



**Ano VI, v.1 2026 | submissão: 15/03/2026 | aceito: 17/03/2026 | publicação: 19/03/2026**  
**Efeito De Fungicidas Na Descontaminação E Sobrevivência De Explantes De Coffea Arabica L. Cultivados In Vitro**  
*Effect Of Fungicides On Decontamination And Survival Of In Vitro Cultured Coffea Arabica L. Explants*

**Wilian De Oliveira Rocha** – Centro Universitário De Várzea Grande (UNIVAG)  
[wilian@univag.edu.br](mailto:wilian@univag.edu.br)

**Amanda De Lima Nonato** – Centro Universitário De Várzea Grande (UNIVAG)  
[amanda.nonato28@gmail.com](mailto:amanda.nonato28@gmail.com)

**Eduarda Da Silva Jaboniski** – Centro Universitário De Várzea Grande (UNIVAG)  
[eduardajaboinskiduda@gmail.com](mailto:eduardajaboinskiduda@gmail.com)

**Max Fernando De Pinho** – Centro Universitário De Várzea Grande (UNIVAG)  
[maxferpinho@gmail.com](mailto:maxferpinho@gmail.com)

## Resumo

O café destaca-se como uma das principais commodities agrícolas do Brasil, sendo o *Coffea arabica* L. a de maior relevância econômica. A micropropagação in vitro é uma ferramenta essencial para a produção de mudas uniformes e saudáveis, contudo, a contaminação microbiana permanece como o principal obstáculo no estabelecimento das culturas. Este estudo objetivou avaliar o efeito de diferentes fungicidas e concentrações na desinfestação superficial e sobrevivência de explantes de *C. arabica* cultivadas in vitro. Explantes foliares e meristemáticos foram submetidos a protocolo de assepsia superficial e inoculados em meio de cultura Woody Plant Medium (WPM), sob oito tratamentos contendo fungicidas tebuconazol e azoxistrobina, isolados ou combinados, com quatro repetições cada. As variações testadas incluíram contaminação fúngica, bacteriana e sobrevivência durante 28 dias. Os dados foram submetidos a Modelos Lineares Generalizados (GLM) com distribuição binomial e comparações pareadas pelo teste exato de Fisher com Correção de Holm. Os resultados indicaram efeito significativo ( $p < 0,05$ ) dos tratamentos para todas as variáveis. Embora as comparações pareadas não tenham apresentado diferenças isoladas após a correção de múltiplos testes, observou-se superioridade biológica no tratamento com azoxistrobina ( $1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ ), que apresentou ausência total de contaminantes e 100% de sobrevivência. Esses achados sugerem que as estrobilurinas favorecem o equilíbrio entre o controle sanitário e a integridade fisiológica do explante. Conclui-se que o uso estratégico de fungicidas no meio de cultura é promissor para melhorar o estabelecimento in vitro de cafeeiros, recomendando-se uma ampliação amostral para validar as dosagens ideais e mitigar os efeitos de fitotoxicidade oxidativa.

**Palavras-chave:** Assepsia vegetal, Contaminação endofítica, Cultura de tecidos.

## Abstract

Coffee stands out as one of Brazil's main agricultural commodities, with *Coffea arabica* L. being the most economically important. In vitro micropropagation is an essential tool for producing uniform and healthy seedlings; however, microbial contamination remains the main obstacle to crop establishment. This study aimed to evaluate the effect of different fungicides and concentrations on surface disinfection and survival of *C. arabica* explants cultivated in vitro. Leaf and meristematic explants were subjected to a surface asepsis protocol and inoculated in Woody Plant Medium (WPM) culture medium, under eight treatments containing the fungicides tebuconazole and azoxystrobin, alone or in combination, with four replicates each. The variations tested included fungal and bacterial contamination and survival for 28 days. The data were subjected to Generalized Linear Models (GLM) with binomial distribution and paired comparisons using Fisher's exact test with Holm correction. The results indicated a significant effect ( $p < 0.05$ ) of the treatments for all variables. Although paired comparisons did not show isolated differences after multiple test correction,

**Ano VI, v.1 2026 | submissão: 15/03/2026 | aceito: 17/03/2026 | publicação: 19/03/2026**

biological superiority was observed in the treatment with azoxystrobin ( $1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ ), which showed a total absence of contaminants and 100% survival. These findings suggest that strobilurins favor the balance between sanitary control and the physiological integrity of the explant. It is concluded that the strategic use of fungicides in the culture medium is promising for improving the *in vitro* establishment of coffee plants, and a larger sample size is recommended to validate the ideal dosages and mitigate the effects of oxidative phytotoxicity.

**Keywords:** plant asepsis; endophytic contamination; plant tissue culture.

## 1. Introdução

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café, apresentando elevada relevância econômica no cenário agrícola global. Em 2024, o país exportou aproximadamente 50,5 milhões de sacas de 60 kg do produto, iniciando o ano de 2025 com resultados positivos no mercado internacional (CONAB, 2025). Entre as espécies cultivadas, *Coffea arabica* L. destaca-se pela qualidade dos grãos e pela grande representatividade nas exportações brasileiras (CECAFÉ, 2026).

Entretanto, a produção cafeeira pode ser comprometida por diversos fatores bióticos e abióticos, entre os quais se destacam as doenças fúngicas. Entre elas, a mancha de *Phoma*, causada por espécies do gênero *Phoma*, ocorre em praticamente todas as regiões produtoras do país, ocasionando sintomas como deformações no limbo foliar, necroses, seca de ramos e abortamento de frutos jovens, o que pode reduzir significativamente a produtividade das lavouras (CAIXETA et al., 2024).

Nesse contexto, a biotecnologia vegetal tem se consolidado como uma importante ferramenta para a produção de mudas livres de patógenos. Dentre as técnicas disponíveis, a micropropagação permite a multiplicação rápida e controlada de plantas, utilizando explantes cultivados em condições assépticas, garantindo maior uniformidade genética e fitossanitária (VIEIRA; KOBAYASHI, 2002).

Durante o cultivo *in vitro*, entretanto, a contaminação por fungos e bactérias constitui um dos principais desafios para o estabelecimento e manutenção das culturas. Dessa forma, a utilização de agentes antimicrobianos associados a protocolos adequados de assepsia torna-se essencial para a obtenção de explantes viáveis e livres de contaminantes. Além disso, o uso de reguladores de crescimento vegetal (fitohormônios) desempenha papel fundamental na indução de processos morfogênicos, como formação de calos, brotações e enraizamento, sendo indispensável para o sucesso da micropropagação (ALMEIDA, 2023).

Segundo Mamata et al. (2022), programas eficientes de manejo de doenças frequentemente combinam métodos químicos com outras estratégias de controle. No contexto da cultura de tecidos vegetais, a avaliação de diferentes compostos antifúngicos e suas concentrações pode contribuir para o desenvolvimento de protocolos mais eficientes de descontaminação e estabelecimento de culturas.

Ano VI, v.1 2026 | submissão: 15/03/2026 | aceito: 17/03/2026 | publicação: 19/03/2026

Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes fungicidas e suas concentrações na assepsia, sobrevivência e desenvolvimento inicial de explantes de *Coffea arabica* L. cultivados *in vitro*.

## 2. Material e Métodos

O experimento de micropropagação e cultivo *in vitro* foi realizado no Laboratório de Biotecnologia do Centro Universitário de Várzea Grande – UNIVAG, a partir da coleta de limbos foliares e meristemas executada em espécime de *Coffea arabica* L. proveniente de cultivo do Campo Experimental do UNIVAG.

Foram utilizados explantes foliares e meristemáticos de *Coffea arabica* L., provenientes de plantas matrizes com histórico de baixa sanidade fitossanitária e ocorrência de contaminação fúngica associada ao gênero *Phoma* spp. Os explantes foram coletados de plantas cultivadas em condições de campo e posteriormente conduzidos ao laboratório para estabelecimento da cultura *in vitro*.

Os explantes foram submetidos ao processo de assepsia em capela de fluxo laminar, seguindo as seguintes etapas:

- 1.imersão em álcool etílico 70% por 3 minutos;
- 2.imersão em solução de hipoclorito de sódio a 2% por 3 minutos;
- 3.três lavagens consecutivas com água destilada e esterilizada;
- 4.imersão em solução contendo os produtos correspondentes a cada tratamento experimental durante 1 hora.

Após o procedimento de desinfestação, os explantes foram inoculados em frascos contendo meio de cultura WPM (*Woody Plant Medium*), frequentemente utilizado para espécies lenhosas.

Foram avaliados dois fungicidas sistêmicos amplamente utilizados no manejo fitossanitário: Tebuconazol e Azoxistrobina, aplicados à composição do meio de cultura considerando as concentrações dos produtos comerciais. Esses produtos foram testados isoladamente e em combinação, em diferentes concentrações, conforme apresentado na Tabela 1. Cada tratamento foi constituído por quatro repetições, sendo cada repetição composta por um frasco contendo três explantes meristemáticos.

**Tabela 1.** Delineamento experimental dos tratamentos compostos por produtos comerciais e respectivas dosagens, empregados para o controle de contaminantes em explantes de *C. arabica* L.

Tratamento	Tebuconazol (mL·L <sup>-1</sup> )	Azoxistrobina (mL·L <sup>-1</sup> )
C	0	0

Ano VI, v.1 2026 | submissão: 15/03/2026 | aceito: 17/03/2026 | publicação: 19/03/2026

T1	0,5	0
T2	1	0
T3	1,5	0
T4	0	0,5
T5	0	1
T6	0	1,5
T7	0,5	0,5

Os frascos foram mantidos em sala de crescimento sob as seguintes condições: temperatura de  $25 \pm 2$  °C; fotoperíodo de 16 horas; intensidade luminosa aproximada de  $40 \mu\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

As avaliações foram realizadas semanalmente durante 28 dias, registrando-se as seguintes variáveis: contaminação fúngica, contaminação bacteriana, sobrevivência dos explantes, formação de calos ou brotações, oxidação dos tecidos, variações morfológicas observáveis. Cada variável foi registrada em escala binária, sendo: 0 = ausência da característica; 1 = presença da característica.

Os dados obtidos foram organizados em planilha eletrônica e posteriormente analisados estatisticamente. Para cada tratamento foram calculadas: frequência absoluta de ocorrência (k), número total de observações (n) e proporção observada (k/n). As proporções foram utilizadas para comparação entre tratamentos e interpretação dos resultados biológicos do experimento.

Para cada variável avaliada foram estimados intervalos de confiança de 95% para proporções, utilizando o método de Wilson, considerado mais adequado para experimentos com pequeno número amostral. Essa abordagem permite estimativas mais robustas da incerteza associada às proporções observadas.

Para avaliar o efeito dos tratamentos nas variáveis analisadas foi utilizado um Modelo Linear Generalizado (GLM) com distribuição binomial e função de ligação logit.

O modelo utilizado foi:

$$Y \sim \text{Tratamento}$$

onde:

Y = variável resposta (sobrevivência ou contaminação);

Tratamento = fator categórico com oito níveis (C, T1–T7).

A significância do efeito de tratamento foi avaliada por meio do teste da razão de verossimilhança (Likelihood Ratio Test – LRT).

Para avaliar diferenças específicas entre tratamentos foram realizadas comparações pareadas utilizando o teste exato de Fisher, apropriado para dados binários com pequeno número de observações. Em relação ao controle do erro do tipo I associado às múltiplas comparações foi aplicado o ajuste de Holm aos valores de p.

**Ano VI, v.1 2026 | submissão: 15/03/2026 | aceito: 17/03/2026 | publicação: 19/03/2026**

Devido ao número reduzido de repetições por tratamento ( $n = 4$ ), foi realizada uma estimativa de poder estatístico por simulação, com o objetivo de avaliar a probabilidade do experimento detectar diferenças entre tratamentos. A estimativa foi realizada utilizando simulações baseadas nas proporções observadas no experimento, considerando testes globais de independência entre tratamento e variável resposta.

Além dos testes estatísticos inferenciais, foi realizada uma análise exploratória das relações entre: sobrevivência dos explantes e incidência de contaminação. Foi construída uma representação gráfica do tipo dispersão entre sobrevivência e contaminação total, permitindo visualizar padrões biológicos entre os tratamentos e identificar possíveis relações de *trade-off* entre sobrevivência e contaminação.

As análises estatísticas e visualizações gráficas foram realizadas utilizando *Python*, com o auxílio das bibliotecas: Pandas (organização dos dados), Statsmodels (modelos estatísticos), SciPy (testes estatísticos) e Matplotlib (visualização gráfica).

### 3. Resultados e Discussão

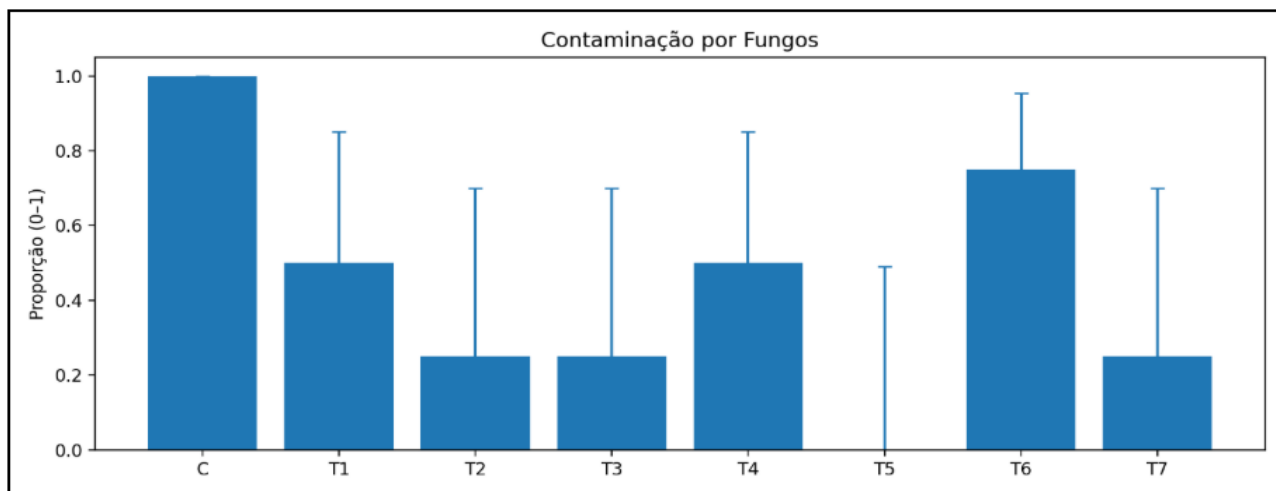
A análise temporal demonstrou que a assepsia superficial padrão (álcool e hipoclorito) foi eficaz apenas na fase inicial, visto que não houve sinais de contaminação na primeira semana. Contudo, a emergência de fungos e bactérias a partir da segunda e terceira semanas, especialmente nos tratamentos T1, T3 e T4, sugere que os microrganismos estavam alojados em nichos endofíticos ou em estado de latência. Em espécies lenhosas como *C. arabica*, a persistência de contaminantes internos é um desafio recorrente, como o *Phoma* spp., pois o tecido vascular pode abrigar patógenos que escapam aos agentes desinfetantes de contato (VIEIRA; KOBAYASHI, 2002).

O Modelo Linear Generalizado (GLM) revelou que os tratamentos exerceram influência significativa sobre a contaminação fúngica ( $p = 0,039$ ), bacteriana ( $p = 0,0016$ ) e na sobrevivência ( $p = 0,009$ ). Embora o teste exato de Fisher, após a correção de Holm, não tenha isolado diferenças pareadas devido ao tamanho amostral ( $n = 4$ ), as tendências biológicas observadas sugerem diferenças entre tratamentos.

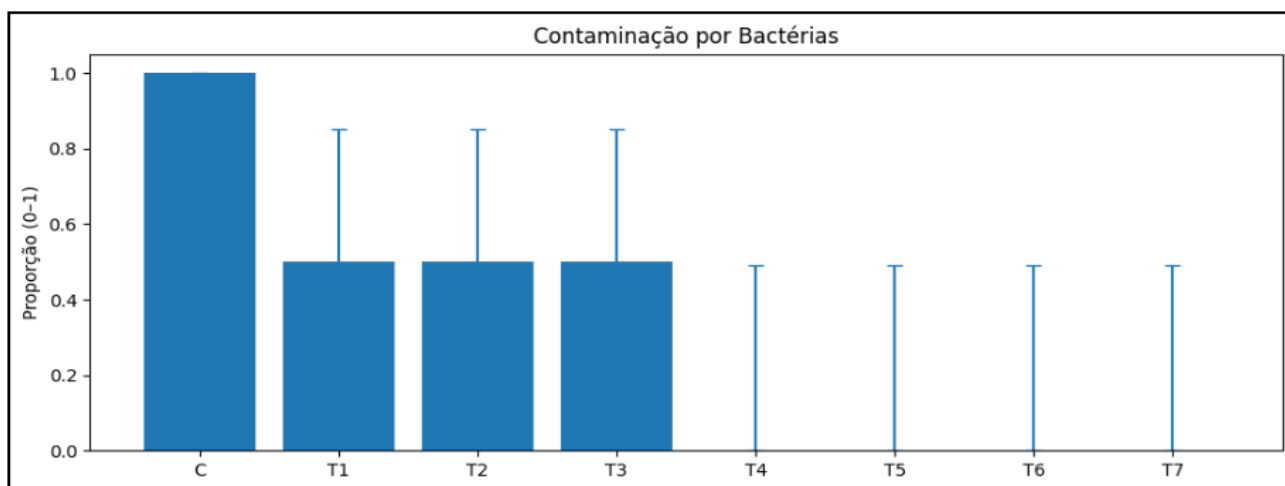
Assim, a distribuição das proporções de contaminação fúngica entre os tratamentos pode ser observada na Figura 1 e a distribuição da contaminação bacteriana entre os tratamentos segue apresentada na Figura 2.

Ano VI, v.1 2026 | submissão: 15/03/2026 | aceito: 17/03/2026 | publicação: 19/03/2026

**Figura 1.** Proporção de contaminação fúngica observada nos explantes de *Coffea arabica* L. cultivados *in vitro* sob diferentes tratamentos com fungicidas. As barras representam as proporções observadas e os intervalos de confiança de 95%.



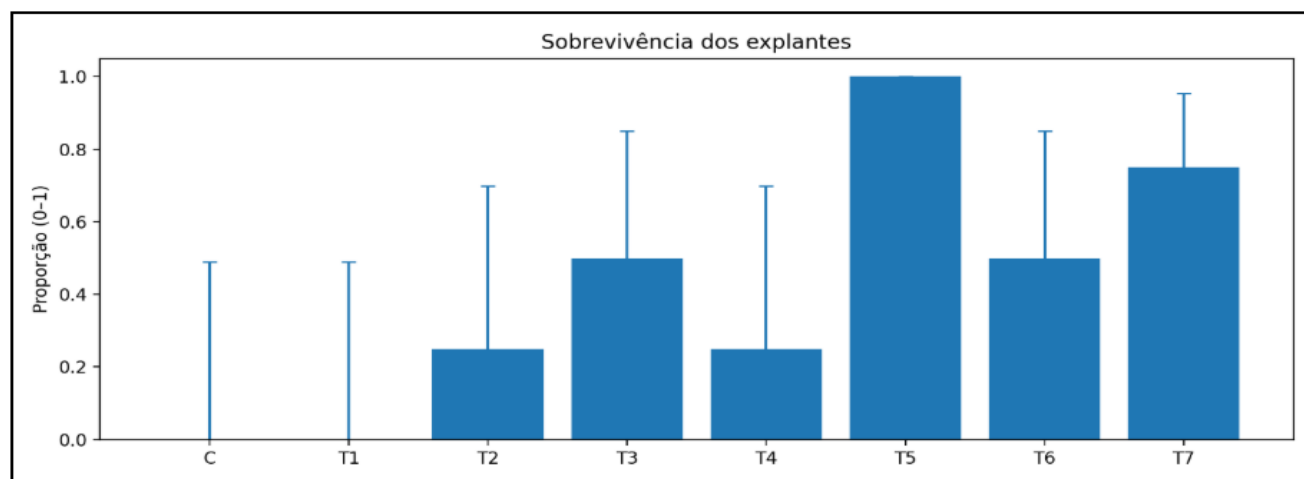
**Figura 2.** Proporção de contaminação bacteriana encontrada em explantes de *Coffea arábica* L. cultivados *in vitro* sob diferentes tratamentos fungicidas.



O tratamento T5 (Azoxistrobina 1 mL L<sup>-1</sup>) destacou-se pela ausência total de contaminantes (Figuras 1 e 2) e taxa de sobrevivência de 100% (Figura 3). A eficácia da azoxistrobina deve-se ao seu papel como inibidor do transporte de elétrons no complexo bc1 da mitocôndria fúngica (SANTOS et al., 2023). Para além do controle sanitário, o vigor observado nos explantes pode ser explicado pelo fenômeno de "efeito verde" das estrobilurinas. Segundo Klaic et al. (2021), esses compostos retardam a senescência foliar ao reduzir a síntese de etileno e modular a atividade de enzimas como a superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT), mitigando os danos às membranas celulares durante a fase crítica de adaptação *in vitro*.

Ano VI, v.1 2026 | **submissão: 15/03/2026** | **aceito: 17/03/2026** | **publicação: 19/03/2026**

**Figura 3.** Proporção de sobrevivência dos explantes de *Coffea arabica* L. cultivados *in vitro* sob diferentes tratamentos fungicidas.



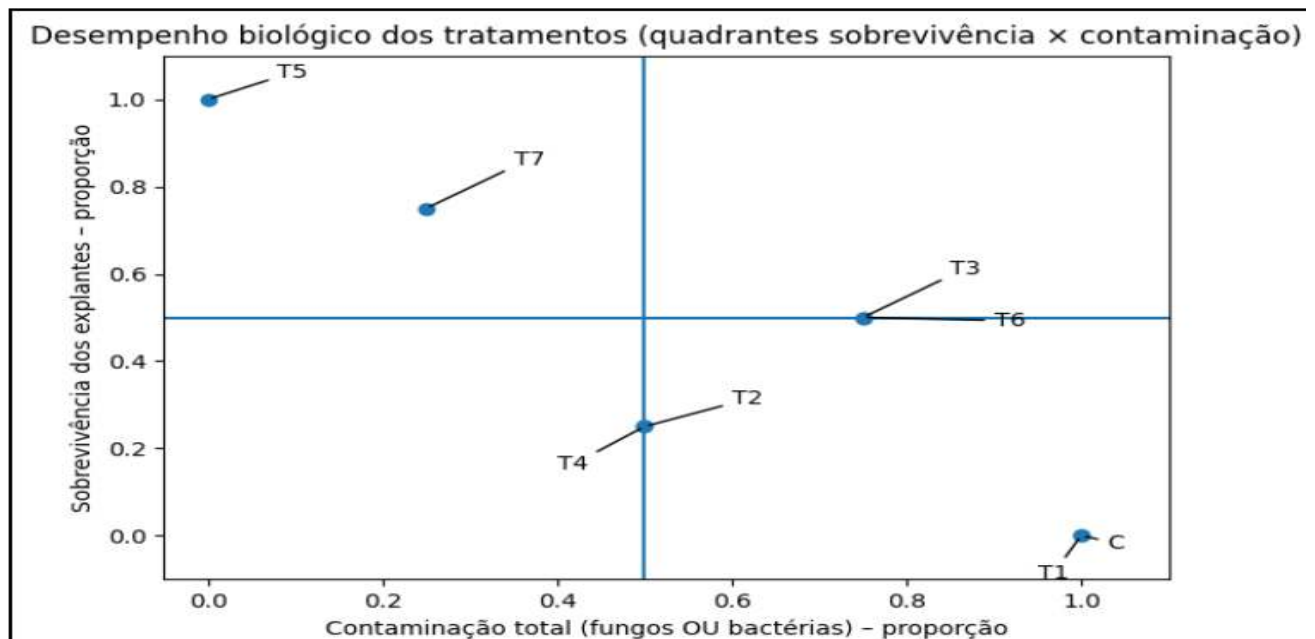
Em contraste, os tratamentos contendo Tebuconazol (T1, T2 e T3) e as combinações (T7) resultaram em elevados índices de oxidação e menor sobrevivência. O tebuconazol atua na inibição da enzima 14 $\alpha$ -desmetilase, essencial na síntese de ergosterol em fungos. Entretanto, em tecidos vegetais, triazóis podem apresentar efeitos colaterais fitotóxicos ao interferirem na rota metabólica das giberelinas (NARTVARANANT et al., 2024). Essa interferência hormonal frequentemente leva ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), desencadeando a peroxidação lipídica. A oxidação observada, manifestada pelo escurecimento dos tecidos, decorre da polimerização de quinonas tóxicas formadas pela ação da polifenoloxidase sobre compostos fenólicos liberados sob estresse (ALMEIDA, 2023; RODRIGUES et al., 2022).

Um ponto relevante foi a redução da contaminação bacteriana em tratamentos fungicidas (T5 a T7). Embora a azoxistrobina e o tebuconazol não possuam propriedades bactericidas diretas, estudos indicam que a supressão da microbiota fúngica altera o microambiente químico do explante, podendo exercer uma exclusão competitiva (MAMATA et al., 2022). Adicionalmente, autores como Chen et al. (2023) sugerem que certos fungicidas sistêmicos podem ativar vias de sinalização de defesa, como a via do ácido salicílico, aumentando a resistência basal do tecido contra patógenos oportunistas.

Além da análise estatística inferencial, foi realizada uma análise exploratória das tendências biológicas (relações entre contaminação e sobrevivência dos explantes), em que as proporções observadas revelaram um padrão de *trade-off* biológico (Figura 4).

Ano VI, v.1 2026 | **submissão: 15/03/2026** | **aceito: 17/03/2026** | **publicação: 19/03/2026**

**Figura 4.** Relação entre contaminação total e sobrevivência de explantes de *Coffea arabica* L. cultivados *in vitro* sob diferentes tratamentos fungicidas.



A análise de *trade-off* (Figura 4) confirmou que a sobrevivência está intrinsecamente ligada ao equilíbrio entre a eficiência da desinfestação e a integridade fisiológica do tecido. Enquanto o controle (C) sucumbiu à competição microbiana, os tratamentos combinados podem ter ultrapassado o limiar de tolerância química do cafeeiro. Assim, a utilização de Azoxistrobina em concentrações intermediárias configura-se como uma estratégia superior, pois equilibra a pressão fungistática com a manutenção do status antioxidante da planta (FERREIRA; SOUZA, 2024).

Neste íterim, recomenda-se a ampliação do número de repetições experimentais o número de repetições experimentais, permitindo análises estatísticas mais detalhadas e maior robustez na comparação entre concentrações de fungicidas, pois por mais que não tenham sido detectadas diferenças nas comparações pareadas após correção para múltiplos testes, os resultados indicam tendência consistente de melhor desempenho para determinados tratamentos, sugerindo potencial para otimização de protocolos de cultivo *in vitro*.

## Considerações Finais

Os resultados deste estudo confirmam que a inclusão de fungicidas sistêmicos no processo de estabelecimento *in vitro* de *Coffea arabica* L. exerce influência significativa no controle da carga microbiana e na viabilidade dos explantes. O uso de um Modelo Linear Generalizado permitiu identificar que, embora a assepsia superficial clássica seja insuficiente para mitigar patógenos latentes, a intervenção química estratégica altera o perfil de sobrevivência das culturas.



**Ano VI, v.1 2026 | submissão: 15/03/2026 | aceito: 17/03/2026 | publicação: 19/03/2026**

O tratamento contendo azoxistrobina na concentração de  $1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  (T5) demonstrou ser o protocolo mais promissor, apresentando ausência total de contaminação observada e taxa máxima de sobrevivência. Tal desempenho sugere que este composto atua de forma seletiva, controlando contaminantes sem induzir os níveis críticos de oxidação tecidual observados nos tratamentos com tebuconazol ou em combinações de princípios ativos.

Embora o número reduzido de repetições tenha limitado a detecção de diferenças estatísticas pareadas após a correção de múltiplos testes, as tendências biológicas e o efeito global do modelo indicam que a azoxistrobina possui potencial para otimizar a micropropagação de cafeeiros com histórico fitossanitário comprometido. Recomenda-se, para trabalhos futuros, a expansão do delineamento experimental e a investigação dos efeitos residuais desses fungicidas no desenvolvimento organogênico subsequente dos explantes.

## Referências

ALMEIDA, J. G. **Uso de hipoclorito na descontaminação de explantes e efeito de fitohormônios sobre a propagação in vitro de baunilha (*Vanilla bahiana* Hoehne)**. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2023.

CAIXETA, E. *et al.* **Manejo integrado de pragas e doenças do café arábica**. Brasília, DF: Embrapa, 2024. (Circular Técnica).

CHEN, L. *et al.* Priming of plant defense responses by systemic fungicides: a molecular approach. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 71, n. 5, p. 1102-1115, 2023.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Ministério do Desenvolvimento Agrário e Agricultura Familiar**. Brasília: CONAB, 2025.

CONSELHO DOS EXPORTADORES DE CAFÉ DO BRASIL (CECAFÉ). **Relatório mensal de exportação – janeiro de 2026**. São Paulo: Cecafé, 2026. Disponível em: <https://www.cecafe.com.br/publicacoes/relatorio-de-exportacoes/>. Acesso em: 23 fev. 2026.

FERREIRA, M. A.; SOUZA, R. T. Fisiologia do estresse em plantas lenhosas cultivadas *in vitro*. **Revista Brasileira de Botânica Aplicada**, v. 15, n. 1, p. 45-60, 2024.

KLAIC, M. *et al.* Physiological effects of strobilurins on plant growth and yield: a review. **Agricultural Science**, v. 12, n. 4, p. 245-258, 2021.

MAMATA, S. G. *et al.* Assessment of efficacy of potential fungicides and biocontrol agents for efficient management of *Phoma* sp., causing leaf spot of pigeonpea. **Biological Forum – An International Journal**, Índia, p. 1321-1327, 2022.

NARTVARANANT, P. *et al.* Effects of triazole compounds on plant growth and development in



**Ano VI, v.1 2026 | submissão: 15/03/2026 | aceito: 17/03/2026 | publicação: 19/03/2026**  
woody species. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 43, p. 112-125, 2024.

RODRIGUES, P. S. *et al.* Fenologia e metabolismo oxidativo em *Coffea arabica* sob estresse abiótico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 57, e02845, 2022.

SANTOS, R. L. *et al.* Mecanismos de ação de fungicidas sistêmicos no controle de patógenos endofíticos. **Revista Brasileira de Fitopatologia**, v. 48, n. 2, 2023.

VIEIRA, L. G. E.; KOBAYASHI, A. K. Micropropagação do cafeeiro. In: **SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL**, Poços de Caldas, MG. **Palestras**. Brasília: Embrapa Café, 2002. p. 147-167.