



**Flávia Capelossi Avino**

**NANOPARTÍCULAS, AGENTE DE BIOCONTROLE E  
ÓLEO ESSENCIAL NO CONTROLE DA FERRUGEM DO  
CAFEEIRO**

**LAVRAS-MG  
2022**

**FLÁVIA CAPELOSSI AVINO**

**NANOPARTÍCULAS, AGENTE DE BIOCONTROLE E  
ÓLEO ESSENCIAL NO CONTROLE DA FERRUGEM DO  
CAFEIEIRO**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Ciências Biológicas, para a obtenção do título de Licenciada.

Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza  
Orientador

Ms. Felipe Douglas Soares Leal  
Coorientador

**LAVRAS-MG  
2022**

**FLÁVIA CAPELOSSI AVINO**

**NANOPARTÍCULAS, AGENTE DE BIOCONTROLE E ÓLEO ESSENCIAL  
NO CONTROLE DA FERRUGEM DOCAFEEIRO**

**NANOPARTICLES, BIOCONTROL AGENT AND ESSENTIAL OIL IN THE  
CONTROL OF COFFEE RUST**

Monografia apresentada à  
Universidade Federal de Lavras, como  
parte das exigências do Curso de  
Ciências Biológicas, para a obtenção  
do título de Licenciada.

APROVADA em 02 de dezembro de 2022.

Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza - UFLA

Me. Felipe Douglas Soares Leal - UFLA

Me. Mário Roberto Nogueira Colares - UFLA

Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza  
Orientador

Me. Felipe Douglas Soares Leal  
Coorientador

**LAVRAS-MG  
2022**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus e Nossa Senhora por toda força e coragem nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais e familiares por todo apoio e paciência.

Ao Laboratório de Micologia da Universidade Federal de Lavras por todo ensinamento durante anos.

Ao Laboratório de Epidemiologia da Universidade Federal de Lavras por todo apoio, ensinamento e oportunidade para que esse projeto fosse capaz de ser realizado.

Ao professor Dr. Edson Ampélio Pozza por sua orientação, dedicação, acolhimento, confiança e reponsabilidade.

Ao Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras.

Ao meu coorientador Me. Felipe Douglas Soares Leal, por toda paciência, dedicação, ensinamento, oportunidade, incentivo e responsabilidade ao longo do projeto.

Ao técnico do laboratório Silvio Calazans, por todo auxílio e dedicação.

A República Poucas e Boas por toda paciência e auxílio.

Aos meus amigos do Laboratório de Epidemiologia, Mário, Felipe, Pedro, Victor, Vitória, Matheus, Renata, Andreane.

As amigadas construídas ao longo dos anos de graduação.

Aos meus amigos de Jardinópolis, João Pedro, Letícia, Bia, Maria Rita, Carol, por todo apoio e carinho.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) por todo apoio no Laboratório de Epidemiologia.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

**Obrigada!**

## RESUMO

O Brasil é considerado o maior produtor e exportador de café do mundo e o estado de Minas Gerais é considerado o maior produtor de café do Brasil, responsável por mais de 50% da produção nacional. Atualmente, as exigências por cafés certificados quanto a sua qualidade e origem, fez com que a cafeicultura evoluísse para atender a principais demandas do mercado consumidor, como por exemplo, menores doses dos ingredientes ativos por hectare e o uso de produtos mais sustentáveis, de forma que, o cafeicultor tenha o retorno financeiro. Contudo, existem fatores capazes de interferir na produtividade e qualidade do café, entre eles, destacam-se as doenças foliares. A principal doença do cafeeiro é a ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome) por provocar intensa desfolha e perdas de produtividade. O método químico é o mais utilizado no controle da ferrugem, com aplicações de fungicidas sistêmicos e protetores. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficácia das nanopartículas de cobre, zinco, boro e manganês, do óleo essencial de melaleuca e do *Bacillus subtilis*, aplicados isoladamente e em associação com o fungicida piraclostrobina + epoxiconazol no controle da ferrugem do cafeeiro. Foi realizado um experimento em casa de vegetação, utilizando mudas de cafeeiro da cv. Mundo Novo 379/19, suscetíveis à ferrugem, instalado no delineamento experimental em blocos casualizados (DBC) com nove tratamentos e quatro repetições: 1 – Testemunha; 2 – OE Melaleuca; 3 - NPs Zn, B, Mn, CuO; 4 - *B. Subtilis*; 5- NPs Zn, B, Mn, CuO + OE Melaleuca + *B. Subtilis*; 6 - NPs Zn, B, Mn, CuO + Pirac + Epoxi; 7 - NPs Zn, B, Mn, CuO + Pirac + Epoxi + OE Melaleuca; 8 - NPs Zn, B, Mn, CuO + Pirac + Epoxi + OE Melaleuca + *B. Subtilis* e 9 - Pirac + Epoxi. Os tratamentos foram aplicados sete dias antes da inoculação dos esporos de *H. vastatrix* na face abaxial das folhas. Foram avaliadas a incidência e a severidade da ferrugem a cada sete dias, depois do surgimento das primeiras pústulas, totalizando seis avaliações. Os dados obtidos foram transformados em área abaixo da curva de progresso da doença para incidência (AACPDI) e severidade (AACPDS). As variáveis significativas no teste F da análise de variância foram submetidas ao teste Skott-Knott a 5% de probabilidade. Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos para as variáveis AACPS e AACPI. Todos os tratamentos foram eficientes e reduziram a ferrugem do cafeeiro. O maior controle da ferrugem foi promovido com tratamentos onde houve a mistura com o fungicida Pirac + Epoxi, com eficiência mínima de 99,8%. Portanto, nas condições em que o experimento foi conduzido, as misturas com nanopartículas, óleo essencial de melaleuca, *B. subtilis* e o fungicida Pirac + Epoxi foram eficazes e não diferiram do fungicida Pirac + Epoxi aplicado isoladamente.

**Palavras-Chave:** *Coffea arabica*. *Hemileia vastatrix*. *Bacillus subtilis*. Óleo essencial. Nanotecnologia. Doenças de plantas. Manejo Alternativo.

## ABSTRACT

Brazil is considered the largest producer and exporter of coffee in the world and the state of Minas Gerais is considered the largest coffee producer in Brazil, responsible for more than 50% of national production. Currently, the requirements for coffee certificates regarding their quality and origin, have made coffee growing to meet the main demands of the consumer market, such as, for example, lower doses of active ingredients per hectare and the use of more sustainable products, so that the coffee grower has the financial return. However, there are factors capable of interfering with the productivity and quality of coffee, among them, stand out as foliar diseases. The main coffee disease is rust (*Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome) because it causes intense defoliation and productivity losses. The chemical method is the most used to control rust, with applications of systemic fungicides and protectors. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effectiveness of copper, zinc, boron and manganese nanoparticles, tea tree essential oil and *Bacillus subtilis*, applied individually and in association with the fungicide pyraclostrobin + epoxiconazole in the control of coffee rust. An experiment was carried out in a greenhouse, using coffee seedlings of cv. Mundo Novo 379/19, expressed to rust, installed in a randomized block design (DBC) with nine treatments and four replications: 1 – Control; 2 – OE Melaleuca; 3 - NPs Zn, B, Mn, CuO; 4 - *B. Subtilis*; 5- NPs Zn, B, Mn, CuO + EO Melaleuca + *B. Subtilis*; 6 - NPs Zn, B, Mn, CuO + Pirac + Epoxy; 7 - NPs Zn, B, Mn, CuO + Pirac + Epoxy + Melaleuca EO; 8 - NPs Zn, B, Mn, CuO + Pirac + Epoxy + Melaleuca EO + *B. Subtilis* and 9 - Pirac + Epoxy. The treatments were applied seven days before the inoculation of spores of *H. Vastatrix* on the abaxial side of the leaves. Rust incidence and severity were evaluated every seven days, after which the first pustules were included, totaling six estimates. The incidence and severity of rust were evaluated every seven days, after the appearance of the first pustules, totaling six evaluations. The data obtained were transformed into area under the disease progress curve for incidence (AUDPCI) and severity (AUDPCS). Variables in the F test of the analysis of variance were observed using the Skott-Knott test at 5% probability. There was a significant difference ( $p < 0.05$ ) between treatments for the variables AACPS and AACPI. All treatments were efficient and reduced coffee rust. Greater rust control was promoted with treatments where there was a mixture with the fungicide Pirac + Epoxy, with a minimum efficiency of 99.8%. Therefore, under the conditions in which the experiment was controlled, the mixtures with nanoparticles, tea tree essential oil, *B. subtilis* and the fungicide Pirac + Epoxy were effective and did not differ from the fungicide Pirac + Epoxy applied with care.

**Keywords:** *Coffea arabica*. *Hemileia vastatrix*. *Bacillus subtilis*. Essential oil. Nanotechnology. Plant diseases. Alternative Management.

## Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	7
2. OBJETIVO .....	9
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	9
3.1. Cafeeiro .....	9
3.2. Ferrugem do cafeeiro.....	11
3.3. Manejo da ferrugem.....	12
4. Manejo alternativo de doenças em plantas.....	15
4.1. Óleos essenciais no controle de fitopatógenos .....	15
4.2. Gênero <i>Bacillus</i> no controle de fitopatógenos.....	18
4.3. Nanopartículas no controle de fitopatógenos .....	18
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
6. VARIÁVEIS ANALISADAS .....	22
7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	23
8. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	23
10. REFERÊNCIAS .....	29

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador de café do mundo, o estado de Minas Gerais é responsável por mais de 50% da produção nacional. No entanto, a produção vem ficando abaixo do esperado, pois as condições climáticas desfavoráveis, ocorridas entre junho e setembro de 2021, com secas e geadas, além do excesso de precipitações ocorridos em MG, entre dezembro de 2021 e fevereiro de 2022, foram determinantes para reduzir a produtividade. Com relação à Minas Gerais, a estimativa de produção atual nesta temporada é de 22.033 mil sacas de café beneficiado, a maioria do tipo arábica. Representando um decréscimo de 0,5% em comparação ao total colhido na safra passada, que foi um ciclo de bienalidade negativa (CONAB, 2022). Além da bienalidade, geadas e falta de chuva, outros fatores podem contribuir para reduzir a produtividade do cafeeiro, como por exemplo, o desequilíbrio nutricional, pragas e doenças. Entre as doenças, destaca-se a ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome), por causar desfolha intensa e perdas de produtividade e qualidade da bebida. Para o seu controle, são utilizadas variedades resistentes, manejo da água e da fertilidade no solo e ainda as pulverizações de fungicidas (POZZA, 2021).

O manejo integrado da ferrugem é muito importante, como por exemplo, o uso de cultivares resistentes. No entanto, as lavouras brasileiras são formadas em sua maioria por cultivares suscetíveis a ferrugem, como as dos grupos Mundo Novo e Catuaí. Dessa forma, se faz necessária a pulverização com fungicidas, podendo ser de três a quatro por ano (LEAL et al., 2019). O método químico é o manejo mais utilizado por agricultores, com aplicação de fungicidas sistêmicos, como os triazóis misturados com as estrobilurinas. Os fungicidas protetores ou de contato também são utilizados no controle da ferrugem. Como protetores, destacam-se os cúpricos, utilizados desde os primeiros relatos de ferrugem, de forma preventiva, isso é, antes da infecção do tecido vegetal.

Na cafeicultura, os fungicidas cúpricos são recomendados em altas doses, de 1 a 2 kg de cobre metálicos por hectare a cada aplicação, essas doses correspondem de 2 a 4 kg (1250 a 2500 mg.kg<sup>-1</sup> de Cu<sup>2+</sup>/ha) dos produtos com 50% de cobre (POZZA, 2021). Essa quantidade por hectare de uso constante na mesma área em culturas perenes por décadas, já é questionado em diversos países (LA TORRE; IOVINO; CARADONIA, 2018). Para garantir a eficácia dos métodos de controle da ferrugem do cafeeiro e diminuir os efeitos negativos causados ao meio ambiente, as concentrações dos fungicidas cúpricos

devem ter uma redução, como também reduzir o número de pulverizações por safra (LEAL et al., 2019).

Com uma grande demanda da sociedade por cafés especiais com maior sustentabilidade, recentemente diversas pesquisas investigaram medidas alternativas para controlar doenças de plantas, com a utilização de indutores de resistência, fertilizantes foliares e as nanopartículas metálicas (GUIMARÃES et al., 2016; LA TORRE; IOVINO; CARADONIA, 2018; RESENDE et al., 2021; CARVALHO et al., 2022). O uso de nanopartículas no controle da ferrugem do cafeeiro pode ser medida sustentável, pois, as propriedades físicas e químicas das moléculas são potencializadas, pois possuem alta relação área/volume (PÉREZ et al., 2019; CARVALHO et al., 2022). Essas características estão relacionadas ao tamanho da estrutura e possibilitam o uso em concentrações reduzidas com as mesmas ou até melhores propriedades em relação a maiores dimensões (NAVROTSKY, 2000; ABDI, 2010; LEAL, 2020).

Além das nanopartículas, o uso de óleos essenciais e agentes de biocontrole surgem como alternativa sustentável para o manejo da ferrugem do cafeeiro (SOUZA, 2020). O controle alternativo das doenças utilizando óleos essenciais extraídos de plantas tem apresentado grande potencial na agricultura, principalmente por apresentar baixa toxicidade a mamíferos e menores resíduos tóxicos ao ambiente, quando comparados ao controle químico de doenças (PINTO et al., 2014). Os componentes ativos do óleo agem nos fungos alterando a permeabilidade e a fluidez das membranas, impedindo a capacidade de manter homeostase associada à mudança na morfologia celular (CARSON et al., 2000). Junto com as nanopartículas e os óleos essenciais destacam-se os agentes de biocontrole, empregados para proteger as plantas contra inúmeros patógenos (BETTIOL; MORANDI, 1991). Entre eles, destaca-se o gênero *Bacillus*, com eficiência comprovada em diversos patossistemas. O gênero *Bacillus* possui grande relevância, por possuir um complexo arsenal de mecanismos de ação, dentre eles a síntese de substâncias antimicrobianas, a produção de compostos voláteis e a competição (LEELASUPHAKUL et al., 2008), além de induzir respostas de resistência sistêmica (FILHO, 2011). Podendo também estimular o crescimento da planta por meio da produção de hormônios e disponibilização de nutrientes, como também a supressão de patógenos via inativação de compostos tóxicos (ABDALLAH et al., 2010).

## 2 OBJETIVO

Avaliar a eficácia das nanopartículas de cobre, zinco, boro e manganês, do óleo da essencial de melaleuca e do *Bacillus subtilis*, aplicados isoladamente e em associação com o fungicida piraclostrobina + epoxiconazol no controle da ferrugem do café.

## 3 REFERENCIAL TEÓRICO

### 3.1 Café

Originário do continente africano, o café é membro da família *Rubiaceae* e possui duas variedades comercialmente valiosas, *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre, conhecidas como Arábica e Robusta, respectivamente. O café arábica é originário das florestas tropicais da Etiópia, Quênia e Sudão, enquanto o café robusta é originário da África Ocidental (DAVIS et al., 2020; ABIC, 2021a).

O café chegou ao Brasil em 1727 vindo da Guiana Francesa na cidade de Belém do Pará, no norte do país. Espalhou-se facilmente para outros estados devido às condições climáticas favoráveis e, com o tempo, passou de um produto insignificante a um ciclo econômico nacional. Em 1779, o café brasileiro ganhou reconhecimento internacional pela primeira vez. Após a crise, com crescimento econômico difícil e exportações lentas, o chamado "ciclo do café" teve início na década de 1830, quando o café dominou a pauta exportadora e passou a ser responsável pela recomposição das receitas de exportação, constituindo-se em um setor econômico dinâmico que mobilizou fatores de produção e geração de receita (MIGUEL, 2017).

Para a safra de 2020/21, a produção mundial de café foi estimada em 171,9 milhões de sacas de 60 kg. Atualmente, o Brasil é o seu maior produtor e exportador, a estimativa de produção dos grãos totaliza 48,80 milhões de toneladas, das quais 33,36 milhões correspondem ao grão tipo arábica e 15,44 milhões do tipo robusta, a estimativa de exportação foi de 33,8 milhões de sacas de 60 kg. Enquanto ao consumo, o Brasil fica em segundo lugar, atrás apenas da Europa continental (CONAB, 2022; ICO, 2022).

Localizado na região sudeste do país, Minas Gerais é o maior estado produtor de café do Brasil, respondendo por cerca de 50% da produção nacional, e é um dos principais produtores de cafés especiais do país. Em sua maior parte, as lavouras de café são formadas por *C. arabica*, cultivado em quatro áreas produtoras: Sul de Minas,

Cerrado de Minas, Chapada de Minas e Matas de Minas, que exportam café pelos portos de Santos, Rio de Janeiro e Vitória (ABIC, 2021b). O sul do estado de Minas Gerais tem um lugar importante na produção de café. Sua altitude elevada e temperatura média anual são propícias à produção de cafés de altas qualidades. No segundo levantamento da safra de café de 2022 em Minas Gerais (Tabela 1), o Sul apresentou uma maior área em produção, produtividade comparada às demais regiões de Minas Gerais (CONAB, 2022).

Tabela 1 – Segundo levantamento da safra de café de Minas Gerais em 2022.

<b>Região</b>	<b>Área em produção (ha)</b>	<b>Produtividade (sc/ha)</b>	<b>Produção (mil sacas beneficiadas)</b>
MG	1.019.788,0	24,31	24.791,1
Sul	496.430,0	24,37	12.098,7
Triângulo, Alto Paranaíba e Noroeste	181.233,0	25,31	4.587,4
Zona da Mata, Rio Doce e Central	315.350,0	23,36	7.368,1
Norte, Jequitinhonha e Mucuri	26.775,0	27,52	736,9

FONTE: CONAB (2022) adap.

Na cafeicultura, a rentabilidade da atividade vem de duas fontes. A primeira é o investimento em tecnologias voltadas ao aumento da produtividade. Enquanto a segunda tem a ver com sistemas de produção que focam na qualidade final do produto. O fornecimento contínuo de café de qualidade enfrenta desafios significativos. Entre eles, faltam conhecimentos básicos para explicar as verdadeiras causas da qualidade a partir da interação do cafeeiro com o meio ambiente. Essa deficiência é agravada pela consideração de alguns fatores biológicos, como pragas e doenças, que causam danos às plantas. A ferrugem é um exemplo de patógeno que é considerado uma séria ameaça à produção de café (SILVA et al., 2015).

### 3.2 Ferrugem do cafeeiro

A ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome) foi descoberta em 1862, no Leste da África, (POZZA, 2021). Em 1869, a ferrugem foi encontrada no Ceilão, o atual Sri Lanka. O seu agente causal ou etiológico, o fungo *H. vastatrix*, pertence à classe dos Basidiomicetos, da família *Pucciniaceae* e é biotrófico, ou seja, necessita que os tecidos do hospedeiro estejam vivos para que ele sobreviva. Esse fungo possui mais de 50 raças descritas, no entanto, apenas 15 ocorrem no Brasil. As condições ambientais que favorecem o patógeno variam conforme as diferentes fases da sua vida. A principal fase é durante a germinação, crescimento do tubo germinativo e penetração de *H. vastatrix*. Para a ocorrência da germinação é necessária baixa luminosidade ou ausência de luz, temperaturas que variam de 21°C a 25°C e molhamento foliar por 3 a 6 horas, porém se há ocorrência do molhamento foliar entre 24 a 48h ocorre o aumento da eficiência e a porcentagem da germinação dos uredósporos. Na parte da noite até 8h da manhã é o melhor horário de infecção do patógeno. No campo essa condição de baixa luminosidade está presente em lavouras estabelecidas para locais sombreados (POZZA, 2021).

A espécie *C. canephora* apresenta cultivares mais resistentes em relação a espécie *C. arabica*, que são mais suscetíveis a ferrugem, principalmente as cultivares que estão no mercado. No Brasil, o primeiro relato da ferrugem em *C. arabica* foi realizado pelo fitopatologista Dr. Arnaldo Gomes Medeiros, em 17 de janeiro de 1970, no município de Aurelino Leal, Sul da Bahia (CHAVES et al., 1970). A disseminação da ferrugem foi rápida, pois, em 1971 a sua ocorrência já era relatada em São Paulo e Paraná (POZZA, 2021). Atualmente, a ferrugem ocorre em todos os estados produtores no Brasil, tornando-se a principal doença do cafeeiro. Dessa forma, a ferrugem do cafeeiro é considerada a doença mais importante, por causar grandes perdas de produtividade. Em plantas suscetíveis e sem pulverização, essa perda pode chegar a 90%, além disso, a desfolha pode superar os 70% (POZZA, 2021).

A desfolha prematura é o principal dano da ferrugem, esse fato ocorre por consequência da alta produção de etileno. O alto índice de queda das folhas intensifica o esgotamento das reservas de carboidratos das plantas, o que gera a seca de ponteiros e a morte das raízes e conseqüentemente, a redução da produtividade e a longevidade das lavouras, seja no mesmo ano ou em anos posteriores. Os seus sintomas iniciais são a formação de pequenas manchas circulares cloróticas translúcidas, na parte inferior da

folha. Sobre essas manchas, inicia-se a formação de uma massa pulverulenta de esporos, com coloração amarelo-alaranjada. Quando a esporulação está intensa, na parte superior da folha as manchas passam a ter uma coloração mais intensa, apresentando necroses que também podem ser observadas na parte inferior da folha (POZZA, 2021).

### **3.3 Manejo da ferrugem**

#### **3.3.1 Água e Nutrição do solo**

A nutrição inclui uma série de processos pelos quais as plantas removem substâncias do ambiente externo e as convertem em alimento e energia, por meio da absorção do dióxido de carbono e de minerais em solução (água) no solo. Os nutrientes essenciais para a vida das plantas são divididos em duas categorias: macronutrientes e micronutrientes. Para suas funções vitais, as plantas requerem maiores proporções de macronutrientes e menos micronutrientes, porém ambos são essenciais (MARSCHNER, 2012).

O problema de ordem nutricional desencadeia o aumento da suscetibilidade do hospedeiro a vários patógenos, reduzindo a tolerância ou resistência a eles. O manejo por adubação equilibrada deve levar em consideração fatores como necessidades de nutrientes das plantas, fertilidade natural do solo, sistemas de cultivo, estado nutricional da cultura e produtividade esperada da próxima safra. Deficiências ou excessos de nutrientes prontamente disponíveis para as plantas podem levar a perdas de produção (POZZA, 2021). Para que as plantas de café desempenhem suas funções, deve haver quantidades suficientes de macro e micronutrientes no solo. Para determinar a concentração ou disponibilidade de elementos no solo, é necessário realizar análises químicas para determinar a quantidade disponível de cada elemento. Outra análise importante para validação e balanço nutricional é a análise da composição química das folhas de café. O equilíbrio entre os nutrientes favorece a formação de uma barreira física, principalmente entre cálcio (Ca), magnésio (Mg) e potássio (K) (POZZA et al., 2001; POZZA, 2021).

A água é o primeiro componente do ambiente necessário ao bom crescimento e desenvolvimento do cafeeiro. Importante para alcançar boas produtividades, além da formação de barreiras de resistência na planta contra o patógeno e reduzir os efeitos fisiológicos do processo de doença, reduzindo as perdas. Em condições naturais e

agricultáveis, as plantas normalmente são expostas ao estresse ambiental, em razão do excesso ou à falta de água, sendo este último o mais frequente (SILVA et al., 2020; POZZA, 2021). De todos os recursos, nos quais, as plantas necessitam, para crescer e se desenvolver, a água é o mais abundante e, ao mesmo tempo, o mais limitante para a produtividade agrícola. A irrigação é sempre comentada para sanar essa deficiência, porém como a água costuma ser um recurso escasso, ultimamente estão sendo utilizada a técnica de irrigação por gotejamento, suas principais características, são a uniformidade e eficiência de aplicação da água (BARBOSA JUNIOR, 2020; POZZA, 2021).

O sistema de irrigação por gotejamento além de economizar água e suprir as necessidades hídricas da cultura proporciona a possibilidade de aplicação de fertilizantes via água. Devido a irrigação ser feita sobre o solo na área de maior absorção das raízes do cafeeiro, com pequena intensidade, porém, com alta frequência, assim a umidade do solo é mantida na zona radicular próxima a capacidade de campo. Além disso, a pequena porção da superfície do solo molhada diminui drasticamente a evaporação direta da água no solo para a atmosfera (BARBOSA JUNIOR, 2020).

Para a ferrugem do cafeeiro a irrigação pode contribuir para reduzir a incidência de doenças quando a pluviosidade é inferior à exigida para o cafeeiro ou mal distribuída ao longo do ano, principalmente em áreas com adensamento e de alta produtividade em latossolos. Segundo Barbosa Junior (2020), o sistema de irrigação por gotejamento pode reduzir a intensidade da ferrugem, se a lâmina d'água bem controlada, por equipamentos e tecnologia apropriada, associada ao fornecimento equilibrado de nutrientes. Nesse sistema, o fornecimento de água junto com adubação equilibrada para maiores produtividades, contribui para reduzir a severidade da doença (POZZA, 2021).

Portanto, a nutrição equilibrada associada ao suprimento de água é capaz de aumentar a produtividade e reduzir as doenças, pois essas plantas possuem maior capacidade de sintetizar barreiras físicas e químicas, dificultando a penetração e colonização de tecidos foliares por patógenos (HUBER; ROMHELD; WEINMANN, 2012). Entre os micronutrientes, o ferro, o zinco e o cobre são relacionados tanto à indução de resistência quanto a formação de barreiras (BÉLANGER et al., 2013).

### **3.3.2 Cultivares resistentes**

O agente causal da ferrugem, *H. vastatrix* sofreu diversas alterações devido à sua mutação, recombinação genética e seleção de isolados e até mesmo raças em variedades

e condições de manejo específicas. Os genes de resistência SH6, SH7, SH8, SH9 e suas combinações, incluindo SH3, são os mais utilizados para desenvolver novas variedades com maior resistência à ferrugem. Como precaução, os fungicidas podem ser usados, mas são desvantajosos do ponto de vista econômico e ambiental. Portanto, são desenvolvidas variedades resistentes às raças conhecidas de *H. vastatrix*, tornando-se uma importante estratégia de manejo, além de ser ecologicamente e economicamente viável. Sendo assim, desenvolver variedades resistentes a ferrugem, tornou-se uma prioridade para os centros de pesquisa cafeeira (BRAGHINI et al., 2011).

Em sistemas de cultivo denso e/ou orgânico, as variedades resistentes são a melhor escolha. Atualmente, existem diversas variedades com rendimento semelhante às melhores variedades dos grupos Mundo Novo e Catuaí. No entanto, primeiro é preciso saber se as variedades resistentes apresentam bom desempenho e se adaptam à área de cultivo, e qual a disponibilidade de sementes e mudas para a região de interesse. Outro ponto importante é entender as necessidades de água e nutrientes da nova variedade para acomodar seu manejo e a logística da propriedade (POZZA, 2021).

Portanto, o método de controle genético tem ótimo desempenho, pois se baseia no melhoramento de variedades para aumentar a resistência das plantas. O desenvolvimento de variedades resistentes à ferrugem é um dos principais objetivos dos programas de melhoramento de café, uma vez que a diversidade genética associada à patogenicidade de *H. vastatrix* é alta nos cafeeiros brasileiros, portanto, o cultivo de variedades resistentes à ferrugem representa umas das alternativas sustentáveis para o gerenciamento de ferrugem (FAZUOLI et al., 2018).

### **3.3.3 Controle químico**

Como a maioria das áreas de produção dos cafés do Brasil está atualmente plantada com variedades suscetíveis, a pulverização com fungicidas é necessária. Sendo o controle químico o principal método de controle da ferrugem. Esse tipo de controle pode ser realizado basicamente de três maneiras, sendo elas a preventiva (fungicidas protetores), a curativa (fungicidas curativos) e a preventiva-curativa (fungicidas sistêmicos associados aos protetores) (BARBOSA JUNIOR, 2020; POZZA, 2021).

Os fungicidas mais recomendados para controlar a ferrugem são os sistêmicos, mesostêmicos e protetores ou de contato. Os de contato ou multissítios são os cúpricos, o mancozeb e o chlotoralonil, os mesostêmicos as estrobilurinas e os sistêmicos, do grupo

químico dos triazóis e das carboxamidas (POZZA, 2021). Os triazóis são produtos sistêmicos e possuem absorção e translocação acropetal, além de possuírem efeitos curativos e ação residual prolongada. As estrobilurinas possuem ação mesostêmica, sendo assim, tem alta afinidade com a superfície foliar e são absorvidas através da camada de cera. Já os cúpricos são usados de forma preventiva, atuando por contato, por isso, sua ação não sistêmica.

O uso de fungicidas multissítios tornou-se necessário para reduzir a pressão de seleção dentro das populações de patógenos. O ditiocarbamato é amplamente utilizado na agricultura, sendo o principal representante o mancozeb (ZAMBOLIM et al. 2008). Os ditiocarbamatos são compostos promissores devido ao seu modo de ação multissítio, projetados para controlar doenças isoladamente ou formulados com fungicidas sistêmicos (VIDIGAL et al., 2019).

Portanto, a combinação de fungicidas à base de triazóis com estrobilurinas proporciona melhor controle e maior período de residual, aumentando também o vigor das plantas e a produtividade. Misturas de triazóis e estrobilurinas com fungicida multissítio (cobre ou mancozeb) são consideradas uma alternativa de manejo para evitar a pressão de seleção de indivíduos resistentes (VAN DEN BOSCH et al., 2020).

#### **4 MANEJO ALTERNATIVO DE DOENÇAS EM PLANTAS**

O controle alternativo de doenças de plantas inclui o controle biológico, a indução de resistência de plantas (BETTIOL, 1991), este último, ativa mecanismos de defesa da planta, encontrados de forma latente, obtida por meio de tratamento biótico, extratos vegetais (PEREIRA, 2008), extratos fúngicos (STANDNIK, 1999), óleos essenciais (SCHWAN-ESTRADA, 2003), ou por ativadores químicos (COHEN, 1996).

##### **4.1 Óleos essenciais no controle de fitopatógenos**

Os óleos essenciais são substâncias extraídas de partes de plantas por meio de destilação, possuindo características peculiares odoríferas, lipofílicas, líquidas e voláteis (PEREIRA, 2008). São sintetizados por todos os órgãos das plantas como flores, folhas, caules, sementes, frutas e desempenham papel importante na proteção de plantas como antifúngicos, antivirais e inseticidas (BRUM, 2012). Os óleos essenciais podem ser formados por 100 ou mais compostos orgânicos, entre os frequentemente encontrados estão os monoterpenos e os sesquiterpenos. Esses são responsáveis por grande parte das

atividades biológicas dos óleos essenciais e atuam como agentes fungistáticos e/ou fungicidas, dependendo das concentrações utilizadas e demonstram potencial satisfatório no controle de doenças de plantas (FERNANDES, 2000). Além disso, os compostos presentes nos óleos essenciais podem funcionar seletivamente no controle de diversas doenças e serem menos agressivos ao meio ambiente (CAMPOS, 2013).

Entre os óleos essenciais utilizados no controle de doenças, destacam-se aqueles extraídos de plantas arbóreas como a Árvore-do-chá ou 'Tea Tree' (*Melaleuca alternifolia*). Em estudos anteriores foram obtidos resultados promissores no controle de fitopatógenos (PEREIRA, 2008). A *M. alternifolia* pertence à família das mirtáceas (Myrtaceae), subfamília *leptospermoideae*, de ocorrência na Austrália, Polinésia e Malásia, incluindo 100 espécies nativas e do oceano Índico (VIEIRA et al., 2014). O principal produto derivado das folhas da planta é o óleo essencial, rico em terpinen-4-ol ( $C_{10}H_{18}O$ ), constituição química responsável por suas propriedades medicinais, além do 1,8 cineol (VIEIRA et al., 2004). Trata-se de um produto de importância medicinal, por possuir comprovada ação bactericida e antifúngica contra diversos patógenos em humanos (CASTRO et al., 2005). Para o Comitê Australiano de padronização (International Organization for Standardization), o óleo de *Melaleuca* deve conter 40% de terpinen-4-ol, 23 % c-terpinen, 4 a 10%  $\alpha$ -terpinen e 1 a 5 % de 1,8- cineol. O Terpinen-4-ol é o principal contribuinte e precursor da atividade antimicrobiana diante dos constituintes do óleo. O óleo essencial de melaleuca atua diretamente em enzimas respiratórias (COX et al. 2000), inibindo a formação do tubo germinativo ou conversão micelial, afetando o desenvolvimento e crescimento do fungo (HAMMER et al., 2000; D'AURIA et al., 2001).

Souza et al. (2015) realizou estudos para o controle da Cercosporiose da beterraba e seu efeito no aumento da produção e qualidade de raízes, com a utilização do óleo de *Melaleuca* em diferentes concentrações e obteve redução no crescimento micelial do patógeno e também em plantas, em diferentes concentrações. As doses foram de 0,13; 0,67; 0,80 e 1,00% do óleo no meio de cultura, além das testemunhas composta pelo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) no experimento *in vitro*, e água no experimento *in vivo*. As plantas foram pulverizadas duas vezes por semana. O índice de infecção das folhas foi determinado por escala diagramática além do peso e diâmetro das raízes. Os resultados de inibição do crescimento micelial para as doses do óleo foram 0; 56; 87; 83 e 99%, e os índices de infecção de 77,08; 35,62; 21,04; 19,37 e 20,00%, respectivamente, para a testemunha e as doses 0,13; 0,67; 0,80 e 1,00% do óleo. Somente na concentração

de 0,80% o óleo proporcionou relação positiva entre o ganho de peso e o diâmetro das raízes.

Em outro estudo, *in vitro*, a dose de 1600 ppm do óleo essencial de *M. alternifolia* reduziu em 35,39, 50,13, 54,57, 86,73 e 98,80% o ICM dos fungos *C. truncatum*, *F. sacchari*, *Cylindrocladium* sp., *C. gloeosporioides* e *C. falcatum*, respectivamente, quando comparado ao controle negativo. Nesse estudo também foi avaliada a porcentagem de esporos germinados, sendo que, com o aumento da concentração de óleo essencial, houve tendência de redução na germinação dos esporos dos fungos. A maior dose (1600 ppm) reduziu em 75,32, 75,35, 77,28 e 91,24% a porcentagem de germinação de esporos de *Cylindrocladium* sp., *C. falcatum*, *Fusarium sacchari* e *C. truncatum*, respectivamente, em relação a testemunha negativa. Ainda, segundo o autor, para todos os fungos estudados, com relação a porcentagem de germinação de esporos, não houve diferença significativa entre a maior concentração do óleo testada e o fungicida (ZANETTI, 2018).

Souza (2020) utilizou os óleos essenciais a base de *Melaleuca alternifolia* (melaleuca), *Eremantus erythropappus* (candeia) e *Azadirachta indica* (nim) para inibir a germinação dos esporos de *Hemileia vastatrix* nas doses de 0,0, 0,25, 0,50, 1,0 e 2,0%, além de um tratamento com o fungicida Azoxistrobina + Ciproconazol. No entanto, não houve diferença significativa entre os óleos, porém, já na dose de 0,25% a porcentagem média de germinação foi de 4,42% e na dose de 2,0% foi de somente 3,3%. Portanto, independente da dose utilizada, a porcentagem de inibição foi superior a 92,24% (inibição do tratamento adicional). Nesse mesmo trabalho, porém, em casa de vegetação os mesmos óleos foram aplicados na dose de 0,25% em mudas de café para controlar a ferrugem. A maior redução da severidade da ferrugem foi de 70,27% para o nim, 60,15% para a melaleuca e 52,39% para a candeia, em relação ao tratamento controle. Esses óleos também foram aplicados em associação com o fungicida Azoxistrobina + Ciproconazol, sendo que, os tratamentos Azoxistrobina + Ciproconazol, *M. alternifolia* + Azoxistrobina + Ciproconazol e *E. erythropappus* + Azoxistrobina + Ciproconazol reduziram a AACPDIF em 88,9, 90,7 e 92,3%, respectivamente e para AACPDSF, houve redução de 94,98% no tratamento com *A. indica* + Azoxistrobina + Ciproconazol, seguido do tratamento *M. alternifolia* + Azoxistrobina + Ciproconazol com redução de 92,45%.

## 4.2 Gênero *Bacillus* no controle de fitopatógenos

O gênero *Bacillus* é amplamente estudado como agente de biocontrole e como bioestimulante para plantas, sendo componente de mais de 50% dos produtos biológicos (CAWOY et al., 2011). A importância desse gênero reside na diversidade de mecanismos de ação envolvidos no biocontrole, devido à formação de endósporos, na qual facilita a sua formulação. O estímulo do crescimento de plantas mediado por *Bacillus* spp. pode ser direto ou indireto. A ação direta está relacionada com a produção de reguladores de crescimento (auxina, citocinina e giberelina), além da maior disponibilidade de fósforo e da fixação de nitrogênio devido a produção de sideróforos. A ação indireta é relacionada a sanidade da planta, ou seja, garantindo as melhores condições para o crescimento e desenvolvimento das culturas (WU et al., 2015; XU et al., 2016).

Produtos à base de *Bacillus subtilis* e *Bacillus amyloliquefaciens* foram utilizados para inibir a germinação de esporos de *Colletotrichum musae*. Neste estudo, *Bacillus licheniformis*, demonstrou suprimir a germinação de conídios do fungo e reduzir os sintomas causados pela doença em plantas. O estudo consistiu em teste de atividade antagônica *in vitro* e em planta, *B. licheniformis* foi testado usando um método de cultura dupla. Esta estirpe reduziu o crescimento do diâmetro do fungo em mais de 75%. Quando testado, o efeito antagônico da bactéria na germinação de conídios de *Colletotrichum sp.* foi evidente a partir da taxa de germinação de 0% em contraste com uma média de 98% no controle (MAHADTANAPUK, 2007). Sendo assim, a síntese de substâncias antimicrobianas, a produção de compostos voláteis, e elevada capacidade competitiva por nutrientes e espaço, são mecanismos responsáveis por tornar o uso de linhagens de *Bacillus* uma importante ferramenta no controle de doenças de plantas (LEELASUPHAKUL et al., 2008).

## 4.3 Nanopartículas no controle de fitopatógenos

Uma partícula é considerada nano, quando o seu “corpo” possui uma dimensão da ordem de 100 nanômetros. As nanopartículas podem tanto ser produzidas naturalmente ou pela ação do homem. As naturais possuem dimensões e formatos variados, já as produzidas pelo homem consistem em partículas uniformes e definidas. O uso de nanopartículas no controle de doenças de plantas tem sido evidenciado nos últimos anos. Entretanto, a eficácia das nanopartículas depende do material utilizado para projetá-la, da sua absorção, translocação e acumulação no interior do tecido vegetal, além do seu tamanho, área superficial específica e forma. Apesar disso, a alta relação

superfície/volume garante às nanopartículas (NPs) uma melhor interação com as células dos microrganismos, em relação às partículas de mesma composição, porém em macroescala (RICO et al., 2011; MAGDALANE et al., 2016).

As nanopartículas já foram utilizadas para inibir o crescimento de fungos em pepino, arroz (KRISHNARAJ et al., 2012), milho (ADHIKARI et al., 2015), cacau (GALLARDO et al., 2016), tomate (KUMARI et al., 2017) e café (PÉREZ, 2019; LEAL, 2020; CARVALHO et al., 2022), entre outras culturas. Dentre as investigações do uso das nanopartículas no controle de doenças de plantas, a prata (Ag), o óxido de cobre (CuO) e o óxido de zinco (ZnO) promoveram os efeitos mais consistentes na supressão de doenças em diversas culturas, em relação à outros elementos estudados (ELMER; WHITE, 2018). Alguns micronutrientes essenciais às plantas na forma de nanopartículas, como o zinco (Zn) e o cobre (Cu) também já foram utilizados com o objetivo de controlar as doenças de plantas. Em plantas de citros, a nanopartícula de Zn foi aplicada na dose de 0,56 kg/ha, e segundo os autores houve a redução de 38% e 42% da incidência de cancro cítrico, em dois ensaios avaliados, respectivamente (GRAHAM et al., 2016). Em outro trabalho utilizando a nanopartícula de Zn, foi observada a inibição significativa do crescimento de *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum* em concentrações superiores a 250 mg.L<sup>-1</sup> (HE et al., 2011).

PÉREZ (2019) realizou experimento *in vitro* para verificar a germinação de esporos de *H. vastatrix* tratados com nanopartículas de Ag, B, CeO<sub>2</sub>, CuO, MnO, MoO<sub>3</sub>, NiO, AlO, TiO<sub>2</sub> e ZnO nas doses de 100, 300, 500, 800 e 1000 mg.L<sup>-1</sup>. As NPs de Ag, Zn, Mo, Ce e Cu reduziram a germinação para menos de 50%, na menor concentração testada de 100 mg.L<sup>-1</sup>. No controle da ferrugem do cafeeiro, as nanopartículas prata e cobre na dose de 500 mg.L<sup>-1</sup> a eficiência foi de 93 e 75%, respectivamente, quando comparado à testemunha. Ainda sobre as doenças do cafeeiro, Carvalho (2022) testou a eficiência das nanopartículas de Cu, Ce, Mn, Zn, Ag e B, nas doses de 3, 50, 100, 250 e 500 mg.L<sup>-1</sup> sob a germinação de esporos de *Cercospora coffeicola*. As nanopartículas de prata, cério e cobre na dose de 500 mg.L<sup>-1</sup> apresentaram redução da germinação de 100%, 99,66%, 98,64% comparadas às testemunhas. As mesmas nanopartículas foram aplicadas na dose de 500 mg.L<sup>-1</sup> em mudas de cafeeiro para controlar a cercosporiose e os resultados foram semelhantes aos encontrados *in vitro*, pois, o controle da doença foi de 58%, 31%, 25% e 16% para as nanopartículas de prata, cério, boro e cobre, respectivamente. Apesar do seu potencial, a eficácia das nanopartículas depende do seu material, absorção, translocação e acumulação no interior do tecido vegetal. Características como a forma e a área superficial específica são fatores determinantes

para a sua eficiência. Portanto, a alta relação superfície/volume da NP permite a melhor interação com as células dos microrganismos (RICO et al., 2011; MAGDALANE et al., 2016). A capacidade antifúngica das nanopartículas e seus efeitos nutricionais, dependendo do elemento, são os principais motivos para utilizá-las em baixas concentrações para inibir a ação de fitopatógenos.

## **5 MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.1 Áreas Experimentais**

O trabalho foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras com temperatura média de 25°C e umidade relativa de 80%. Foram utilizadas mudas de cafeeiro da cv. Mundo Novo 379/19, suscetíveis à ferrugem, irrigadas por aspersão. O experimento foi instalado no delineamento experimental em blocos casualizados (DBC), com nove tratamentos e quatro repetições (Tabela 2). Cada repetição foi composta por quatro mudas de cafeeiro com sete pares de folha. A concentração das nanopartículas foi de 250 mg.L<sup>-1</sup>. Os tratamentos foram aplicados sete dias antes da inoculação dos esporos de *H. vastatrix* na face abaxial das folhas até o ponto de escorrimento (MARCOLINO, 2019).

Tabela 2 - Tratamentos aplicados em mudas de cafeeiro.

Tratamentos	Descrição	Doses/ha*
1	Testemunha	-
2	OE Melaleuca	0,4 L
3	NPs Zn, B, Mn, Cu	0,1, 0,1, 0,1, 0,1 kg (total 0,4 kg)
4	<i>B. subtilis</i>	2,0 kg
5	NPs Zn, B, Mn, Cu + OE Melaleuca + <i>B. subtilis</i>	0,4 kg + 2,0 kg
6	NPs Zn, B, Mn, Cu + Pirac + Epoxi	0,4 kg + 1,5 L
7	NPs Zn, B, Mn, Cu + Pirac + Epoxi + OE Melaleuca	0,4 kg + 1,5 L + 0,4 L
8	NPs Zn, B, Mn, Cu + Pirac + Epoxi + OE Melaleuca + <i>B. subtilis</i>	0,4 kg + 1,5 L + 0,4 L + 2,0 kg
9	Pirac + Epoxi	1,5 L

\* Volume de calda: 400 L. OE: óleo essencial. NPs: nanopartículas. Zn: zinco. B; boro. Mn: manganês. Cu: cobre. Pirac + Epoxi: piraclostrobina + epoxiconazol. *B. subtilis*: *Bacillus subtilis*.

### 5.1.1 Obtenção do inóculo e inoculação de *H. vastatrix*

Folhas de *C. arabica*, naturalmente infectadas foram coletadas no campo e submetidas à câmara úmida por 24 horas. Passado esse período, essas foram lavadas com água destilada e os uredosporos raspados ou retirados com o auxílio de um pincel para um *Becker* de vidro. A suspensão obtida foi ajustada em câmara de *Neubauer* para a concentração de  $1,0 \times 10^5$  uredosporos/mL e aplicada com pulverizador plástico manual na face abaxial de todas as folhas de mudas de cafeeiro até o ponto de escorrimento (MARCOLINO, 2019). Em seguida, as mudas foram cobertas com sacos plásticos pretos por 72 horas para fornecer as condições ideais à penetração do fungo, como a ausência de luz, o molhamento foliar e temperatura entorno de 23°C (RAYNER et. al., 1961; CRUZ FILHO; CHAVES, 1973; KUSHALAPA et. al., 1989). Após 72 horas os sacos plásticos foram retirados e as mudas colocadas em bancada na casa de vegetação a  $25 \pm 30^\circ\text{C}$ , seguindo o delineamento em blocos casualizados.

## 6 VARIÁVEIS ANALISADAS

Para os experimentos em casa de vegetação, as avaliações da incidência e da severidade da ferrugem foram realizadas semanalmente, a partir da visualização dos primeiros sinais do patógeno, totalizando seis avaliações. A incidência foi obtida da relação entre o número de folhas lesionadas e o número total de folhas avaliadas por parcela, de acordo com a equação 1:

$$I(\%) = \left( \frac{NFD}{NTF} \right) * 100 \quad (1)$$

Sendo:

I(%): incidência da doença, em porcentagem;

NFD: número de folhas doentes;

NTF: número total de folhas avaliadas.

Para avaliar a severidade foi utilizada a escala diagramática proposta por Figueiredo et. al. (2022). Foram atribuídas notas de 1 a 6 (1- de 0,1 a 1% de severidade; 2- de 1,1 a 2% de severidade; 3- de 2,1 a 4% de severidade; 4- de 5,1 a 10% de severidade; 5- de 10,1 a 25% de severidade; 6- mais de 25,1% de severidade). Os valores médios da incidência e da severidade foram integralizados em área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) e área abaixo da curva de progressoda severidade (AACPS), segundo a equação 2 (SHANER; FINNEY, 1977).

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

Onde:

AACPD = área baixo da curva de progresso da doença;

Y<sub>i</sub> = proporção da doença na i-ésima observação;

T<sub>i</sub> = tempo, em dias, na i-ésima observação; n = número total de observações.

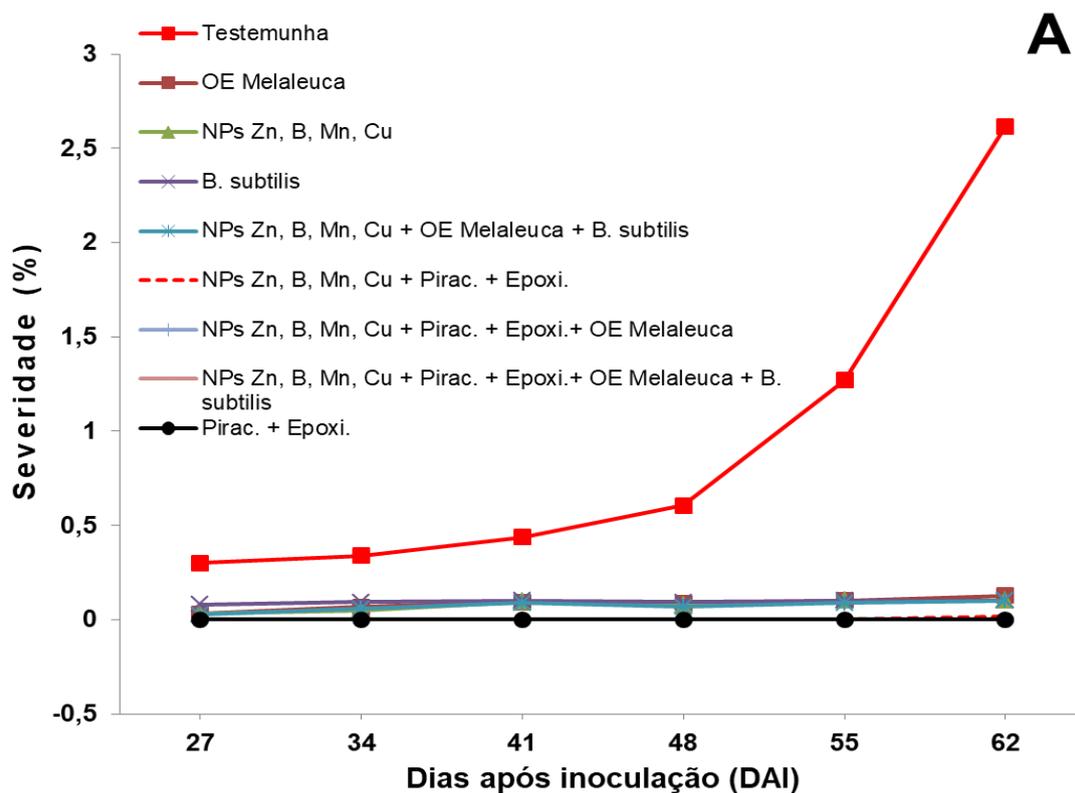
## 7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As variáveis analisadas foram submetidas aos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett ( $p \geq 0,05$ ) para verificar os pressupostos da análise de variância. Como os pressupostos foram atendidos, os dados foram submetidos à análise de variância (Teste  $F \leq 0,05$ ) e quando

significativa foram comparadas por Teste de agrupamento de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

## 8 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As primeiras pústulas ou sinais do patógeno foram observadas aos 27 dias após a inoculação dos esporos (DAI). A severidade máxima dos sinais foi de 2,6% aos 62 DAI (Figura 1A). Aos 27 DAI observou-se a menor incidência (19,4%) e, aos 62 DAI a maior (100%) (Figura 1B).



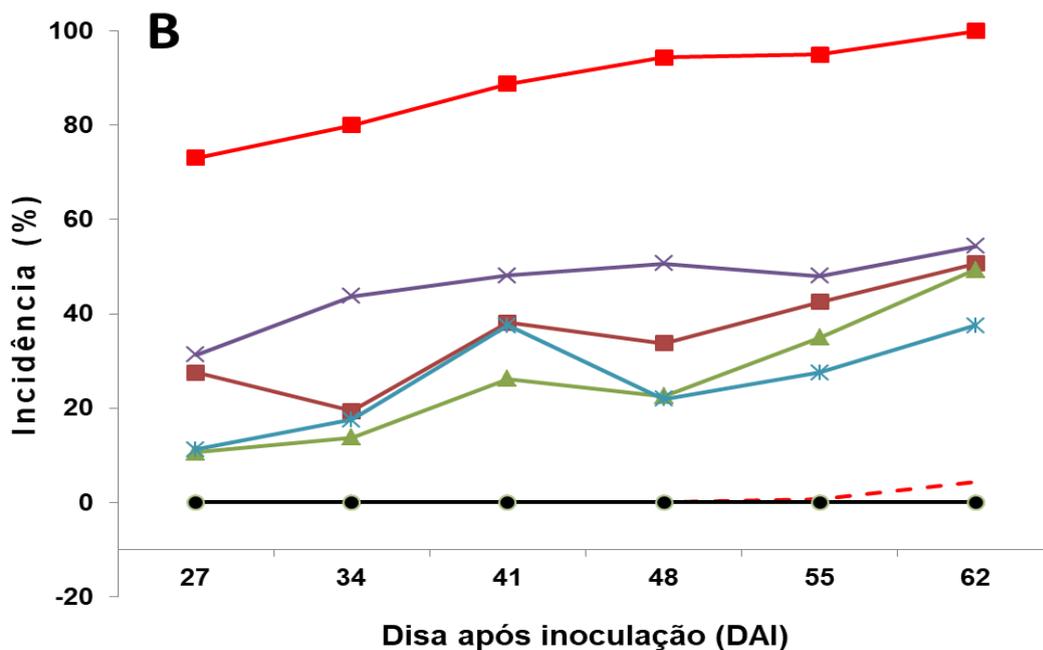


Figura 1 - Curva de progresso da severidade (A) e incidência (B) da ferrugem (*H. vastatrix*) em mudas de café aos 27, 34, 41, 48, 55 e 62 dias após a inoculação (DAI).

Fonte: Do autor (2022).

Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos para a AACPS e a AACPI. Todos os tratamentos reduziram a incidência e a severidade da ferrugem. Os tratamentos NPs Zn, B, Mn, CuO + Pirac + Epoxi, NPs Zn, B, Mn, CuO + Pirac + Epoxi + OE Melaleuca, NPs Zn, B, Mn, CuO + Pirac + Epoxi + OE Melaleuca + *B. subtilis* e o Pirac + Epoxi foram iguais entre si e a eficiência em reduzir a AACPS ficou entre 99,8 e 100%. Os tratamentos NPs Zn, B, Mn, CuO e NPs Zn, B, Mn, CuO + OE Melaleuca + *B. subtilis* foram iguais entre si e cada um deles foi 91% eficiente em reduzir a ferrugem. Não foi observada diferença entre os tratamentos OE Melaleuca e *B. subtilis*, resultando em 90 e 88% de eficiência (Figura 2).

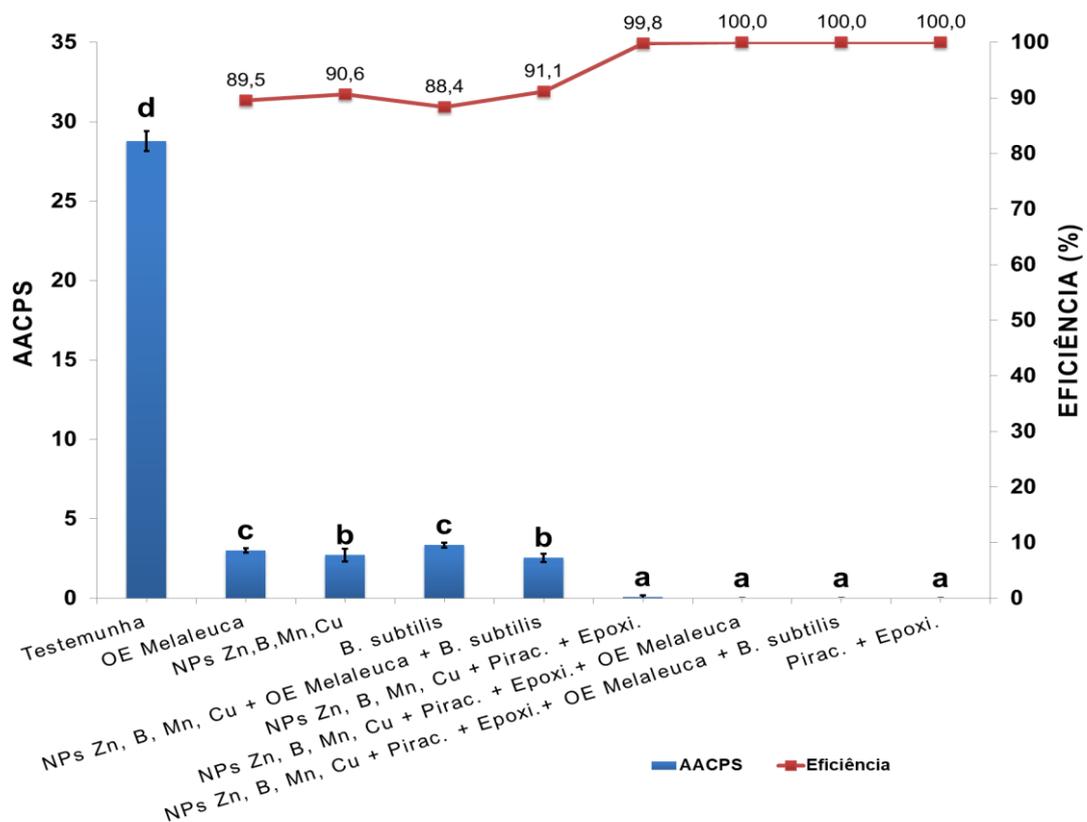


Figura 2 – Área abaixo da curva de progresso para a severidade da ferrugem do cafeeiro (AACPS). Médias seguidas pelas mesmas letras nas barras não diferem entre si, por meio do teste Skott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Do autor (2022).

Não houve diferença entre os tratamentos NPs Zn, B, Mn, CuO + Pirac + Epoxi, NPs Zn, B, Mn, CuO + Pirac + Epoxi + OE Melaleuca, NPs Zn, B, Mn, CuO + Pirac + Epoxi + OE Melaleuca + *B. subtilis* e o Pirac + Epoxi para a AACPI, com eficiência entre 99,4 e 100%. Não foi observada diferença entre os tratamentos OE Melaleuca, NPs Zn, B, Mn, CuO e NPs Zn, B, Mn, CuO + OE Melaleuca + *B. subtilis*, com 61, 71 e 71% de eficiência. A eficiência do tratamento *B. subtilis* foi de 48%, sendo diferente dos outros tratamentos (Figura 3).

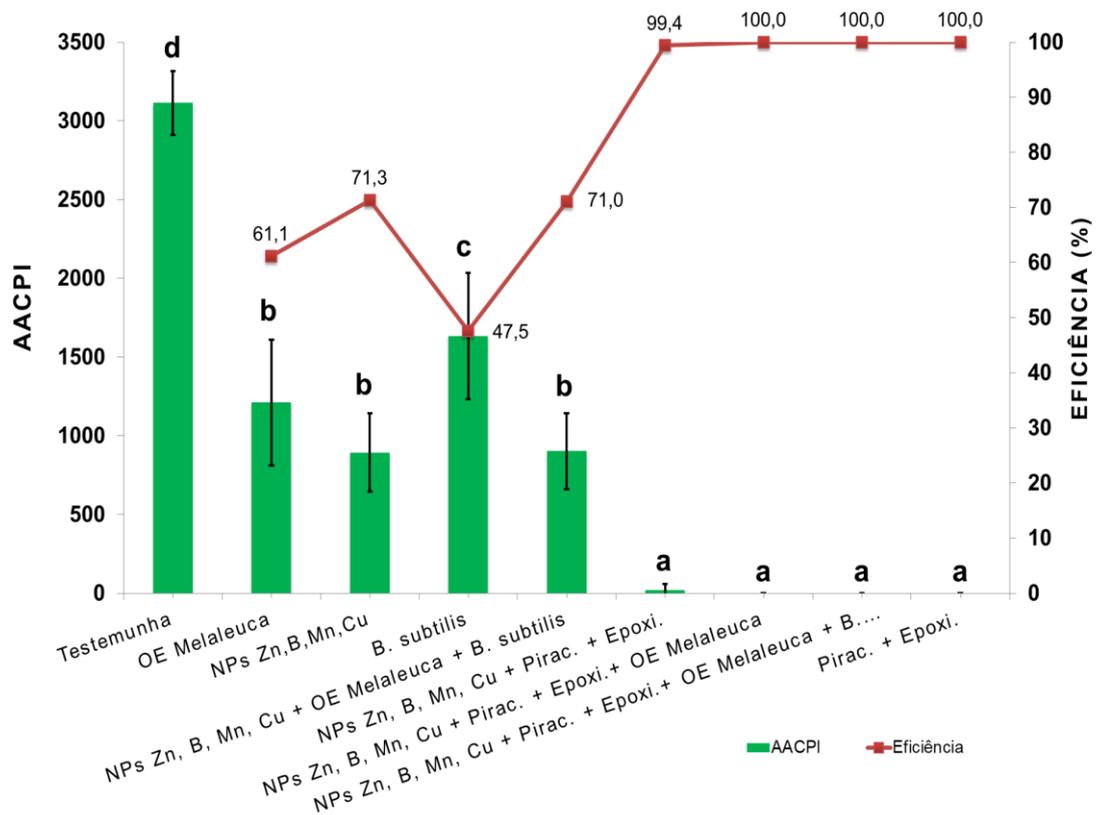


Figura 3 – Área abaixo da curva de progresso para a incidência da ferrugem do cafeeiro (AACPI). Médias seguidas pelas mesmas letras nas barras não diferem entre si, por meio do teste Skott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Do autor (2022).

A eficiência do OE Melaleuca em reduzir 89,5% da AACPS quando aplicado isoladamente, assemelha-se aos resultados encontrados por Medice (2007). Segundo esse autor, o OE Melaleuca na concentração de 600 ppm reduziu em 70% a severidade da ferrugem asiática da soja, sendo igual ao fungicida tebuconazole, utilizado como padrão. Apesar disso, em trabalho realizado por Pereira (2008), diferentes óleos essenciais foram utilizados, na concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup> para controlar a ferrugem do cafeeiro em casa de vegetação e, segundo o autor, os óleos de tomilho, citronela, melaleuca, eucalipto, canela, capim-limão e cravo-da-índia reduziram a AACPSD em 47,5, 42,2, 46,3, 46,0, 38,7, 38,0 e 37,6%, respectivamente. Apesar da dose elevada do óleo essencial de melaleuca, o controle da ferrugem foi 43,2% inferior ao resultado obtido no presente trabalho. Portanto, é notável o potencial dos óleos essenciais no manejo sustentável das doenças de plantas, pois, as substâncias presentes nos óleos essenciais, quando em contato com os micro-organismos, afetam a integridade das membranas celulares, causando a extravasamento de seus constituintes (PIPER et al., 2001). Com relação ao de agente de

biocontrole, o uso de *B. Subtilis* também reduziu cerca de 90% da AACPS e 52% a AACPI. Nesse sentido, Silva et al. (2019) também observaram alta eficiência do *Bacillus* no controle da mancha aureolada em mudas de cafeeiro, cerca de 80% quando utilizaram diferentes isolados de *Bacillus*. Portanto, a sua eficiência pode estar relacionada à produção de endósporos, a qual possibilita a sua maior sobrevivência no ambiente e maior vida de prateleira de bioprodutos e apresentam múltiplos mecanismos antagônicos (antibiose, competição por espaço e nutrientes, síntese de substâncias antimicrobianas, produção de compostos inespecíficos como amônia, ácido cianídrico e sideróforos) contra fitopatógenos (LANNA; FERRO; PINHO, 2010).

Na literatura são encontrados trabalhos sobre a eficiência das NPs, porém, em muitos casos foram aplicadas separadamente. Sendo assim, Pérez (2019) avaliou a eficiência do Cu, Zn, Mn e B na dose de 500 mg L<sup>-1</sup> no controle da ferrugem do cafeeiro. De acordo com esse autor a NP de Cu foi a mais eficiente, com 75% de controle, seguido do Mn com 56%. Para o Zn e o B a eficiência de controle foi inferior a 50%. No entanto, no presente trabalho as NPs não foram testadas de forma isolada, mas, em associação com uma dose 50% menor do que a utilizada por Pérez (2019). Ou seja, mesmo com uma dose de 250 mg L<sup>-1</sup> a eficiência foi superior a 90%.

Quando o fungicida foi misturado às NPs, *B. Subtilis* e ao óleo de melaleuca, houve maior eficiência de controle da ferrugem do cafeeiro, devido ao fungicida. Porém os demais tratamentos, sem o emprego do fungicida reduziram a área abaixo da curva da incidência e da severidade em relação à testemunha, com eficiência intermediária. Além disso, nas doses e formulações empregadas as NP's, o OE e o *Bacillus* não prejudicaram a performance do fungicida. Sendo assim, esse tipo de mistura pode contribuir tanto no manejo de populações do patógeno, para evitar selecionar isolados resistentes aos fungicidas com modo de ação específico quanto na sustentabilidade da cafeicultura brasileira.

## 9 CONCLUSÕES

As nanopartículas de cobre, zinco, boro e manganês, o óleo essencial de melaleuca e o *B. Subtilis* foram eficientes em reduzir a AACPI e a AACPS quando aplicados separadamente e também quando foram misturados. Houve elevada eficiência quando esses foram associados ao fungicida piraclostrobina + epoxiconazol, com 99,8% de redução da AACPS. Ou seja, sem interferir ou prejudicar a ação do fungicida.

## 10 REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, M.; DUBOUSSET, L.; MEURIOT, F.; ETIENNE, P.; AVICE, J. C.; OURRY, A. Effect of mineral sulphur availability on nitrogen and sulphur uptake and remobilization during the vegetative growth of *Brassica napus* L. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 10, p. 2635-2646, 2010.
- ABDI – Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial (2010). **Cartilha sobre Nanotecnologia**. Brasília: MDCI; Campinas: UNICAMP, 2010.
- ABIC. Associação Brasileira da Indústria de Café. **A Expansão do café no Brasil**. Tudo sobre café, Jun. 2021a. Disponível em: < <https://www.abic.com.br/tudo-de-cafe/a-expansao-do-cafe-no-brasil/>>. Acesso em 9 de Ago. 2022.
- ABIC. Associação Brasileira da Indústria de Café. **O café brasileiro na atualidade**. Tudo sobre café, Jun. 2021b. Disponível em: < <https://www.abic.com.br/tudo-de-cafe/o-cafe-brasileiro-na-atualidade/>>. Acesso em 9 de Ago. 2022.
- BARBOSA JUNIOR, M. P. **Management of coffee rust and brow eye spot using cultural and chemical control**. 2020. 99 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras, MG, 2020.
- BETTIOL, W. (Ed.). **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. 388p. (EMBRAPA-CNPDA. Documentos, 15).
- BRAGHINI, M. T.; FAZUOLI, L. C.; MANTOVANI, E. S. Levantamento de Raças de *Hemileia Vastatrix* Berk. et Br. em Cafeeiros derivados de Híbrido de Timor. In: **VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**. Araxá, MG. Agosto, 2011.
- BROADLEY, M. et al. Function of nutrientes: micronutrients. In: MARSCHNER, P. (Ed). **Mineral Nutrition of Higher Plants**. Elsevier. 3 ed., p. 206 – 212. London, 2012.
- BRUM, R. B.C. S.; CASTRO. H. G. de.; CARDON, C. H.; PEREIRA, A. S.; CARDOSO, D. P.; SANTOS, G. R. dos. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre fungos fitopatogênicos. **Magistra**. V. 26, n. 3, p. 361 – 371, 2012.
- CARVALHO, C. A. *et al.* Nanoparticles in the management of brown eye spot in coffee. **European Journal Plant Pathology**. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02511-z>.
- CASTRO, C.; SILVA, M. L.; PINHEIRO, A. L.; JACOVINE, L. A. G. Análise econômica do cultivo e extração do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 2, p. 241-249, 2005.
- CAWOY, H.; BETTIOL, W.; FICKERS, P.; ONGENA, M. **Bacillus-based biological control of plant diseases**. In: STOYTICHEVA, M (Ed.). Pesticides in the modern world: pesticides use and management. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP, p. 273-302, 2011.
- COHEN, Y. Induced resistance against fungal diseases by aminobutyric acids. In: LYR, H.; RUSSEL, P. E.; SISLER, H. D. (Ed.). **Modern fungicides and antifungal compounds**. Andover: Intercept, p. 461-466, 1996.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Café Junho de 2022. **Conjunturas da**

**Agropecuária.** CONAB – Superintendência Nacional de Minas Gerais, Jun. 2022. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analise-regional-do-mercado-agropecuario/analise-regional-mg-cafe>>. Acesso em 9 de Jun. 2022.

COX, S.D.; MANN, C. M.; MARKHAM, J. L.; BELL, H. C.; GUSTAFSON, J.E.; WARMINGTON, J. R.; WYLLIE, S. G. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Journal of Applied Microbiology**, v.88, p.170–175, 2000.

DAVIS, A. P. et al. Lost and Found: *Coffea stenophylla* and *C. affinis*, the Forgotten Coffee Crop Species of West Africa. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, 2020.

ELMER, W.; WHITE, J. C. The Future of Nanotechnology in Plant Pathology. **Annu. Rev. Phytopathol**, v. 56, p. 01-33. 2018.

FAZUOLI, L.C. et al. IAC 125 RN - Uma cultivar de café anã resistente à ferrugem da folha e nematoide das galhas. **Applied Biotechnology**, v.18, n. 2, p. 237-240, 2018.

FERNANDES, M. C. A. Emprego de métodos alternativos de controle de pragas e doenças na olericultura. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 110-112, 2000.

FILHO, R. L. **Controle da mancha (*Xanthomonas vesicatoria*) e pinta (*Pseudomonas syringae* pv. tomato GFP-marcada) bacteriana do tomateiro por isolados endofíticos de *Bacillus* sp.** 2011. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011. 107f.

GUIMARÃES, S. E. et al. Indutores de resistência no controle da cercosporiose do cafeeiro: análise de genes relacionados à defesa. **Coffee Science**, Lavras, v. 11, n. 3, p. 308-317, jul./set. 2016.

HAMMER, K. A., CARSON, C. F., RILEY, T.V. Effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil and the major monoterpene component Terpinen-4-ol on the development of single- and multistep antibiotic resistance and antimicrobial susceptibility. **Antimicrob Agents Chemother**. 56(2):909-15, 2012.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil inhibits germ tube formation by *Candida albicans*. **Medical Mycology**, v.38, p.355–362, 2000.

HUBER, D.; ROMHELD, V.; WEINMANN, M. Relationship between nutrition, plant disease and pests. In: MARSCHNER, P. (Ed). **Mineral Nutrition of Higher Plants**. Elsevier. 3. ed., p. 283 – 298. London, 2012.

ICO. International Coffee Organization. **Trade statistics – June 2022**. Jun. 2022. Disponível em: <<https://www.ico.org/>>. Acesso em 9 de Jun. 2022.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 4730:2004, Oil of *Melaleuca*, terpinen-4-ol type (tea tree oil)**. Geneva, Switzerland: ISO, 1996.

LA TORRE, A.; IOVINCO, V.; CARADONIA, F. Copper in plant protection: current situation and prospects. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 57, n. 2, p. 201–236, 2018.

LANNA F. R.; FERRO, H. M.; PINHO, R. S. C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 2, p. 12-20, 2010.

LEAL, F. D. S. et al. Desenvolvimento e criação de novos fungicidas. In: POZZA, E. A. et al. (Eds). **Plant health in tropical agribusiness: the numbers of the giant**. Lavras: UFLA, p. 28 – 49. Novembro, 2019.

LEELASUPHAKUL, W.; HEMMANEE, P.; CHUENCHITT, S. Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.48, p. 113-121, 2008.

LORENZETTI, E. R. et al. **Bioatividade de óleos essenciais no controle de Botrytis cinerea isolado de morangueiro**. Revista Brasileira de Plantas Medicinai. v.13, n.3, p.619-627, 2012.

MAGDALANE, C. M. et al. Photocatalytic activity of binary metal oxide nanocomposites of CeO<sub>2</sub>/CdO nanospheres: investigation of optical and antimicrobial activity. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.163, p.77-86, 2016.

MAHADTANAPUK, S.; YU, L. D.; CUTLER, R.; VILAITHONG, T.; ANUNTALA-T BHOCHAR, S. Mutation of *Bacillus licheniformis* using low-energy ion beam bombardment. **Surface Coatings Technology**, Tailândia, v.201, p. 8028-8033.2007.

MARCOLINO, E. **Determinação do intervalo da aplicação de produtos cúpricos a inoculação de *Hemileia vastatrix* em mudas de café**. 2019. 50 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 2019.

MEDICE, R. **Produtos alternativos no manejo da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) da soja**. 2007. 102 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MIGUEL, K. S. A. C. **Características do setor café brasileiro e perspectivas para sua expansão: um estudo bibliográfico**. 2017. 49 f. Monografia (Graduação em Administração). Universidade do extremo sul catarinense – UNESC, Criciúma, 2017.

NANOPARTICLES: Synthesis, antiseptic activity and toxicity mechanism. **Advances in Colloid and Interface Science**. 249: 37–52, 2017. DOI: 10.1016/j.cis.2017.07.033.

NAVROTSKY, A. Nanomaterials in the environment, agriculture, and technology (NEAT). **Journal of Nanoparticle Research**, v. 2, p. 321–323, 2000.

PASSOS, L. N. **Eficiência dos fungicidas químicos alternados com *Bacillus subtilis* no controle do mofo cinento no morango**. 2020. Monografia (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020. 25f.

PEREIRA, R. B. 2008. 119 p. **Potencial de óleos essenciais no manejo da ferrugem e da cercosporiose do café**. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 2008.

PÉREZ, C. D. P. et al. Metalloid and metal oxide nanoparticles suppress sudden death syndrome of soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 68(1), p. 77-87. 2019b. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06082>.

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

PINTO D. A.; MANTOVANI E. C.; MELO E. de C.; SEDIYAMA G. C.; VIEIRA G. H. S. Produtividade e qualidade do óleo essencial de capim-limão, *Cymbopogon citratus* DC., submetido a diferentes lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 1, p. 54-61, 2014.

PIPER, P.; CALDERON, C.O.; HATZIXANTHIS, K.; MOLLAPOUR, M. Weak acid adaptation: the stress response that confers resistance to organic acid food preservatives. **Microbiology**, Washington, v. 147, n. 10, p. 2635-2642, out. 2001.

POZZA, A. A. A.; MARTINEZ, H.E.P.; CAIXETA, S.L.; CARDOSO, A.A., ZAMBOLIM, L.; POZZA, E. A. Influência da nutrição mineral na intensidade da mancha-de-olho-pardo em mudas de cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 36 : 5 3 –6 0, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2001000100007>.

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

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

RESENDE, M.L.V.; POZZA, E.A.; REICHEL, T.; BOTELHO, D.M.S. Strategies for Coffee Leaf Rust Management in Organic Crop Systems. **Agronomy**. 2021, *11*, 1865. <https://doi.org/10.3390/agronomy11091865>.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Potencial de extratos e óleos essenciais de vegetais como indutores de resistência – plantas medicinais. In: **Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas contra Fitopatógenos**, 1., 2003, São Pedro. Anais... São Pedro: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz/USP, 2003.

SILVA, A. C. A. et al. Fitossanidade do cafeeiro: relação com a qualidade sensorial. In: IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2015, Curitiba. **Anais [...]**. Curitiba, PR: Embrapa Café, 2015. p. 5.

SILVA, F. J. et al. Adubação nitrogenada e potássica e sua relação com a incidência de cercosporiose e ferrugem em cafeeiro fertirrigado. **Revista Ciência Agrícola**, v. 18, n. 3,p. 29-35, 2020.

SILVA, F. J; VIEIRA, B. S.; SIQUIEROLI, A. C. S. Biological control of *Pseudomonas syringae* pv. garcae in coffee crop with Bacillus spp. isolates. **Científica**, v.47, n.4, p.364–370, 2019.

SOUZA, A. D.; ROGGERIO, T. U.; FURLAN, M. R.; AOYAMA, E. M. **Óleo de melaleuca (Melaleuca alternifolia Maiden & Betche, Cheel) no controle de cercosporiose em beterraba.** *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.17, n.4, supl. III p.1078-1082, 2015.

SOUZA, N. S. **Controle da ferrugem do cafeeiro com óleos essenciais.** 2020. 49 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 2020.

STANDNIK, M. J. **Induction of resistance in wheat by a benzothiadiazole derivative against the powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*): practical aspects and mechanisms of action.** (Tese – PhD) – University of Hohenheim, Stuttgart, 1999.

VAN DEN BOSCH, F. et al. Identifying when it is financially beneficial to increase or decrease fungicide dose as resistance develops: An evaluation from long-term field experiments. **Plant Pathology**, v. 69, n. 4, p. 631-641, 2020.

VIDIGAL, A. E. C. et al. Nickel complexes with phosphines and N-Rsulfonyldithiocarbimates ligands: new antifungals for the control of *Hemileia vastatrix* and *Phakopsora pachyrhizi*. **Inorganica Chimica Acta**, v. 486, p. 724-732, 2019.

VIEIRA, T. R. et al. Constituintes químicos de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). **Química Nova**, São Paulo, n. 4, v. 27, p. 536-539, jul./ago. 2004.

WU, L.; WU, H. J.; QIAO, J.; GAO, X.; BORRIS, R. Novel routes for improving biocontrol activity of *Bacillus* based bioinoculants. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1395, 2015.

XU, S. J.; PARK, D. H.; KIM, J. Y.; KIM, B. S. Biological control of gray mold and growth promotion of tomato using *Bacillus* spp. isolated from soil. **Tropical Plant Pathology**, v. 41, p. 169-176, 2016.

YRUELA, I. Copper in plants: acquisition, transport and interactions. **Functional Plant Biology**, v. 36, p. 409-430, 2009.

ZAMBOLIM, L. et al. **Produtos fitossanitários (Fungicidas, Inseticidas, Acaricidas e Herbicidas).** Viçosa: UFV, 2008. 652 p.

ZANETTI, G. F. B. **Efeito do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* na germinação de esporos e crescimento micelial de *Colletotrichum* spp., *Fusarium* sp. e *Cylindrocladium* sp.** 2018. 32f. Trabalho de conclusão de Curso (Graduação em Agronomia). Universidade Federal de Lavras - UFLA, Lavras, 2018.