inibir o desenvolvimento do fungo após a formação do tubo germinativo. Já para os triazóis 1, 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16 e 17, à medida que se aumenta a concentração ocorre redução da porcentagem de uredíniosporos germinado, sendo o efeito mais pronunciado nos triazóis 1, 3, 7, 14, 16 e 17.







**Figura 2-** Porcentagem de esporos não germinados de *Hemileia vastatrix* em função das concentrações (0, 10, 25, 50, 75 e 100 ppm) das moléculas inéditas de triazóis.

A germinação dos uredíniosporos é a fase mais crítica durante o processo de infecção de *H. vastatrix* no cafeeiro, visto que é a partir desse momento que o patógeno começa o processo de desenvolvimento. Assim, a compreensão do comportamento do fungo perante as novas moléculas é de grande importância, dado que pode auxiliar no processo de seleção das moléculas com potenciais para o teste in vivo. Com base nos resultados obtidos nesse trabalho verificou-se que há sensibilidade do fungo a maioria das novas moléculas de triazóis. Esses resultados corroboram dados disponíveis na literatura. Kato (1986) verificou que doses elevadas de triazóis promovem danos diretos na membrana do patógeno, além de ocasionar alterações morfológicas identificadas como inchamento de células, vacuolização excessiva, septação incompleta, surgimento de vesículas entre a membrana e a parede celular, além de formação de inclusões membranosas.

A avaliação dos triazóis inéditos também foi realizada em outros patossistemas como mamão x antracnose, abacaxi x fusariose e goiabeira x fusariose (Gomes, 2014; Silva, 2014). Os autores observaram que as novas moléculas também foram eficientes na redução do desenvolvimento dos patógenos alvo. Para a antracnose a concentração de 1000 ppm dos triazóis 10, 11, 13, 16 e 17 inibiu completamente o crescimento micelial. Para os demais triazóis, apesar de não ter ocorrido inibição de 100%, a mesma foi superior a 60%, fato que demonstra que essas moléculas possuem potencial fungicida. Para a fusariose do abacaxi os triazóis que demonstraram maior eficiência (inibição de 100% do crescimento micelial) foram o 12 e 17, porém os triazóis 11, 14 e 16 apresentaram eficiência acima de 80%.

Trabalhos com outras culturas também demonstraram que alguns compostos triazólicos que existe diferença quanto a resposta do patógenos as diferentes moléculas, Ferreira et al. (2009), ao testar os compostos tetraconazol e triadimenol no desenvolvimento do crescimento micelial e esporulação houve diferença entre os compostos, para o tetraconazol a concentração de 25 ppm foi suficiente para inibir 100% da produção de conídios de *C. gloeosporioides* em cafeeiro, já o triadimenol a concentração necessária para inibir a 100% da esporulação do patógeno foi de 500 ppm. No presente trabalho observa-se comportamento semelhante, ou seja, existem moléculas que apresentaram maior inibição da germinação de uredíniosporos empregando-se concentrações menores que outras.

## **5.2. Avaliação preventiva dos triazóis inéditos**

As mudas de cafeeiro do tratamento-testemunha não receberam nenhuma aplicação de triazóis e os primeiros sintomas da doença surgiram após 18 dias após a inoculação (Tabela 3), enquanto que nos tratamentos que receberam aplicação dos triazóis houve variação de 19 dias até o fim do experimento sem manifestação da doença (65 dias). Dentre os tratamentos houve diferença significativa, sendo que o melhor resultado foi gerado pelo triazol 8, na concentração de 300  $\mu$ L, a qual não permitiu desenvolvimento da doença. Quando se analisa concentração de 400  $\mu$ L verifica-se eficiência relativa de 100% dos triazóis 2, 8 e 9, enquanto que o triazol 10 apresentou eficiência de 72,72%.

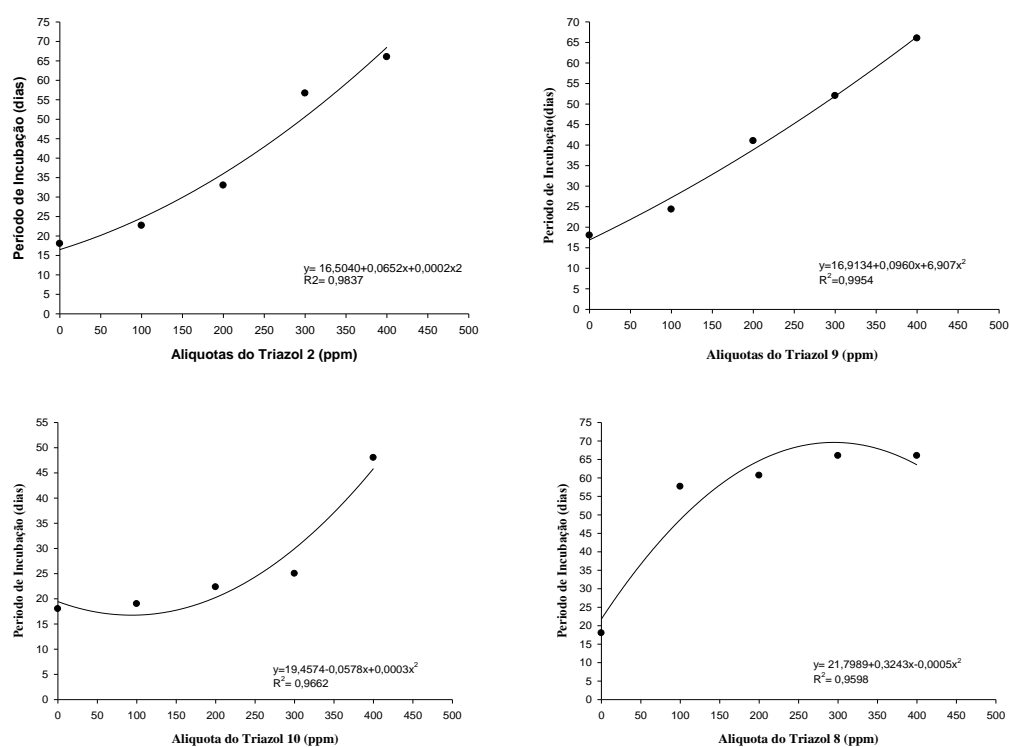
**Tabela 3-** Valores médios do período de incubação (dias) de *Hemileia vastatrix* em mudas de cafeeiro em resposta ao tratamento preventivo com diferentes concentrações ( $\mu$ L) das moléculas inéditas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.

Concentração \ Triazol	0	100	200	300	400
2	18a	22,66b	33,00c	53,66a	65,00b
9	18a	24,33b	41,00b	52,00a	65,00b
8	18a	57,66a	60,33a	65,00c	65,00b
10	18a	19,00c	22,33d	25,00b	48,00a
FC*	18a	65,00d	65,00e	65,00c	65,00b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Scott knott. \*Fungicida comercial.

Na Figura 3 é apresentado o comportamento dos triazóis em relação às concentrações testadas. Todas as moléculas apresentaram diferença significativa e o melhor ajuste de regressão para representar esse comportamento foi o quadrático. Na medida que se aumentam as concentrações dos triazóis ocorre aumento do período de incubação da ferrugem, o que significa que as novas moléculas de triazóis são eficientes para reduzir o desenvolvimento da doença.





**Figura 3:** Período de incubação de *H. vastatrix* em folhas de mudas de cafeeiro em resposta a diferentes concentrações dos triazóis inéditos 2, 9, 8 e 10.

Os resultados obtidos com a utilização dos triazóis inéditos corroboram com os dados de literatura. Marques et al. (1998) testaram diferentes produtos comerciais do grupo dos triazóis, aplicados via foliar, em diferentes doses, de forma preventiva no controle da ferrugem do cafeeiro, concluindo que os fungicidas foram eficientes no controle da ferrugem. Capucho et al. (2013), avaliaram diferentes produtos comerciais no controle da ferrugem no café conillon, entre os produtos químicos avaliados o ciproconazole e o flutriafol (grupo dos triazois) foram os ingredientes mais eficazes para o controle da ferrugem, ele associa a eficiência devido à capacidade de translocação desses compostos uma vez que eles foram aplicados via solo, enquanto outros produtos foram aplicados via folha.

Outro fator que pode explicar a ausência de sintomas nas plantas é que os triazóis são altamente fungitóxicos, possuindo elevada penetração e translocação rápida dentro dos tecidos vegetais, o que proporciona menor lixiviação do produto e maior período residual do mesmo na planta, agindo como protetor na fase de pré-penetração e também como curativo nos eventos pós-penetração do patógeno (FORCELLINI, 1994).

Com relação ao período latente (Tabela 4) as mudas que não receberam nenhum tratamento começaram esporular aos 33 dias após a inoculação, já as mudas nas quais receberam tratamento o menor período latente foi de 38 dias e a maioria das plantas apesar de ter expressado os sintomas, não apresentou sinais. Para o triazol 8 observa-se que na menor concentração testada houve esporulação do patógeno. O triazol 10 foi o que possibilitou ao fungo ter o menor período latente. Na concentração de 200 e 300  $\mu\text{L}$  todos os triazóis, exceto o triazol 10 inibiram em 100% o aparecimento dos sinais do patógeno. Quando analisa-se a concentração de 400  $\mu\text{L}$  verifica-se que todos os triazóis tiveram eficiência de 100%.

**Tabela 4** - Valores médios do período latente (dias) de *Hemileia vastatrix* em mudas de cafeeiro em resposta ao tratamento preventivo com diferentes concentrações ( $\mu\text{L}$ ) das novas moléculas de triazóis.

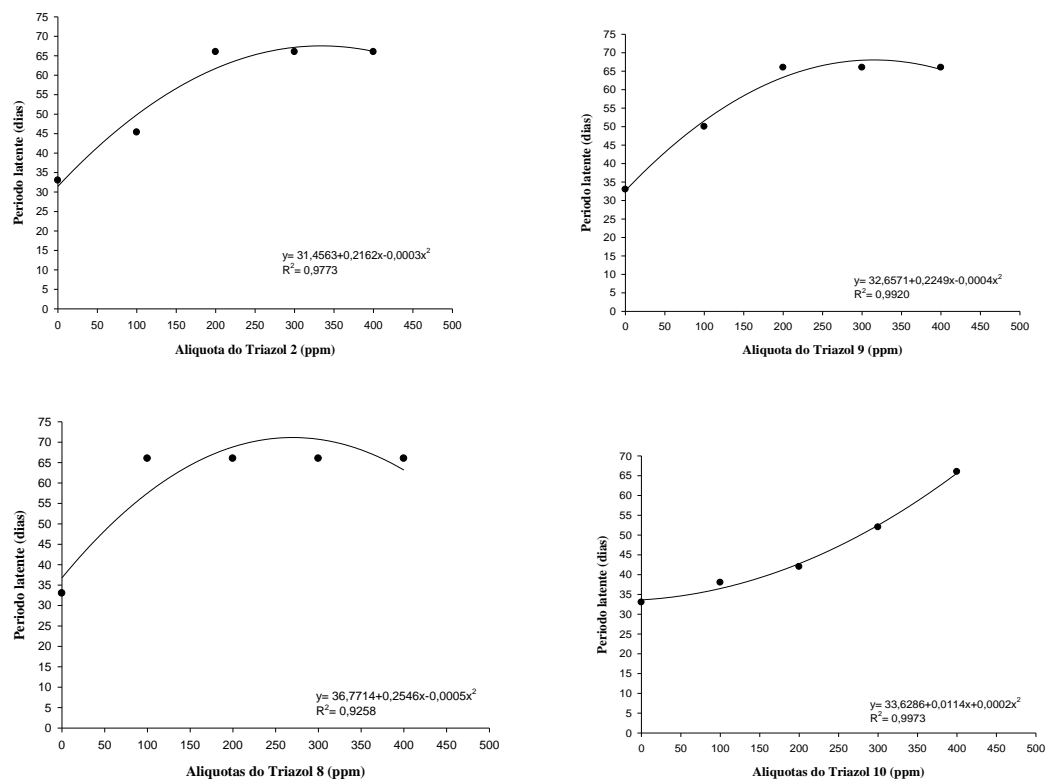
Concentração \ Triazol	0	100	200	300	400
2	33a	45,33b	65,00a	65,00a	65,00a
9	33a	50,00b	65,00a	65,00a	65,00a
8	33a	65,00a	65,00a	65,00a	65,00a
10	33a	38,00c	42,00b	52,00b	65,00a
FC*	33a	65,00a	65,00	65,00a	65,00a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Scott knott. \*Fungicida comercial.

Com base nesses resultados demonstra-se que as novas moléculas de triazol são eficientes quando aplicadas de forma preventiva. O ciclo da ferrugem no tratamento testemunha (que não recebeu aplicação dos triazóis) foi de 33 dias, enquanto que nos tratamentos que receberam aplicação das novas molécula o ciclo variou de 33 a 66 dias, ou seja, ao término do experimento havia tratamento em que a doença não se desenvolveu. Para o triazol 10, na concentração de 200  $\mu\text{L}$ , o ciclo durou 42 dias, indicando que para manter o efeito fungicida dessa molécula é necessário realizar uma nova aplicação aos 41 dias.

De acordo com a figura 4 pode-se observar o comportamento dos triazóis em relação a concentração. A única molécula que diferiu significativamente foi a 8, já para os demais triazóis o melhor ajuste foi obtido empregando-se o modelo quadrático de regressão. Quando

ocorre aumento da concentração dos triazóis há prolongamento do período latente da ferrugem, o que demonstra que as novas moléculas de triazóis são eficientes para reduzir o desenvolvimento do patógeno visto que em algumas concentrações houve manifestação dos sintomas da doença, porém sem esporulação, o que demonstra que a ferrugem é sensível as novas moléculas de triazóis.



**Figura 4:** Período latente de *H. vastatrix* em folhas de mudas de cafeeiro em resposta as diferentes concentrações dos triazóis 2, 9, 8 e 10.

Os resultados obtidos corroboram com os dados de literatura. Rozo-Peña e Cristancho (2010) observaram que as moléculas de propiconazole e ciproconazole aplicadas preventivamente no cafeeiro proporcionaram inibição de 100% da esporulação de *H. vastatrix*, enquanto que o efeito curativo dos produtos testados também foi demonstrado, sendo que o índice de infecção na testemunha (aplicação somente de água) foi de 0,81, enquanto que para as plantas tratadas o índice foi de 0,38.

Londoño et al. (1995) e Rivillas et al. (2005) demonstraram eficiência no controle da ferrugem do cafeeiro na Colômbia através da utilização de a moléculas de ciproconazol, propiconazol, hexaconazol, triadimefon e a combinação de moléculas ciproconazol +

azoxistrobina e ciproconazol thiamethoxan. Também observaram que a aplicação desses produtos promoveu aumento na produção, ou seja, tiveram efeito tônico às plantas.

Quando fazemos a relação do número de esporos por área lesionadas (Tabela 5 e 6) pode observar que não existe diferença significativa entre os triazóis dentro de cada concentrações testadas. A testemunha que não recebeu nenhum tratamento a produção foi bem alta em comparação com os demais tratamentos e mais uma o triazol que expressou menor efeito fungicida para a ferrugem foi o triazol 10, mas mesmo assim ainda houve uma redução bem significativa (96,79%) comparada com a testemunha que, outro fator interessante foi mesmo em plantas que desenvolveu sintomas da doença não houve a produção de esporos, o que torna interessante o fato de que o fungicida em algum momento do ciclo da ferrugem acaba interferindo e reduzindo a sua capacidade de produção de estruturas reprodutivas e consequentemente a redução da doença no decorrer do tempo, visto que sem a estrutura reprodutiva ele não consegue causar novas infecções e nem se disseminar.

**Tabela 5** - Valores médios de uredíniosporos de *Hemileia vastatrix* ( $10^4$  esporos/ml) por área foliar lesionada em mudas de cafeeiro em resposta ao tratamento preventivo com diferentes concentrações ( $\mu\text{L}$ ) das novas moléculas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.

Concentração \ Triazol	0	100	200	300	400
2	34,33a	0,73a	0a	0a	0a
9	34,33a	0,75a	0a	0a	0a
8	34,33a	0a	0a	0a	0a
10	34,33a	1,1a	0,66a	1a	0,24a
FC*	34,33a	0a	0a	0a	0a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Scott knott. \*Fungicida comercial.

Vários autores têm evidenciado a importância da capacidade antiesporulante de diversos fungicidas pertencentes ao grupo químico dos triazóis. Holb e Schnabel (2007) testando os fungicidas tebuconazol, propiconazol e fenbuconazol para controle de *Monilinia fructicola*, verificaram que o fungo apresentou maior sensibilidade nos tratamentos com tebuconazol e fenbuconazol, apresentando valores médios de ED50 entre 0,018-0,023 ppm.

Bampi et al. (2013) avaliaram os triazóis tebuconazol, propiconazol, epoxiconazol, tetraconazol, metconazol e ciproconazol no controle da mancha-de-macrospora (*Stenocarpella macrospora*), observando que as moléculas tem fungitoxicidade elevada para o patógeno, com valores de ED50 variando entre 0,040 e 0,063 ppm e na concentração de 1 a 10 ppm a inibição foi de 100%. Schmitz et al. (2014) analisaram a sensibilidade da ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) a fungicidas e concluíram que os isolados do patógeno foram sensíveis aos fungicidas, demonstrando que os fungicidas triazóis são efetivos para controle de outras espécies de ferrugens.

Os fungicidas triazóis exercem função protetora e curativa. Como protetor esses produtos possuem ação tóxica na germinação dos esporos, no desenvolvimento do tubo germinativo e no apressório. Porém, essa inibição pode ser parcial, de maneira que pode ocorrer penetração do tubo germinativo do patógeno nos tecidos tratados, o que leva ao fungicida a atuar de forma curativa, pois o desenvolvimento do haustório e/ou o crescimento micelial no interior dos tecidos vegetais será inibida pela presença do fungicida (FORCELINI, 1994). Esse fato demonstra claramente a importância dos resultados obtidos no presente trabalho, ou seja, apesar de alguns triazóis inéditos permitirem o aparecimento de sintomas, há inibição do ciclo do patógeno, o que impede a produção de novas estruturas reprodutivas para gerar novos ciclos de infecção.

Os resultados obtidos para área foliar lesionada demonstram queda acentuada quando se compara as plantas sem aplicação de nenhum tratamento com as plantas que foram aplicados os novos triazóis. Houve interação positiva, tendo sido observado redução de danos na área foliar fotossinteticamente ativa (Tabela 7). Esses resultados indicam que as novas moléculas de triazóis quando aplicadas de forma preventiva reduzem significativamente a severidade da doença em mudas. Observou-se também que a partir da concentração de 300 ( $\mu$ L) não ocorreu diferença significativa entre as novas moléculas e a molécula comercial, ou seja as novas moléculas tem potencial fungicidas e poderam ser utilizadas como alternativa as moléculas existentes no mercado para o controle da ferrugem.

**Tabela 6-** Valores médios da severidade (%) de *Hemileia vastatrix* em resposta ao tratamento preventivo com diferentes concentrações ( $\mu\text{L}$ ) das novas moléculas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.

Concentração \ Triazol	0	100	200	300	400
2	32,71a	5,68a	1,82a	0,51a	0,00a
9	32,71a	0,75b	0,56b	0,17a	0,00a
8	32,71a	4,08a	1,78a	0,00a	0,00a
10	32,71a	8,03a	2,55a	1,39a	0,98a
FC*	32,71a	0,00b	0,00b	0,00a	0,00a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Scott knott. \*Fungicida comercial

A eficiência relativa das moléculas testadas variou de 64,64 a 100% (Tabela 7), sendo que na maior concentração testada a eficiência foi superior a 90%, o que permite concluir que as novas moléculas podem ser empregadas no manejo da ferrugem do cafeeiro.

Os dados obtidos no presente estudo são inéditos, dado que na maioria das vezes os testes são realizados por empresas multinacionais privadas, cujos resultados não são disponibilizados.

**Tabela 7-** Eficiência relativa (%) de diferentes concentrações das novas moléculas de triazóis sobre *Hemileia vastatrix* em mudas de cafeeiro, quando aplicadas de forma preventiva. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.

Concentração \ Triazol	100	200	300	400
2	74,18	91,98	97,75	100
9	96,69	97,53	99,25	100
8	82,03	92,16	100	100
10	64,64	88,77	93,87	95,68
FC	100	100	100	100

Martins et al. (2009) avaliaram o desempenho do cloreto de benzalcônio em mistura com fungicida cúprico e epoxiconazole, verificando que a aplicação de um fungicida triazol foi fundamental para o controle da ferrugem. Todos os tratamentos que não receberam a mistura com triazol resultaram em porcentagens mais elevadas de incidência da doença.

Com base nos resultados obtidos nesta etapa do experimento, constatou-se que as novas moléculas de triazóis tem capacidade de alterar o ciclo secundário da ferrugem que tem início a partir de estruturas reprodutivas ou esporos que são formadas a partir do aparecimento dos sintomas nas folhas. Esses novos compostos poderão ser utilizados no manejo da ferrugem do cafeeiro, já que a maioria dos triazóis inéditos apresentou eficiência relativa superior a 95%. A literatura apresenta vários casos de sucesso com a utilização de compostos triazoles, como por exemplo, para o controle de doenças em frutíferas, dentre as quais podem-se citar: ferrugem da nectarina (NOGUEIRA, 1991), ferrugem em goiaba (RUIZ et al., 1990), cercosporiose em bananeira (NOGUEIRA e SANTOS, 1992) e sarna em macieira (BRIGNANI NETO et al., 1989; NOGUEIRA, 1993). Outra utilização dos compostos triazoles é para o controle de doenças em plantas ornamentais, como a ferrugem da palma-holandesa (FERREIRA e NEVIL, 1989) e ferrugem branca (TOLEDO e ROLIM, 1989).

### 5.3. Respostas fisiológicas de plantas de cafeeiro a aplicação preventiva das moléculas inéditas de triazóis

Observou-se que, de maneira geral, as resposta fisiológicas não apresentou diferença significativa a nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott Knott em relação as concentrações testadas, nem entre as moléculas testadas (Tabela 8).

**Tabela 8:** Valores médios de teor de clorofila, número de folhas, diâmetro do caule, altura das mudas, área foliar, peso de matéria seca da folha, peso de matéria seca da raiz, fotossíntese líquida, condutância estomática, concentração interna de CO<sub>2</sub>, taxa de transpiração de cafeeiro produzidas em resposta ao tratamento preventivo com diferentes concentrações (µL) das novas moléculas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.

Concentração Triazol	0	100	200	300	400
<b>Valores médios do teor de clorofila</b>					
2	4,05a	6,61a	6,39a	6,62a	6,53a
9	4,05a	6,54a	6,44a	6,49a	6,26a
8	4,05a	6,27a	6,60a	6,47a	5,90a
10	4,05a	6,00a	6,45a	6,4a	6,18a
FC*	4,29a	6,29a	6,29a	6,29a	6,29a
<b>Valores médios de número de folhas</b>					
2	6,33a	6,00a	6,33a	5,00a	5,00a
9	6,33a	4,66a	6,00a	5,00a	6,00a
8	6,33a	4,66a	5,66a	7,00a	5,33a
10	6,33a	6,66a	7,33a	7,00a	7,00a
FC*	6,33a	6,00a	6,00a	6,00a	6,00a
<b>Valores médios do diâmetro do caule</b>					
2	4,19a	3,72a	3,66a	4,01a	3,84a
9	4,19a	4,07a	4,57a	4,06a	4,12a
8	4,19a	4,28a	4,02a	4,42a	4,30a
10	4,19a	3,88a	4,31a	4,15a	4,39a
FC*	4,19a	4,09a	4,09a	4,09a	4,09a



**Valores médios de altura das mudas**

2	29,66a	24,96a	25,43a	26,33a	24,33a
9	29,66a	23,96a	30,96a	25,83a	26,80a
8	29,66a	28,90a	31,70a	28,50a	28,56a
10	29,66a	27,33a	25,63a	30,00a	30,06a
FC*	29,66a	25,40a	25,40a	25,40a	25,40a

**Valores médios da área foliar (cm<sup>2</sup>)**

2	166,5a	193,03a	198,46a	162,57a	156,19a
9	166,5a	154,52a	180,49	169,21a	129,74a
8	166,5a	196,86a	247,82	197,70a	197,60a
10	166,5a	167,18a	213,16a	177,62a	209,72a
FC*	166,5a	147,93a	147,93a	147,93a	147,93a

**Valores médios de peso da matéria seca**

2	9,87a	9,69a	9,25a	9,69a	7,5a
9	9,87a	8,95a	10,56a	9,39a	8,42a
8	9,87a	10,03a	12,24a	10,03a	10,76a
10	9,87a	9,29a	10,99a	9,88a	10,78a
FC*	9,87a	9,49a	9,49a	9,49a	9,49a

**Valores médios de peso da matéria seca da raiz (gramas)**

2	9,82a	8,35a	8,88a	9,66a	8,16a
9	9,82a	9,54a	9,96a	8,39a	8,41a
8	9,82a	9,46a	10,67a	10,03a	10,33a
10	9,82a	9,46a	9,79a	9,16a	9,49a
FC*	9,82a	12,85a	12,85a	12,85a	12,85a

**Valores médios de fotossíntese líquida ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )**

2	2,39a	4,57a	8,18a	7,58a	7,58a
9	2,39a	3,67b	8,92a	8,71a	8,26a
8	2,39a	8,89a	10,15a	8,14a	9,84b
10	2,39a	2,33b	5,17b	7,08a	7,08a
FC	2,39a	8,15a	8,15a	8,15a	8,15a

**Valores médios de condutância estomática ( $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )**

2	0,03a	0,045a	0,041a	0,048a	0,06a
---	-------	--------	--------	--------	-------

9	0,03a	0,029a	0,085a	0,061a	0,066a
8	0,03a	0,051a	0,068a	0,049a	0,064a
10	0,03a	0,076a	0,055a	0,097a	0,079a
FC*	0,03a	0,048a	0,048a	0,048a	0,048a
<b>Valores médios de concentração interna de CO<sub>2</sub> (mol.m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)</b>					
2	207,44a	196,80b	230,17a	203,34a	233,00a
9	207,44a	208,89a	211,94a	184,55b	241,62a
8	207,44a	190,67b	212,06a	215,85a	210,54a
10	207,44a	211,06a	221,28a	229,49a	232,57a
FC*	207,44a	162,26b	162,26c	162,26b	162,26b
<b>Valores médios da taxa de transpiração (μmol.m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)</b>					
2	1,09a	1,07a	0,83a	1,22a	1,26a
9	1,09a	0,66a	1,51a	1,16a	1,29a
8	1,09a	0,80a	1,38a	1,14a	1,19a
10	1,09a	1,36a	1,11a	1,16a	1,14a
FC*	1,09a	0,94a	0,94a	0,94a	0,94a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Scott knott. \*Fungicida comercial

As novas moléculas de triazóis quando aplicadas em mudas de cafeeiro não causou problemas de fitoxidez mesmo com o aumento da concentração, o que é um fato interessante, visto que essas possuem um potencial fungico para utilização no controle da ferrugem do cafeeiro. Sintomas variados que poderiam indicar fitoxidez como por exemplo enrugamento das folhas, mancha foliar, redução de internódios, necrose e epinastia foliar, bronzeamento e nanismo, além de peso fresco e seco da raiz e parte área não foram observados no presente trabalho.

Alguns autores mostraram que os triazóis podem provocar sintomas de fitoxidez, como o encurtamento dos entre-nós, o lento desenvolvimento das plantas, aumento do esverdeamento das folhas e retardo na senescência das folhas, o que pode ser atribuído ao fato dos triazóis provocarem inibição da síntese de ácido giberélico e/ou de esteróis na planta (KUCK e SCHEINPFIUG, 1986).

Com relação aos valores de clorofila observa-se que não houve diferença significativa entre as novas moléculas testadas e o fungicida comercial. A clorofila é um pigmento de

grande importância para a planta pois tem a função de converter a radiação luminosa em energia química, na qual é disposta na forma de ATP e NADPH, este pigmento ainda está relacionada com a eficiência com a eficiência fotossintética das plantas (STREIT et al. 2005). No presente trabalho observa-se que os tratamentos não causaram efeito negativo sobre essa molécula, de modo que a eficiência fotossintética da planta não foi comprometida. Tal fato novamente demonstra que as novas moléculas são promissoras para serem utilizadas no manejo da ferrugem do cafeeiro, dado que apresentam alta eficiência relativa e não causam fitotoxidez às plantas. Essas características valorizam os triazóis inéditos testados, uma vez que esses atributos são desejados com a aplicação de fungicidas.

Na literatura são citados alguns efeitos da utilização de compostos triazólicos em cafeeiro, como crescimento nas concentrações de clorofila e carotenóides em mudas de arroz (GUIRONG et al., 1995) e quiabo (SUJATHA et al., 1999). O triazol triadimefon proporcionou aumento da concentração de clorofila nas folhas de tomateiro (BUCHENAUER e ROHNER, 1981), rabanete (MUTHUKUMARASAMY e PANNEERSELVAM, 1997), feijão caupi (GOPI et al., 1999) e trigo (GAO et al., 1988). As moléculas de triazol conseguem aumentar o nível de citocinina que por sua vez aceleram a diferenciação dos cloroplastos e estimulam a biossíntese de clorofila (JALEEL et al., 2008).

Quando se analisa o número de folhas por planta verifica-se que não houve diferença entre os tratamentos. Assim, durante a condução do experimento não houve desfolha nas plantas. De acordo com Capucho et al. (2011), em plantas de cafeeiro conilon a queda das folhas ocorre normalmente quando a severidade da doença está em torno de 40%, valor esse que difere para o cafeeiro arábica que tem capacidade de suportar severidades de até 80% sem que ocorra a desfolha. No presente estudo o maior valor de severidade foi de 32,71%, o que pode explicar os resultados obtidos, ou seja, não ocorreu perda de folhas das mudas de cafeeiro conilon porque não atingiu a severidade máxima para ocorrer queda prematura das folhas.

Lopes et al. (2014) e Androcioli et al. (2012) observaram que a utilização de fungicidas do grupo dos triazóis promoveu o controle da ferrugem e cercosporiose, além de elevar a produtividade de grãos, fator esse que os autores atribuíram a preservação das folhas dos cafeeiros. Os dados obtidos no presente estudo estão de acordo com os gerados pelos referidos autores.

Para as variáveis diâmetro do caule e altura média das plantas também não foram detectadas diferenças significativas. Segundo Engel (1989), o desenvolvimento do diâmetro

do caule é dependente da atividade cambial, a qual é estimulada pelos carboidratos sintetizados da fotossíntese e de hormônios que são translocados das regiões apicais da planta.

Estes resultados diferem dos encontrados por Paradela et al. (2005) que testaram a aplicação de fungicidas triazóis via solo, concluindo que os mesmos promoveram redução do crescimento das mudas de café arábica. Os autores atribuíram esse fato a ação hormonal que os produtos sistêmicos possuem.

Para a variável área foliar não foi detectada diferença significativa, o que pode ser explicado pelo fato da expansão foliar máxima provavelmente já ter ocorrido quando a doença se instalou na folha. Para as variáveis peso de matéria fresca e seca das folhas também não foram observadas diferenças significativas. Como as folhas já se encontravam em expansão máxima não houve interferência da doença como verificado na Tabela 8. Porém os dados podem se alterar à medida que ocorre o desenvolvimento da planta, uma vez que os processos fotossintéticos são afetados e assim a produção de fotoassimilados. À medida que as novas folhas surgirem, poderá faltar fotoassimilados para sua máxima expansão.

De acordo com Matiello et al. (1997), o uso de fungicidas triazóis aplicados via solo promovem acréscimo no vigor dos cafezais. De acordo com os autores tais fungicidas possuem a capacidade de aumentar significativamente o tamanho do sistema radicular do cafeeiro e por consequência ocorre maior absorção de nutrientes, o que acarreta em melhor desenvolvimento da parte aérea e aumento de vigor.

Matiello et al. (1993) ao estudarem o efeito dos fungicidas triadimenol (0,90 g mudas<sup>-1</sup>) e triadimenol + dissulfoton (0,5 g mudas<sup>-1</sup>) em mudas de cafeeiro observaram que quando a aplicação ocorre via solo, em formulação granulada, as doses testadas provocaram fitotoxidez nas plantas, bem como reduções na altura e no peso da matéria seca das plantas. Neste estudo tais efeitos não foram observados.

Para a variável fotossíntese líquida observa-se que as plantas dos tratamentos que receberam aplicação dos triazóis tiveram incremento significativo nos valores em relação às plantas não tratadas. As novas moléculas de triazóis como foram eficientes no controle da ferrugem proporcionou maiores valores da fotossíntese, e outro fator a ser considerado é que essas moléculas também não afetou a fotossíntese das plantas, demonstrando que não foi tóxica para as plantas.

As plantas nas quais foram administrados os tratamento observa-se que maior taxa fotossintética, levando em consideração que a área lesionada, observa-se que nos tratamentos com menor área lesionada, a fotossíntese foi maior, fato esse já esperado devido a conservação da área fotossintética.

A infecção por patógenos como a ferrugem pode afetar a taxa de fotossíntese e o metabolismo de carboidratos. Quando a ferrugem coloniza os tecidos do cafeeiro ocorre danos severos no Fotossistema II (PSII), o qual é responsável pela produção de ATP e NAPH que são usados no processo de fixação de CO<sub>2</sub>, biossíntese de carboidratos e ácidos nucleicos. Com o processo infeccioso essa rota é interrompida e conseqüentemente a produção desses compostos será reduzida, o que pode causar menor desenvolvimento da planta (VOEGELE et al., 2009, MAJOR et al., 2010).

A fotossíntese é um processo essencial nas plantas, dado que através dela que acontece a ligação entre o ambiente externo e interno da planta. De acordo com a literatura o cafeeiro possui baixos valores das taxas fotossintéticas (ARAÚJO et al., 2008; CHAVES et al., 2008; DaMATTA et al., 2008), sendo que os valores mais elevados registrados estão entre 7 e 12  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , entretanto, os valores mais frequentes estão em torno de 4 a 5  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (DaMATTA et al., 2007). Deste modo, quando se compara o café arábica e o café Conilon com a maioria das plantas lenhosas a eficiência fotossintética dos mesmos é relativamente baixa (CANNELL, 1985). No presente trabalho os valores encontrados de fotossíntese estão dentro da média para a espécie, o que indica que as novas moléculas não seriam tóxicas para as mudas, proporcionando bom desenvolvimento das mesmas. Porém, para os triazóis 9 e 10 verificou-se valores abaixo da referência na menor concentração testada, fato ocorrido devido a maior severidade da doença. Porém, à medida que aumenta a concentração da molécula ocorre redução da severidade da doença e conseqüentemente aumento do valor da fotossíntese líquida.

Resultados diferentes do encontrado nesse trabalho foi mencionado por Pupo de Moraes (1974), onde foi evidenciado que a aplicação do fungicida sistêmico de solo, do grupo dos triazóis, apresentou controle satisfatório da ferrugem, porém, as plantas que receberam a aplicação do fungicida apresentaram sintomas fitotóxicos, caracterizando menor crescimento das plantas de café. Paradela et al. (2006), analisando visualmente mudas de café arábica, na presença de fungicidas triazóis, de ação sistêmica administrados via solo, verificaram que o crescimento das mudas de café foi afetado pela ação hormonal do

granulado de solo. Segundo Castro (2006) o aumento do vigor e produção das plantas (efeito tônico) estariam relacionados com as respostas as proteínas e a biossíntese hormonal.

Os valores de condutância estomática oscilaram na faixa de  $0,03 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  nas mudas que não receberam aplicação dos triazóis (Tabela 19), já nas mudas que foram aplicados os triazóis os valores oscilaram de  $0,04$  a  $0,09 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . De acordo com DaMatta (1997) os valores para café conilon em cultivo a pleno sol estaria na faixa de  $0,16$  a  $0,73 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . O autor ainda observou que ocorreu decréscimo da condutância estomática em épocas frias quando comparada com o verão, e a intensidade foi maior em *C. arabica* L. cv. Catuaí do que em *C. canephora* Pierre cv. Conilon.

A condutância estomática está diretamente relacionada com a disponibilidade de água para a planta, como as mudas estavam sobre condições ideais de hidratação não houve diferença significativa entre os tratamentos. Os resultados encontrados demonstram que as novas moléculas não afetou a condutância estomática, ou seja apresentou valores semelhantes ao fungicida comercial.

Com relação a concentração interna de  $\text{CO}_2$ , observa-se que houve uma diferença significativa entre os tratamentos. O fungicida comercial foi o que apresentou menor valor, esse fato pode ser explicado pelo melhor eficiência na utilização do  $\text{CO}_2$  no ciclo de Calvin.

Entretanto, Carvalho et al., (2001) ao estudarem a mesma espécie no período matutino do verão, obtiveram os valores  $4,3 \mu\text{mol.m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$  para A;  $0,137 \text{ mol.m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para gs;  $2,81 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para E e  $0,736$  para a Relação  $F_v/F_m$ . Ao compararem a Eficiência Quântica do PSII entre as espécies arábica e robusta, os autores concluíram que valores maiores para do Conilon estão relacionados a maior capacidade do sistema antena, além do número e tipo de estômatos presentes nas folhas da espécie.

Quanto a transpiração não houve diferença significativa entre os tratamentos testados. Para muitas espécies cultivadas em estufas como foi feito no presente trabalho, e sob condições ótimas de nutrientes e água, ocorre um aumento na produtividade devido a uma maior concentração do dióxido de carbono em relação aos níveis atmosféricos naturais (TAIZ e ZEIGER, 2013). Muitos fatores podem afetar a taxa respiratória, como a natureza e a idade do tecido vegetal, assim como fatores ambientais, como a luz, a concentração de oxigênio, a temperatura e a concentração de  $\text{CO}_2$  (TAIZ e ZEIGER, 2013). O declínio de transpiração está associado ao fechamento dos estômatos, e variações na abertura estomática causam alterações no potencial hídrico (BRODRIBB e HILL, 2000).

Diante do exposto podemos perceber a importância do estudo dos efeitos dos fungicidas, pois levam a uma melhor elucidação do comportamento que a planta pode apresentar e também a compreensão dos impactos que esses produtos podem provocar nos mecanismos de defesa contra os fitopatógenos.

O estudo dos efeitos fisiológicos causados por fungicidas que afetam ferrugens não é frequente estudado, e no caso de café a literatura a respeito desse assunto é muito escassa para fazer um comparativo do comportamento das novas moléculas.

#### 5.4 Efeito curativo das novas moléculas de triazol

O período latente de *H. vastatrix* (Tabela 9) diferiu estatisticamente tanto entre as concentrações testadas como entre os triazóis. O efeito curativo significativo das novas moléculas possibilita estabelecer qual seriam os melhores intervalos de aplicação desses produtos.

A primeira avaliação da eficácia dos fungicidas no ensaio curativo foi realizada de forma visual 72 horas após a aplicação dos produtos, onde não foi observada nenhuma alteração. Após 12 dias da aplicação dos triazóis observou-se que as plantas sem tratamento expressavam os primeiros sintomas da doença, e, 14 dias após a aplicação dos produtos, as mudas que receberam aplicação do triazol 2 apresentavam os sinais da ferrugem. As plantas que receberam os triazóis 8 e 10 apresentaram sinais do patógeno nas concentrações de 100 e 200 µL, o triazol que se mostrou mais eficiente na avaliação curativa foi o triazol 9 que na concentração de 300 µL ocorreu a paralisação total do desenvolvimento da doença, porém os triazóis 8 e 10 na concentração de 400 µL também demonstraram paralisação total do desenvolvimento da ferrugem.

**Tabela 9-** Valores médios do período latente de *Hemileia vastatrix* em mudas de café em resposta ao tratamento curativo com diferentes concentrações (µL) das novas moléculas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 2017.

Concentração \ Triazol	0	100	200	300	400
2	30a	32b	32c	32d	32b
9	30a	35b	52b	65a	65a

8	30a	32b	32c	52b	65a
10	30a	32b	32c	45c	65a
FC*	30a	65a	65a	65a	65a

Médias seguidas pela mesma letra na colunacoluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Scott knott. \*Fungicida comercial.

O efeito curativo erradicante das novas de triazóis sobre a ferrugem pode ser explicado pela atuação na inibição do desenvolvimento do haustório ou do crescimento micelial no interior dos tecidos (FORCELINI, 1994).

No caso do presente ensaio, verificou-se que as novas moléculas de triazóis apresentaram maior resposta a partir da concentração de 300 µL, quando comparadas com as de 100 e 200 µL.

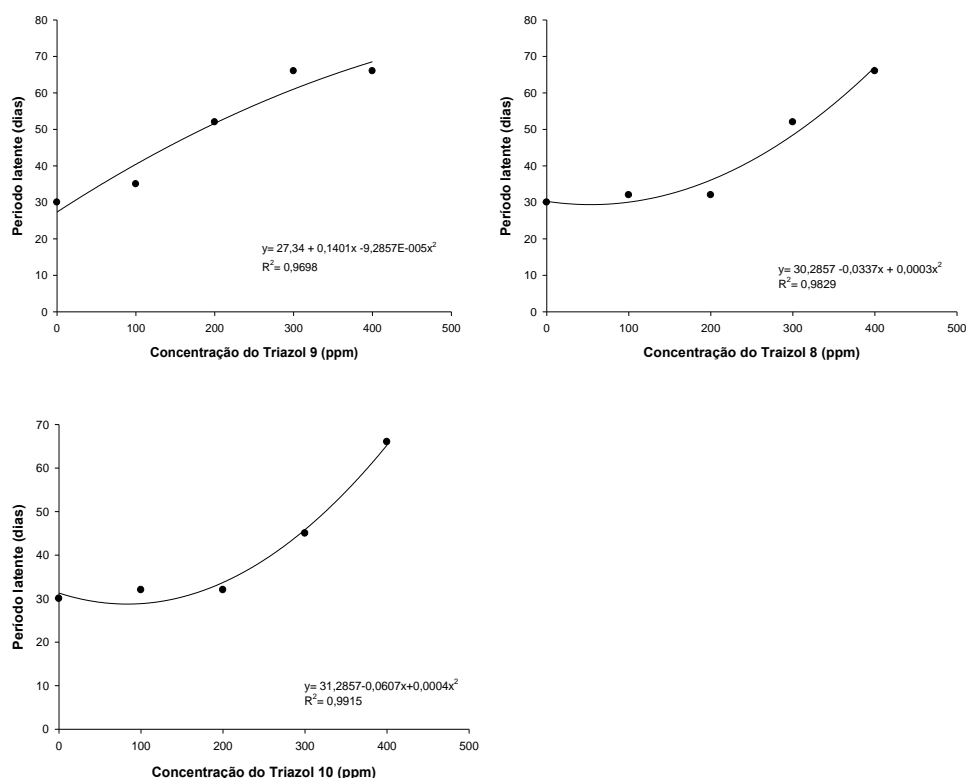
Resultados semelhantes foram obtidos por Zauza et al. (2008), que ao misturar os compostos epoxiconazole + pyraclostrobin e aplicar até sete dias após inoculação houve controle de 100% da doença. Na pesquisa desenvolvida por Souza (1991) em mudas de café a aplicação de 0,06, 0,12, 0,18 g de triadimenol aos 15 dias após inoculação das mudas com solução de uredíniosporos de *H. vastatrix* e essas concentrações demonstraram bom resultado para reduzir o desenvolvimento da doença.

Os fungicidas sistêmicos oferecem algumas vantagens em relação aos protetores como, por exemplo, desempenham efeito curativo sobre as lesões novas e a inibição de esporulação das lesões mais velhas (NUNES, 1986).

De acordo com a figura 5 pode-se observar o comportamento dos triazóis em relação a concentração, a única molécula que não apresentou diferença significativa foi o triazol 2, já as demais o melhor para representar esse comportamento foi o quadrático de regressão.

Quanto maior a concentração dos triazóis utilizadas maior o período latente da ferrugem, esses resultados demonstram que as novas moléculas de triazóis possui efeito negativo no ciclo da ferrugem, mesmo a doença já instalada na planta a formação das estruturas vegetativas é retardado ou interrompido, ou seja a ferrugem é sensível as novas moléculas ao entrar em contato com as novas moléculas.





**Figura 5:** Período latente de *H. vastatrix* em folhas de mudas de café em resposta a diferentes concentrações dos triazóis aplicados de forma curativa.

Com a aplicação de fungicidas triazóis ocorre a deficiência de ergosterol e o acúmulo de compostos intermediários nos fungos, com isso ocorre a indução e formação de membranas alternativas que leva a uma desorganização da estrutura celular do fungo causando sua morte, esse processo é considerado irreversível, estudos relatam que após a exposição ao fungicida e posteriormente forem adicionados ergosterol às células tratadas com fungicidas não ocorre a reversão do processo, uma vez que os sítios de ligação a ele destinadas já foram ocupadas por outros esteróis (KATO, 1986).

As novas moléculas de triazóis também afetaram de forma significativa a produção de estrutura reprodutiva do patógeno (Tabela 10), ou seja, os compostos tem capacidade de reduzir a quantidade de inoculo inicial e, conseqüentemente, reduziur os novos sítios de infecção. O triazol menos eficiente foi o 2, mesmo na maior concentração houve a produção de estruturas reprodutivas da ferrugem. Por outro lado, o triazol 9 foi o que apresentou melhor resultado dentre os demais testados, sendo que na concentração de 300  $\mu\text{L}$  a lesão não apresentou formação de estruturas reprodutivas. Os demais triazóis apresentaram melhor resultado na concentração de 400  $\mu\text{L}$ .

O resultado obtido é importante devido ao fato de as estruturas reprodutivas do patógeno servirem como fonte para geração de um novo sitio de infecção, se não houver a formação de estrutura reprodutivas, não ocorre novos focos de doenças, ou seja, as moléculas testadas são eficientes para entrar no mercado como nova alternativa para o controle da ferrugem. Uma substância química para ser fungicida não necessita obrigatoriamente matar o fungo.

Diante dos resultados obtidos nesse ensaio verifica-se que as moléculas comportaram como substâncias fungistáticas e antiesporulantes, pois em alguns casos as moléculas inibiram por completo o desenvolvimento da lesão e em outras atuaram inibindo a produção de esporos ou estruturas reprodutivas. De acordo com Rodrigues (2009) os triazóis com efeito curativo possuem elevada função residual, enquanto que os fungicidas protetores tem ação tóxica à germinação de esporos.

No tocante à produção de esporos (Tabela 10), os triazóis 8 e 9 foram os mais eficientes. As novas moléculas demonstraram ser eficientes tanto para controlar o aparecimento da doença como também para conter a infecção após seu estabelecimento na planta, ou seja no ocorre a quebra do ciclo da doença os novos ciclos da ferrugem que podem surgir dessas estruturas não irá ocorrer, fato esse de grande importancia quando pensamos no comportamento da doença a campo, se ocorre a redução da fonte de inoculo, a doença terá um nível muito menor, não causando prejuízo ao produtor.

**Tabela 10** - Valores médios da produção de urediniosporos ( $10^4$  esporos/ml) por área foliar lesionada de mudas de cafeeiro em resposta ao tratamento curativo com diferentes concentrações ( $\mu\text{L}$ ) das novas moléculas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.

Concentração Triazol	0	100	200	300	400
2	25a	5b	6a	3a	3a
9	25a	2d	1c	0c	0b
8	25a	4c	5b	1b	0b
10	25a	9a	5b	1b	0b
FC*	25a	0d	0d	0c	0b

Médias seguidas pela mesma letra na colunacoluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Scott knott. \*Fungicida comercial.

Matiello e Mansk (1979) obtiveram bons resultados no controle da ferrugem com triadimefon, o qual promoveu inibição do desenvolvimento das lesões e redução da produção dos uredíniosporos nas lesões adultas. Os autores observaram ainda que o triadimefon tinha maior efetividade aos 60 dias após a aplicação, demonstrando a necessidade de um maior período para que ocorra a absorção e translocação do fungicida. Ao se comparara forma de aplicação dos triazóis triadimefon e triadimenol, alguns autores têm verificado maior eficiência quando aplicados via solo (SANTINI, 1989, D'ANTONIO et al., 1990). Mansk e Matiello (1992) relataram ação positiva de fungicidas sistêmicos do grupo dos triazóis no controle da ferrugem, quando aplicados sobre plantas com índices de infecção superiores a 15%.

Quando os fungicidas triazois são aplicados na planta sua absorção ocorre rapidamente. Já em estudos realizados no Brasil com as culturas do eucalipto e goiaba, foi verificado que o triadimenol foi absorvido pelas folhas em um período de 30 minutos (RUIZ et al., 1990). A velocidade de absorção é uma característica importante para o sucesso do controle curativo, visto que quanto mais rápido o produto atingir o local de infecção do patógeno, mais rápido será sua ação no controle do mesmo.

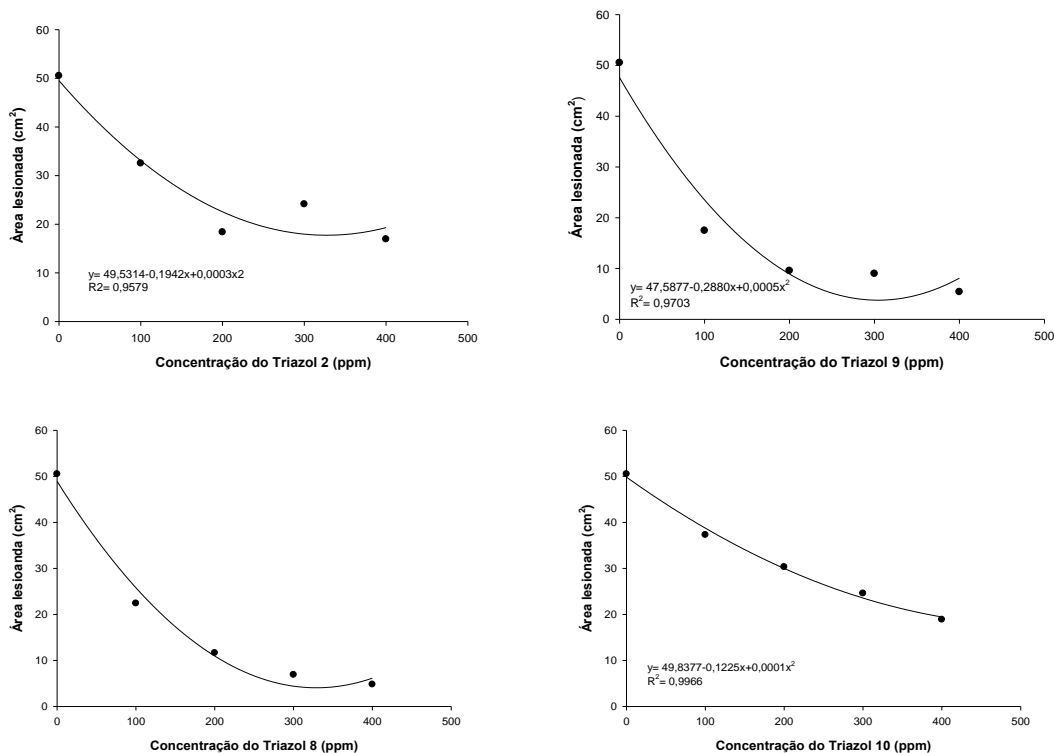
Ao se analisar a severidade ou área lesionada por *H. vastatrix* (tabela 11), os fungicidas mais eficazes foram os triazóis 9 que já na primeira concentração proporcionaram redução da severidade maior que os demais triazóis, seguido do triazol 8. Tal tendência segue nas demais concentrações, ou seja, triazóis 8 e 2 foram os que apresentaram menor expansão da lesão causada pela ferrugem. Quando se analisa a maior concentração testada (400 µL) observa-se que para os triazóis 9 e 8 a expansão da doença não ocorreu, seu desenvolvimento foi totalmente paralisado mantendo a mesma severidade do início da sua aplicação. Já o triazol que apresentou menor eficiência foi o triazol 10 mesmo na maior concentração testada houve aumento significativo na expansão da lesão. Apesar da diferença entre os triazóis, quando se compara a taxa de expansão das lesões nas plantas do tratamento controle (que não receberam aplicação de triazóis), o triazol que apresentou o pior resultado proporcionou uma redução significativa da taxa de expansão da lesão.

**Tabela 11-** Valores médios da severidade (%) de *H. vastatrix* das mudas de cafeeiro em resposta ao tratamento curativo com diferentes concentrações ( $\mu\text{L}$ ) das novas moléculas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.

Concentração \ Triazol	0	100	200	300	400
2	50,51a	32,52b	18,36b	24,12a	16,93b
9	50,51a	17,46d	9,56d	6,90c	4,80c
8	50,51a	22,41c	11,64c	8,98b	5,40c
10	50,51a	37,3a	30,32a	24,58a	18,89 <sup>a</sup>
FC*	4,70a	4,70e	4,70e	4,70d	4,70d

Médias seguidas pela mesma letra na coluna ou linha não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Scott knott. \*Fungicida comercial.

O comportamento das diferentes concentrações dos triazóis em relação severidade foi melhor ajustado pelo modelo quadrático de regressão (Figura 6), o que permite concluir que a medida que se aumenta a concentração dos triazóis há redução da severidade.



**Figura 6:** Severidade causada por *H. vastatrix* mudas de cafeeiro em resposta as diferentes concentrações dos triazóis aplicados de forma curativa.

Silva-Acuña et al. (1992) verificaram menores valores da área abaixo da curva de progresso da ferrugem quando o fungicida triadmepon foi aplicado por via foliar com até 8% de incidência da ferrugem. Quando aplicado em parcelas com intensidade de ferrugem superior a 12% ocorre queda de folhas nas plantas devido à doença.

A eficiência relativa das moléculas no ensaio curativo variou de 26,15 a 90,49% (Tabela 12). O triazol menos efetivo no controle da ferrugem foi o 10 com uma eficiência de apenas 26,15%, esse resultado também foi observado no ensaio preventivo, no qual o triazol 10 também apresentou menor eficiência relativa, enquanto que o triazol com maior eficiência relativa foi o 9, tanto no ensaio preventivo quanto curativo.

**Tabela 12-** Eficiência relativa (%) das diferentes concentrações das novas moléculas de triazóis, aplicadas de forma curativa em mudas de cafeeiro. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.

Concentração Triazol	100	200	300	400
2	35,61	63,36	52,24	66,48
9	65,54	81,07	86,33	90,49
8	55,63	76,95	82,22	89,30
10	26,15	39,97	51,33	62,60
FC	100	100	100	100

Resultados semelhantes ao desse trabalho foram encontrados por Capucho et al. (2013) ao avaliarem diferentes moléculas de triazóis aplicadas via solo (ciproconazol, triadimenol e flutriafol). Os autores observaram que mesmo sendo do mesmo grupo químico, houve diferença na eficiência das moléculas, sendo que o ciproconazol proporcionou

redução de 45,77% na intensidade da ferrugem em plantas de café conilon, enquanto que o triadimenol foi o que apresentou a menor eficiência (17,11%).

Com base nos resultados obtidos pode-se estabelecer critérios de aplicação de soluções fungicidas de acordo com a severidade da ferrugem no campo. Caso as características climáticas estejam favoráveis à doença, com médias de temperaturas diárias de 25 °C e umidade relativa do ar média igual ou superior a 90%, aplicações em caráter curativo são de suma importância no controle da ferrugem em materiais suscetíveis, em níveis infestantes iniciais (maior que 2,5% de severidade).

Todavia, é de grande importância que se realize estudo de viabilidade econômica da aplicação de produtos dentro do conjunto de manejo integrado para ferrugem, propendendo agrupar eficiência de produtos e custo de operação em níveis epidêmicos. Dentro desses níveis, o recomendado pelas pesquisas é que sejam utilizados rotação de grupos químicos de fungicidas. Como exemplo, para os triazóis recomenda-se alternar com fungicidas do grupo das estrobilurinas.

De acordo com Masson et al. (2011), essa alternância deve ser realizada se houver aumento no diâmetro de pústulas da ferrugem e aumento das pontuações de coloração amarelada após quinze dias, pois esse fato indica que o patógeno poderia estar passando por alterações fisiológicas para conseguir perpetuar sua espécie.

## 5.5 Análises fisiológicas das plantas de cafeeiro em resposta à aplicação curativa das novas moléculas de triazóis

De maneira geral observou-se que as variáveis fisiológicas das plantas não foram afetadas pela aplicação dos novos triazóis (Tabela 13). Ao se analisar o efeito da concentração dos fungicidas observa-se que a medida que se aumenta a concentração dos produtos há melhoria das variáveis fisiológicas em função, provavelmente, da redução na intensidade da doença.

**Tabela 13:** Valores médios de teor de clorofila, número de folhas, diâmetro do caule, altura das mudas, área foliar, peso de matéria seca da folha, peso de matéria seca da raiz, fotossíntese líquida, condutância estomática, concentração interna de CO<sub>2</sub>, taxa de transpiração de cafeeiro produzidas em resposta ao tratamento curativo com diferentes concentrações (µL) das novas moléculas de triazóis. CCAE-UFES, Alegre, ES, 20117.

Concentração Triazol	0	100	200	300	400
<b>Valores médios do teor de clorofila total</b>					
2	6,31a	6,14a	6,63a	6,58a	6,44a
9	6,31a	6,24a	6,75a	6,78a	6,6a
8	6,31a	6,66a	6,63a	6,69a	6,59a
10	6,31a	6,58a	5,93a	6,05a	5,42a
FC*	6,31a	6,63a	6,63a	6,63a	6,63a
<b>Valores médios do número de par de folhas</b>					
2	4,00a	6,00a	5,66a	5,66a	7,00a
9	4,00a	5,33a	6,33a	7,33a	8,00a
8	4,00a	5,66a	5,33a	7,33a	9,33a
10	4,00a	5,66a	7,00a	6,66a	7,00a
FC*	4,00a	8,00a	8,00a	8,00a	8,00a
<b>Valores médios de diâmetro do caule</b>					
2	4,43a	4,15	4,87a	4,08a	4,58a
9	4,43a	3,81aa	4,46a	4,33a	4,13a
8	4,43a	4,47a	4,77a	4,69a	4,53a

10	4,43a	4,47a	4,15a	4,28a	4,18a
FC*	4,43a	4,62a	4,62a	4,62a	4,62a
<b>Valores médio da altura de plantas</b>					
2	27,33a	25,1a	32,16a	29,16a	31,33a
9	27,33a	26,00a	30,66a	32,82a	33,50a
8	27,33a	30,00a	33,00a	33,16a	32,33a
10	27,33a	31,33a	28,33a	27,63a	26,16a
FC	27,33a	32,66a	32,66a	32,66a	32,66a
<b>Valores médios de área foliar (cm<sup>2</sup>)</b>					
2	169,08a	178,69a	200,24a	157,74a	208,4a
9	169,08a	178,36a	186,27a	205,54a	241,8a
8	169,08a	204,07a	188,58a	183,03a	230,71a
10	169,08a	183,40a	174,32a	271,53a	222,82a
FC*	169,08a	249,13a	249,13a	249,13a	249,13a
<b>Valores médios de peso da matéria seca (gramas)</b>					
2	10,17a	10,05a	11,4a	9,72a	11,16a
9	10,17a	9,89a	12,43a	11,97a	13,04a
8	10,17a	12,21a	11,35a	11,95a	12,6a
10	10,17a	9,68a	9,06a	9,74a	13,9a
FC*	10,17a	12,49a	12,49a	12,49a	12,49a
<b>Valores médio de peso da matéria seca da raiz (gramas)</b>					
2	8,71a	7,97a	14,00a	9,36a	10,20a
9	8,71a	8,6a	8,64a	9,18a	10,65a
8	8,71a	9,84a	9,26a	7,88a	7,62a
10	8,71a	9,61a	9,6a	9,36a	7,29a
FC*	8,71a	11,96a	11,96a	11,96a	11,96a
<b>Valores médios da taxa fotossintética líquida (μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)</b>					
2	3,53a	4,2a	5,56a	6,36a	6,73a
9	3,53a	7,49a	7,14a	6,81a	6,97a
8	3,53a	6,05a	6,56a	5,91a	7,68a
10	3,53a	7,3a	6,76a	5,24a	5,84a
FC*	3,53a	6,57a	6,57a	6,57a	6,57a



**Valores médios de condutância estomática ( $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )**

2	0,062a	0,057a	0,052a	0,322a	0,024a
9	0,062a	0,076a	0,059a	0,048b	0,068a
8	0,062a	0,045a	0,056a	0,050b	0,037a
10	0,062a	0,073a	0,046a	0,033b	0,037a
FC*	0,062a	0,111a	0,111a	0,111b	0,111a

**Valores médios de concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )**

2	187,12a	149,1a	175,51a	151,95a	113,16a
9	187,12a	206,48a	201,29a	162,96a	185,13a
8	187,12a	190,6a	183,06a	177,72a	177,81a
10	187,12a	173,58a	145,94a	145,71a	148,97a
FC	187,12a	193,33a	193,33a	193,33a	193,33a

**Valores médios da taxa de transpiração ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )**

2	0,95a	0,93a	0,88a	0,8a	0,43a
9	0,95a	1,73a	1,43a	1,18a	1,65a
8	0,95a	1,14a	1,35a	1,17a	0,92a
10	0,95a	0,91a	0,75a	0,55a	0,63a
FC*	0,95a	1,42a	1,42a	1,42a	1,42a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Scott knott. \*Fungicida comercial.

O teor de clorofila total não foi afetado pelos tratamentos ministrados. As mudas que receberam aplicação das novas moléculas de triazóis apresentaram maior número de par de folhas se comparado ao tratamento controle. Tal fato provavelmente ocorreu devido a maior intensidade da doença no tratamento que não recebeu aplicação dos triazóis, a qual causou desfolha nas plantas.

Além do mais os índices obtidos pelo clorofilômetro portátil SPAD podem uam ferramenta bastante útil para avaliar o estado nutricional das plantas em relação ao nitrogênio uma vez que o nitrogênio faz parte da estrutura da sua molécula (FONTES, 2001).

O numero total de par de folhas das plantas que não receberam nenhum tratamento (Tabela 27) houve uma queda com relação aos demais tratamentos. Um dos mecanismos de defesa da planta em relação ao ataque do patógeno é a queda de folhas. Capucho et al. (2011) observaram que severidade da doença de 40% para cafeeiro conilon causa queda das folhas.

No presente estudo verificou-se que as plantas suportaram uma severidade de até 50,51% antes de ocorrer desfolha.

O diâmetro do caule e a altura das plantas não foram afetados pelos novos triazóis. Este resultado pode ter ocorrido devido a baixa velocidade de expansão dos órgãos do cafeeiro, porém a medida que ocorre o desenvolvimento das plantas pode ocorrer redução do desenvolvimento devido a presença da ferrugem.

A área foliar também não foi afetada significativamente pelos tratamentos ministrados. Porém, quando se compara as concentrações testadas observa-se que ocorre aumento de área foliar com o aumento da concentração testada. Tal fato pode ser explicado pela maior intensidade da doença no tratamento controle.

Os valores de peso da matéria fresca e seca diferiram significativamente. Na concentração de 100 ppm todas as moléculas testadas foram estatisticamente iguais, porém quando esse valor é comparado com o fungicida comercial observa-se um maior valor dessa variável, como nessa concentração todas as plantas apresentaram um maior desenvolvimento da doença, levando em conta que a ferrugem afeta o sistema fotossintético da planta, esse fato pode ter levado a uma menor produção de biomassa pela planta. Na concentração de 200 ppm observa-se que o triazol 10 já apresentou diferença dos demais e obteve um menor valor, a concentração de 300 ppm os triazóis 8 e 9 foram os que apresentaram melhor resultado e se equiparou ao fungicida comercial utilizado, na maior concentração testada o único triazol que apresentou diferença foi o 2 com o menor valor de massa fresca, isso ocorreu devido ao fato da expansão e desenvolvimento da ferrugem que acaba reduzindo a capacidade de acúmulo de biomassa, esse resultado também está de acordo com as demais variáveis analisadas anteriormente, na qual o triazol 2 vem demonstrando o pior resultado.

Já quando analisa-se a massa seca das folhas não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos, ou seja, se relacionar com a massa fresca pode-se observar que as plantas tratadas com as novas moléculas, apresenta diferença no acúmulo de água em suas estruturas.

Os valores de massa seca da raiz não apresentaram diferença significativa apesar de a massa fresca ter apresentado diferença significativa a massa fresca, o que pode ter ocorrido é o fato de a diferença da massa fresca ser por causa da quantidade de água retida nas plantas, quando uma planta ela sofre estresse fisiológico como por exemplo o ataque de algum patógeno, ela fica debilitada e a quantidade de água retida é menor quando em condições normais.

A taxa fotossintética das plantas aumentou com o incremento na concentração dos triazóis testados. Tal resultado pode ser explicado pelo fato de que com o aumento da concentração há diminuição na intensidade da doença, e, conseqüentemente, maior área foliar fotossinteticamente ativa.

Os dados da literatura demonstram que as plantas que sofrem estresse por patógenos tendem a ter menor rendimento da fotossíntese. Honorato Junior et al. (2015), ao avaliarem a variável Fv/Fm (Rendimento quântico máximo do fotossistema II) obtida através da imagem da fluorescência da clorofila a, observaram que a colonização dos tecidos pela ferrugem afetou a capacidade fotossintética de *Coffea arabica* mesmo antes do aparecimento de sintomas visuais. Neste mesmo trabalho também foi analisado o efeito dos fungicidas epoxiconazol (triazol) e piraclostrobina (estrobilurina) nas pústulas das ferrugens, os resultados encontrados demonstraram que as pústulas em folhas pulverizadas com epoxiconazol foram menores que as do tratamento controle mas, maiores do que as tratadas com piraclostrobina, porém os valores do parâmetro Fv/Fm no epicentro das pústulas foram menores do que os do tratamento controle.

As variáveis condutância estomática, concentração interna de CO<sub>2</sub> e taxa de transpiração (Tabelas 36, 37 e 38) não diferiram significativamente entre os tratamentos testados. Há poucos relatos na literatura sobre o efeito dos triazóis na fisiologia das plantas. Alguns autores relatam que as moléculas do grupo dos triazóis conseguem atuar nas rotas de regulação do crescimento e da maturação das plantas, promovendo a inibição da atividade da enzima sintase ACC (ácido 1-aminocloropropano-1- carboxílico), que tem a função de converter o ACC em etileno, provocando desbalanço do ácido giberélico e promovendo inibição da sua biossíntese, interferindo também no ácido abscísico e citocininas (RADEMACHER, 2000; HAJIHASHEMI et al., 2007; SANKAR et al., 2014).

Rodrigues et al. (1998) verificaram que as moléculas de triazóis, ao induzir a biossíntese de citocinina fazem com que as plantas apresentem folhas com coloração verde escura e também proporcionam aumento da concentração de clorofilas, acarretando melhor atividade metabólica e enzimática, que por consequência leva a aumento da produtividade.

Pan et al. (2013) demonstraram que ocorreu aumento na produtividade de grãos de duas cultivares de arroz mediante a aplicação de paclobutrazol, fato esse explicado devido a maior atividade enzimática das plantas. Espindula et al. (2009) comentam que a aplicação de triazol pode contribuir, também, para a redução de acamamento em plantas de trigo em virtude da

menor altura de plantas proporcionada pela molécula. Contudo, os autores não observaram incrementos na produtividade de grãos para esse tratamento.

Vale ressaltar, no entanto, que o efeito dos fungicidas em plantas de cafeeiro conillon infectados por *H. vastatrix*, especificamente na taxa fotossintética, condutância estomática, concentração interna de CO<sub>2</sub>, transpiração, foram muito pouco investigados. Os estudos devem focar não somente em resultados isolados, mas tentar entender a complexidade das alterações fisiológicas acarretadas pelas interações patógeno x hospedeiro, fungicida x planta e fungicida x patógeno. No presente estudo buscou-se analisar o efeito das moléculas inéditas de triazois nos três possíveis interações citadas.

## 7. CONCLUSÕES

É imprescindível buscar novos caminhos para alcançar a qualidade e o desenvolvimento sustentável do cafeeiro e assim conseguir vencer a competitividade no comércio internacional. Isso implica na reavaliação das técnicas de produção e manejo, tendo em vista que os consumidores, mais e mais, querem garantias, não só da qualidade dos produtos, mas também da qualidade da produção. Com base nos resultados obtidos neste trabalho verifica-se que as novas moléculas de triazóis sintetizadas a partir do glicerol possuem eficiente atividade fungicida sobre a germinação dos urediniósporos de *H. vastatrix* e sobre o desenvolvimento da ferrugem na planta.

As novas moléculas de triazóis foram eficientes na redução do número de urediniosporos de *H. vastatrix* e na diminuição da intensidade da ferrugem.

Os triazóis inéditos não afetaram as variáveis fisiológicas das plantas de cafeeiro, ou seja, não causaram fitotoxidez às plantas.

Esses novos fungicidas são promissores para serem utilizados no manejo da ferrugem do cafeeiro.

Sendo assim, o glicerol apresenta-se como matéria prima viável para síntese de novos fungicidas. Os dados gerados fornecem subsidios para que se avancem com as pesquisas testando os triazóis inéditos em campo.

## 8. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, S. R. **Doenças do Cafeeiro**. In: RENA, A. B. et al. Cultura do Cafeeiro, fatores que afetam a produtividade. 1. ed. Piracicaba: Potafós, 1986. p. 391-399.
- ANDROCIOLI, H.G.; MENEZES JUNIOR, A. De O.; HOSHINO, A.T.; ANDROCIOLI, L.G. Produtos alternativos no controle da *Hemileia vastatrix* (Berkeley & Broome) e *Cercospora coffeicola* (Berkeley & Cooke) em cafeeiros. **Coffee Science**, v.7, p.187-197, 2012.
- BEROVA, M.; ZLATEV, Z. Physiological response and yield of paclobutrazol treated tomato (*Solanum esculentum* Mill.). **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 30, p. 117-123, 2000.
- BROWN, J. S. et al. The effect of coffee leaf rust on foliation and yield of coffee in Papua New Guinea. **Crop Protection**, Oxford, v.14, n. 7, p.589-592, 1995.
- BUCHENAUER H, ROHNER E. (1981) Effects of triadimefon and triadimenol on growth of various plant species as well as on gibberellin content and sterol metabolism in shoot of barley seedlings. **Pesticide Biochemistry Physiology** 15:58-70
- CAPUCHO, A. S.; ZAMBOLIM, L.; LOPES, U. N.; MILAGRES, N. O controle químico da ferrugem do cafeeiro em *Coffea canephora* cv. Conilon. **Australasian Plant Pathology**, Volume 42, Issue 6, pp 667-673, 2013.
- CAPUCHO, A. D. **Epidemiologia e resistência do cafeeiro conilon à ferrugem**. Espírito Santo: Universidade Federal de Viçosa, out. 2011.
- CARVALHO, V.L. Influência de diferentes níveis de produção sobre a evolução da ferrugem do cafeeiro e sobre teores foliares de compostos fenólicos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 1, p. 49-54, 2001.
- CASTRO, P. R. C. **Agroquímicos de controle hormonal na agricultura tropical**. Piracicaba: ESALQ/Divisão de Biblioteca e Documentação, 2006. 46 p

CONAGIN, C. H. T. M.; MENDES, A. J. T. Pesquisas citológicas e genéticas em três espécies de *Coffear*, autoincompatibilidade em *Coffea canephora*. **Bragantia**, v.20, p. 787-804, 1961.

DAMATTA, F.M.; RONCHI, C.P.; MAESTRI, M.; BARROS, R.S. Coffee: environment and crop physiology. In: DaMatta FM (Ed.). **Ecophysiology of Tropical Tree Crops**. Nova Science Publishers, Inc, New York, p.181-216. 2010.

ENGEL, V. L. 1989. **Influência do sombreamento sobre o crescimento de mudas de essências nativas, concentração de clorofila nas folhas e aspectos de anatomia**. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, Piracicaba, 202 p. (Dissertação de Mestrado).

FERREIRA, S. A.; BOLEY, R. A. *Hemileia vastatrix*. 1991. Disponível em: <[http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/type/h\\_vasta.htm](http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/type/h_vasta.htm)> Acesso em: 9 de nov. de 2014.

FLETCHER, R. A. et al. Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. **Horticulture Reviews**, Milton, v. 24, p. 55-138, 2000.

GAO J, HOFSTRA G, FLETCHER RA. (1988) Anatomical changes induced by triazoles in wheat seedlings. **Canadian Journal of Botany** 66:1178-1185.

GODOY, C.V.; BERGAMIN-FILHO, A.; SALGADO, C.L. **Doenças do Cafeeiro**. In: KIMATI, H. et al. Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Ceres, v. 2, 1997. p.184-200.

GOPI R, SUJATHA BM, RAJAN SN, KARIKALAN L, PANNEERSELVAM R. (1999) Effect of triadimefon in the NaCl stressed cowpea (*Vigna unguiculata*) seedlings. **Indian Journal of Agricultural Science** 69:743-745.

GUIRONG C, LIN X, KAIJIUN W, YAN ZA, YIJU P, YUMING I, XIANG WM. (1995) The physiological and yield increasing effects of multi-effect triazole treatment of green house rice seedling. *Henan Nongye Kexue*, No.2, 2-4. (ch, 5 ref). **Xinyang Higher Agriculture Training School**, China.

HAIJHASHEMI, S. et al. Exogenously applied paclobutrazol modulates growth in saltstressed wheat plants. **Plant Growth Regulation, Dordrecht**, v. 53; n. 2, p. 117-128, 2007.

HONORATO JÚNIOR, J.; ZAMBOLIM, L.; AUCIQUE-PÉREZ, C. E.; RESENDE, R. S.; RODRIGUES, F. A. Photosynthetic and antioxidative alterations in coffee leaves caused by epoxiconazole and pyraclostrobin sprays and *Hemileia vastatrix* infection. **Pesticide Biochemistry and Physiology** Volume 123, September 2015, Pages 31–39, 2015

JALEEL CA, GOPI R, PANNEERSELVAM R. (2008) Growth and photosynthetic pigments responses of two varieties of *Catharanthus roseus* to triadimefon treatment. **Comptes Rendus Biologie** 331:272-277.

KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de fitopatologia**. v.2: Doenças das Plantas Cultivadas. 3ed., São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. 774p.

LONDOÑO G.; LEGUIZAMÓN, J.; MONTOYA, E. Evaluación del fungicida Cyproconazol para el control de la roya del cafeto *Hemileia vastatrix* Berk. y Br. **Cenicafé** 46(1):56-62. 1995.

LOPES, U. P. et al. Silicon and triadimenol for the management of coffee leaf rust. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 162, n. 2, p. 124-128, 2014.

MARQUES, M.C.; GARCÍA, I.P.; SILVA, V.T.A.; SILVA, R.F.; FURTADO, E.L. Avaliação de fungicidas triazóis no controle de doenças foliares na cultura do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) em tratamento preventivo. **Summa Phytopathologica**, v. 24(1), p. 81, 1998.

MASSON, Marcus Vinicius et al. Eficiência e viabilidade econômica do controle químico da ferrugem do eucalipto em condições de campo. **Summa phytopathol. [online]**. 2011, vol.37, n.2, pp.107-112.

MATIELLO, J.B. **Café Conilon: como plantar, tratar, colher, preparar e vender**. Rio de Janeiro:MAA/SDR/PROCAFÉ/PNFC, 1998. 162p.



MIGUEL, A.E.; MATIELLO, J.B. Estudo do comportamento do fungicida sistêmico Bayleton aplicado no solo em diversas doses e em diferentes épocas. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE PESQUISAS CAFEIIRAS, 9, 1981, São Lourenço. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1981. p.52-53.

MORAES, S.A. **A ferrugem do cafeeiro: importância, condições pré-disponentes, evolução e situação no Brasil.** Campinas: IAC, 1983. 50p. (Circular Instituto Agrônomo, 119).

MUTHUKUMARASAMY M, PANNEERSELVAM R. (1997) Triazole induced protein metabolism in the salt stressed Raphanus sativus seedlings. **Journal of the Indian Botanic Society** 76:39-42.

PAN, S. et al. Roles of plant growth regulators on yield, grain qualities and antioxidante enzyme activities in super hybrid rice (*Oryza sativa* L.). **Rice**, Dordrecht, v. 6, n. 1, p. 1-9, 2013.

PARADELA, A. L et al. Avaliação do índice de fitotoxidez de triazóis em mudas de café e eficiência dos triazóis aplicados via foliar no controle da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeeiro (*coffea arabica*). **Fitopatologia Brasileira**. v.32, n.2, 2006.

PARADELA, A. L. et al. Avaliação do índice de fitotoxidez de triazóis em mudas de café e eficiência dos triazóis aplicados via foliar no controle da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeeiro (*Coffea arabica*). **Ecossistema**, v. 32, n. 2, p. 72-81, 2005.

PAULINO, A.J.; MATIELLO, J.B.; PAULINI, A.E. 1985. **Produção de mudas de café conilon por estacas.** Rio de Janeiro, RJ: MIC/IBC/GERCA, 12 p. (IBC/GERCA. Instruções técnicas sobre a cultura de café no Brasil, 18).

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

RADEMACHER, W. Growth retardants: effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 51, p. 501-531, 2000.

RIBOU SB, DOUAM F, HAMANT O, FROHLICH MW, NEGRUTIU I. (2013) Plant science and agricultural productivity: Why are we hitting the yield ceiling. **Plant Science** 210:159-176.

RIVILLAS C.A.; LEGUIZAMÓN J.E.; GIL L.F.; DUQUE, H. Recomendaciones para el manejo de la roya del cafeto en Colombia. 2. ed. Boletín Técnico **Cenicafé** 19:1-36.2005.

RODRIGUES, J. D.; ONO, E. O.; FOLONI, L. L. Efeito da aplicação de uniconazole na cultura da soja [(*Glycine max* (L.) Merrill cv IAC-17)]. **Ciência Agrícola**, Piracicaba, v. 55, n. 2, p. 313-319, 1998.

RODRIGUES, M. A. T. **Avaliação do efeito fisiológico do uso de fungicidas na cultura de soja**. [Tese]. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba; 2009.

ROZO P., Y.I.; CRISTANCHO A., M.A. Evaluación de la susceptibilidad de **Hemileia vastatrix** Berk. & Br., a fungicidas del grupo de los triazoles. **Cenicafé**, 61(4):297-314. 2010.

SANKAR, B. et al. Variation in growth of peanut plants under drought stress condition and in combination with paclobutrazol and abscisic acid. **Current Botany**, Kerala, v. 5, n.1, p. 14-21, 2014.

SIERRA, C.A.; MONTOYA, E.C.; VELEZ, R.C. Nivel de dano y umbral economico para la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk. & Ber.). **Fitopatologia Colombiana**, Cali, v. 19, n. 2, p.43-48, 1995.

STREIT, N. M., CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 748-755. 2005.

SUJATHA BM, GOPI R, KARIKALAN L, RAJAN SN, PANNEERSELVAM R. (1999) Effect of triadimefon treatment on bhendi (*Abelmoschus esculantus* (L.) moench.) seedlings under salinity condition. **Indian Journal of Plant Physiology** 4:307-310.

SYNGERTA **Soluciones Syngenta para el control químico de roya y otras enfermedades en café**. Disponible em: <  
<http://amecafe.org.mx/downloads/Entregables%201.2/VII.Soluciones%20%20Syngenta%2>

[Opara%20el%20control%20de%20enfermedades%20en%20caf%C3%A9v2.pdf](#)> Acesso em: 20 de nov.de 2014.

TÓFOLI, J.G.; OLIVEIRA, S.H.F.; DOMINGUES, R.J.; SANTOS J.M.F.; MARTINS, E.M.F. Desempenho de azoxystrobin no controle da ferrugem do cafeeiro sob condições de chuva induzida. **Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo**, v.69, n.3, p.93-96, 2002.

Vale, F. X. R.; Zambolin, L.; Jesus Junior, W. C. de. Efeito de fatores climáticos na ocorrência e no desenvolvimento da ferrugem do cafeeiro. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (1.: 2000 : Poços de Caldas, MG). **Resumos expandidos**. Brasília, D.F.: Embrapa Café; Belo Horizonte : Minasplan, 2000. 2v. (1490p.), p. 171-174.

VENTURA, J. A.; COSTA, H.; SANTANA, E. N.; MARTINS, M. V. V.; **Diagnóstico e Manejo das Doenças do Cafeeiro Conilon (*Coffea canephora*)**. In: FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A.; BRAGANÇA, S. M.; FERRÃO, M. A. G. & MUNER, L. H.; **Café Conilon**. 1ª Ed., pag 453-497 – Vitória, ES: Incaper, 2007.

ZAMBOLIM, L. et al. **Café (*Coffea arabica* L.), controle de doenças causadas por fungos, bactérias e vírus**. In: VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L. (Eds.). Controle de doenças de plantas. v. 1. Viçosa, 1997, p. 83-180.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. do; COSTA, H.; PEREIRA, A.; CHAVES, G. M.; **Epidemiologia e controle integrado da ferrugem do cafeeiro**. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.), O estado da arte de tecnologias na produção de café. Viçosa, MG: UFV, 2002. p. 369-450.

ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM, E.M.; CAIXETA, E.T.; JESUS JUNIOR, W.C. **Características rastreáveis do manejo integrado das doenças do cafeeiro**. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). Rastreabilidade para a cadeia produtiva do café. Viçosa: Departamento de Fitopatologia, UFV. 2007. p.85-128.

FORCELINI, C. A. **Resistência de fungos a fungicidas**. Revisão Anual de Patologia de Plantas, Passo Fundo, 1994. v. 2, p. 335-355.

FORCELLINI, C. A.; GOELLNER, C. I.; MAY-DEMIO, L. L. Resistência de fungos a fungicidas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.9, p.339-381, 2001.

GADHER, P., MERCER, E. I., BALDWIN, B. C., WIGGINS, T. E. A. Comparison of the potency of some fungicides as inhibitors of sterol 14-demethylation. **Pestic. Biochem. Physiol.**, v.19, p.1-10, 1983.

GOETZ, A., REN, H., SCHMID, J., BLYSTONE, C., THILLAINADARAJAH, I., BEST, D., NICHOLS, H., STRADER, L., WOLF, D., NAROTSKY, M., ROCKETT, J. & DIX, D., 2007, Disruption of testosterone homeostasis as a mode of action for the reproductive toxicity of triazole fungicides in the male rat. **Toxicological Sciences**, 95, 227-239.

GOODMAN, L.S.; GILMAN, A. (Eds); BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. Goodman & Gilman: **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9ª ed. São Paulo: McGraw-Hill, 1999. p. 864-875.

GOULART, A. C. P. **Fungicidas inibidores do estero**l. II. Imidazoles. Revisão Anual de Patologia de Plantas, Passo Fundo, 1995. v. 3, p. 365-390.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. **Total production of exporting countries**. Disponível em: <<http://dev.ico.org/prices/po.htm>>. Acesso em: 12 oct. 2014.

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

MABBETT, T. Rust continues to corrode coffee yields. **International Pest Control**, Uxbridge, v. 1, p. 170-171, 1998.

MANSK, Z.; MATIELLO, J.B. Avaliação comparativa de fungicidas sistêmicos "triazóis" aplicados sobre o cafeeiro em duas situações de infecção de ferrugem (*H. vastatrix*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 18., Araxá – MG, 1992. Anais... p. 19-21.

MATIELLO JB, ALMEIDA SR (2006). **A ferrugem do cafeeiro no Brasil e seu controle**. MAPA/PROCAFE, Varginha, 98p.

MATIELLO, J.B. Novos sistemas de controle da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*) com produtos sistêmicos e integração com o controle do bicho-mineiro (*P. coffeella*). In:

CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 16., Espírito Santo do Pinhal-SP, 1990. Anais... p. 49-51.

MATIELLO, J.B.; ALMEIDA, S.R. **Variedades de café – como escolher, como plantar.** Boletim Técnico MA/PROCAFÉ, 1997, 64p.

MATIELLO, J.B.; ALMEIDA, S.R.; VILELA, J. E AZEVEDO, P.J.C. (1993) - Efeito de fungicidas em mudas de café, no controle de cercosporiose, no sistema radicular e parte aérea e no pós-plantio. In: 19º Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras. Três Pontas. Rio de Janeiro, Mapa/Procafe 1993, p. 20-21.

MATIELLO, J.B.; MANSK, Z. Atividade do fungicida sistêmico triadimefon via sistema radicular do cafeeiro no controle da ferrugem. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 7., 1979, Araxá. Resumos... Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1979. p.180-181.

MENDONÇA, P.L.P.; BARBOSA, J.A.C.; NAVARRO, V.J.C.; BEGLIOMINI, E. Variação de doses de Opus (Epoconazole) aplicado em diferentes níveis de infecção da ferrugem do cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 25., Franca-SP, 1999. Anais... p. 46-48.

MARTINS, A.N.; SILVEIRA, A. P. DA; FURTADO, E.L. Evaluation of Benzalkonium Chloride on the control of coffee leaf rust. **Summa Phytopathologica**, v.35, n.2, p.145-145, 2009.

NUNES, A.M.L. **Tempo de absorção, efeito protetor, curativo e de translocação de fungicidas no controle da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix* Berk & Br).** Viçosa: UFV, 1986. 91p. Tese de Mestrado.

SILVA, A.R. et al. Controle da ferrugem em cafeeiros sombreadas com formulações de triadimenol combinadas com oxiclóreto de cobre na Venezuela. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 19, n. 3-4, p. 189-194, 1993.

SILVA-ACUNÃ, R.; ZAMBOLIM, L.; GONZALEZMOLINA, E. de C. Controle da ferrugem do cafeeiro com triadimenol via solo, na Venezuela. **Fitopatologia Brasileira**, v.18, n.1, p.70-75, mar. 1993.

SILVA-ACUÑA, R.S.; ZAMBOLIM, L.; VENEGAS, V.H.A.; CHAVES, G.M. Relação entre a produção de grãos, o teor foliar de macronutrientes e a severidade da ferrugem do cafeeiro. **Revista Ceres**, v. 224, p. 365-377, 1992.

SOUZA, M.T. **Ação protetora e curativa dos compostos triadimenol e aldicarb em mudas de cafeeiro no controle da ferrugem causada por Hemileia vastatrix**. 1991. 76 f. Dissertação (Mestrado de Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1991.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; MACABEU, A.J. Nova opção de controle da ferrugem do cafeeiro pela aplicação de triadimenol via solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 14, Campinas-SP, 1987. Anais. p. 36-38.

**COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=2>> Acesso em 17 de Nov. de 2014.

Costa, R., 2008. **Glicerina: o tamanho do problema**. **Biodiesel br**, v.1, n.3. Paraná, 16-20.  
AMICONE, J. Fungicide resistance management. Oklahoma: Oklahoma State University, 2004. Disponível em: <<http://pods.dasnr.okstate.edu/docushare/dsweb/Get/Document-2317/F-7663web.pdf>>. Acesso em: 09 jul. 2014.

LACROIX, G. & MERCER, R. **Fungicide Fenomen**. Technical Bulletin, 2001. 35p.

MOTA, C. J. A.; PESTANA, C. F. M. Co-produtos da Produção de Biodiesel. **Rev. Virtual Quim**. V. 3, No. 5, p. 416-425, 2011.

**R DEVELOPMENT CORE TEAM** (2011). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

AGRIOS, G. N. Plant diseases caused by fungi. In: AGRIOS, G. N. Plant pathology. 5 ed. New York: Elsevier Academic, 2005. p. 385-614.

AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Consulta de pragas, Brasília, DF, 2014. Disponível em: . Acesso: 30 mai. 2014.

BAMPI, D. et al. Sensibilidade de *Stenocarpella macrospora* a fungicidas. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 4, p. 787-795, 2013.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. F. Química Medicinal: As Bases Moleculares de ação de Fármacos. 2º ed. Porto Alegre: Artmed, 2008, p.53.

EICHER, T.; HAUPTMANN, S.; SPEICHER, A. The chemistry of heterocycles: structure, reactions, synthesis and Applications. 3 ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2003. p.15.

FERREIRA, J. B. et al. Sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* (mancha manteigosa do cafeeiro) a diferentes concentrações de fungicidas. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.33, n.spe, p.2052-2058, 2009.

FRAC – Fungicide Resistance Action Committee. FRAC code list ©\*2014: fungicides sorted by mode of action (including FRAC code numbering), 2014. Disponível em: . Acesso: 01 jun. 2014.

HOLB, I. J.; SCHNABEL, G. Differential effect of triazoles on mycelial growth and disease measurements of *Monilinia fruticola* isolates with reduced sensitivity to DMI fungicides. *Crop Protection*, v.26, v.5, p.753-759, 2007.

ZAUZA, E. Â. V. Eficiência de fungicidas sistêmicos no controle da ferrugem do *Eucalyptus*. *Revista Árvore*, Viçosa, v.32, n.5, p.829-835, 2008.

Araújo WL, Dias PC, Moraes GABK, Celin EF, Cunha RL, Barros RS, DaMatta FM (2008) Limitations to photosynthesis in coffee leaves from different canopy positions. *Plant Physiol Biochem* 46: 884-890.

BRODRIBB, T. J.; HILL, R. S. Increases in water potential gradient reduce xylem conductivity in whole plants. Evidence from a low-pressure conductivity method. **Plant Physiol.**, v. 123, n. 3, p. 1021-1028, 2000.

Cannell MG (1985) Fisiologia da cultura do café. Em: Clifford MN, Willson KC (eds), *Café - Botânica, Bioquímica e Produção de Feijão e Bebida*, pp.108-134. Crom Helm, Londres.

FERRÃO, M. A. G.; FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A.; VERDIM FILHO, A. C.; VOLPI, P. S. Origem, dispersão geográfica, taxonomia e diversidade genética de *Coffea canephora*. In: Ferrão, R. G. et al. (ed.). *Café conilon*. Vitória, ES: Incaper, 2007. p. 66-91.

Coutinho, T; Rijkenberg, F e Van Asch, M. 1993. Formação de Appressorium por *Hemileia vastatrix* . Pesquisa micológica. 97 (8): 951-956.

FIGUEIREDO, P. et al. Flutuação da ferrugem do cafeeiro no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE PESQUISAS CAFEIRAS, 2.,1974, Poços de Caldas. Resumos... Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1974. p.101-102.

DaMATTA, F. M. & MAESTRI, M. Photoinhibition and recovery of photosynthesis in *Coffea arabica* and *C. canephora*. **Photosynthetica**, v. 34, p. 439-446, 1997.

DaMATTA, F. M.; RONCHI, C. P.; MAESTRI, M. BARROS, R. S. Ecophysiology of coffee growth and production. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 19, n.4, p. 485-510, 2007.

DaMATTA, F. M.; CUNHA, R. L.; ANTUNES, W. C.; MARTINS, S. C. V.; ARAUJO, W. L.; FERNIE, A. R. MORAES, G. A. B. K.JX In field-grown coffee trees source–sink manipulation alters photosynthetic rates, independently of carbon metabolism, via alterations in stomatal function. **New Phytologist**, v. 178, p. 348-357, 2008.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos, RiMa, 2000.

Major J, Lehmann J, Rondon M, Goodale C (2010) Fate of soil-applied black carbon: downward migration, leaching and soil respiration. *Glob Chang Biol* 16:1366–1379.

NASCIMENTO, A.B.; OLIVEIRA, G.M.; FONSECA, I.C.B.; ABI-SAAB, O.J.G.; CANTERI, M.G. Determinação do tamanho da amostra de papéis hidrossensíveis em experimentos ligados à tecnologia de aplicação. *Semina*, v. 34(6): 2687-2696, 2013.

KATO, T. 1986. Sterol biosynthesis in fungi, a target for broad spectrum fungicides. In: Haug, G. & Hoffmann, H. *Chemistry of plant protection: sterol biosynthesis inhibitors and anti-feeding compounds*. Springer-Verlag, p.1-24.

NOGUEIRA, E.M. de C. 1991. Controle da ferrugem (*Tranzschelia discolor* (Fckl) Tranz, & Litv.) em nectarina *Prunus persica* var. *nucipersica*. *Summa Phytopathol.* 17:28



NOGUEIRA, E.M. de C. & SANTOS, A.J.T. dos. 1992. Avaliação de fungicidas no controle do mal de sigatoka ou sigatoka amarela da bananeira. Summa Phytopathol. 18:34.

NOGUEIRA, E.M. de C. 1993. Avaliação de fungicidas no controle à sarna (*Venturia inaequalis*) da macieira. Summa Phytopathol. 19:46.

RENA, A.B.; MAESTRI, M. Fisiologia do cafeeiro. In: RENA, A.B.; MALAVOLTA, E.; ROCHA, E.; YAMADA, T. (Ed.). **Cultura do cafeeiro: Fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1986. p. 13-85.

RODRIGUES, M. A. T. “**Classificação de fungicidas de acordo com o mecanismo de ação proposto pelo FRAC**”. 2006. 249f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

SANTINI, A. Estudo do efeito de fungicidas no controle da ferrugem do feijão (*Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth.). Fitopatologia Brasileira, Brasília, 14(2):145, 1989. (Resumo)

SOUZA, M.T. de. **Ação protetora e curativa dos compostos triadimenol e aldicarbe em mudas de cafeeiro no controle da ferrugem causada por *Hemileia vastatrix***. Lavras: UFLA, 1991. 76p. Tese de Mestrado.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.

Voegelé RT, Hahn M, Mendgen K. (2009) The Uredinales: cytology, biochemistry, and molecular biology. In: Deising HB (ed) and Esser K (Ser ed) Plant relationships. The Mycota, vol. 5. 2nd ed.