

INDUÇÃO DE PROTEÇÃO CONTRA OS EFEITOS DA GEADA EM *COFFEA ARABICA* (L)¹

ERNA ELISABETH BACH², DENISE MARIA MILLEN MIGLIOLI CAVICCHIOLI,
JOSÉ BENEDITO PEREIRA NUNES³ e MARIA JULIA GOBBO BERETTA⁴

RESUMO - Cafeeiros tratados com inseticidas fosforados sistêmico (Solvirex e Disyston) em campos experimentais montados nas regiões de Pinhal, Garça e Lucianópolis, Estado de São Paulo, apresentaram uma proteção contra os efeitos de baixas temperaturas, e uma melhor recuperação após a ocorrência de geadas. Todos os grupos de plantas tratadas receberam três aplicações do inseticida, variando a formulação do produto (granulado ou técnico), a quantidade do produto aplicada, e as épocas da aplicação. Análises químicas de extratos de folhas de plantas tratadas e controles demonstraram que a aplicação do produto provocou aumento no conteúdo de proteínas e açúcares, que está relacionado com a proteção da planta contra os efeitos da geada. Nos espaços intercelulares das folhas das plantas-controles constatou-se a presença de diversos tipos de bactérias que estavam ausentes nas folhas das plantas tratadas. Nos frutos de café das plantas tratadas não foram detectados resíduos de derivados de sulfona, do dissulfoton, não havendo tampouco diferença na qualidade da bebida proveniente dos frutos de café das plantas tratadas e não-tratadas.

Termos para indexação: cafeeiro, inseticidas fosforados.

INDUCED PROTECTION IN *COFFEA ARABICA* (L.) AGAINST THE EFFECTS OF FROST TEMPERATURE

ABSTRACT - Coffee plants treated with phosphorated systemic insecticides (Solvirex and Disyston) in field trials at Pinhal, Garça and Lucianópolis, SP, Brazil, showed to be protected against the effects of freezing temperatures. Also a better further recovery after the frost occurrence was observed. Treatments varied according to the product formulation (granulated or technical) to be applied, dosage and time intervals between two consecutive applications. All treated plants received three applications. Chemical analysis of leaf extracts from treated plants showed that the product enhances an increase in protein and sugar contents correlated with the protection against the effects of freezing temperatures. In the intercellular spaces of control plant leaves, the presence of different types of bacteria was observed, which were absent in the treated plant leaves. Sulphone derivatives were not detected in coffee berries of treated plants. There was no difference in the coffee flavour or quality between coffee berries from treated and untreated trees.

Index terms: coffee plants, phosphorated insecticides.

INTRODUÇÃO

Os danos causados por baixas temperaturas às plantas cultivadas são muito graves para a economia, mesmo em regiões subtropicais. As tentativas de atenuar os prejuízos causados pelo frio em

plantas cultivadas geralmente envolvem melhoramento genético de variedades adaptadas ou tratamentos químicos (Bornman & Jansson, 1980; Traub, 1983; Asare-Boaman & Fletcher, 1986; Fisher, 1986; Zhang et al., 1986; Guy & Haskell, 1987; Harborne, 1988) visando aumentar a resistência das plantas a baixas temperaturas.

No Brasil, em algumas regiões dos estados de São Paulo, Paraná e Mato Grosso do Sul, com certa frequência, as geadas causam severos prejuízos em cafeeiros, chegando até à desfolha total das plantas, e, mais drasticamente, à sua morte. A pre-

¹ Aceito para publicação em 12 de abril de 1994.

² Química, M.Sc., Inst. Biol., Seção de Bioq. Fitopatológica, Caixa Postal 7119, CEP 01064-970 São Paulo, SP.

³ Eng.-Agr., IBC, Coop. dos Cafeic. - Garça.

⁴ Enga.-Agr., Inst. Biol. - Seção de Biog. Fitopatológica.

venção de geadas nos cafezais é feita através de proteção preventiva ou indireta, que consiste em medidas topoclimáticas e microclimáticas, e de proteção direta, pela nebulização atmosférica (Instituto Brasileiro do Café, 1981).

Almeida & Vaz Arruda (1975), utilizando os inseticidas fosforados sistêmicos dissulfoton técnico (Disyston 83%) e phorate (Thimet 95%) no controle do bicho-mineiro (*Perileucoptera coffeella* Guerin-Men.), constataram a possibilidade de estes produtos protegerem os cafeeiros contra a ação da geadá. Foi a primeira sugestão do uso de tratamento químico como método de aumentar a resistência do cafeeiro aos efeitos de baixas temperaturas. Esta proteção contra os efeitos da geadá sobre os cafezais em campo foi confirmada por Bach et al. (1979), que, em condições de laboratório, observaram a redução dos prejuízos causados por baixas temperaturas em plantas de café tratadas com os inseticidas fosforados sistêmicos, acompanhado de um aumento no total de fenóis, proteínas e açúcares quando comparado com plantas-controles.

O presente trabalho teve como objetivos: verificar a ação dos inseticidas fosforados Solvirex (granulado G10 e líquido 96%) e Disyston (granulado G25) sobre os efeitos causados por baixas temperaturas em cafeeiros, e determinar a quantidade do produto a ser aplicado, verificando a durabilidade do efeito da proteção e conteúdo de açúcares, proteínas e fenóis.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de café (*Coffea arabica* L. cv. Mundo Novocova LCP 388-17) foram utilizadas nos experimentos instalados nos municípios de Pinhal, Garça e Lucianópolis, SP, regiões com alta probabilidade de ocorrência de geadas. Os cafezais de Pinhal contavam quinze anos de idade, e os de Garça e Lucianópolis, três. Os cafeeiros foram separados em grupos de 20 plantas, num total de cinco grupos, em Pinhal (1,2,3,4,C); três em Garça (1,2,C) e quatro em Lucianópolis (1,2,3,C). Os grupos 1,2,3 e 4 foram tratados com inseticida sistêmico. O grupo C não recebeu tratamento, sendo utilizado como controle. Na distribuição dos grupos no campo, para cada experimento, os controles foram tomados a uma distância de 5 m, a fim de evitar a influência dos produtos aplicados nos demais grupos. Durante a realização

dos experimentos, o programa de adubação foi o mesmo para todas as plantas, inclusive para os controles.

O inseticida fosforado utilizado nos campos de Pinhal e Garça foi o Solvirex (granulado - G10 -, e técnico - 96%). Em Lucianópolis, foram utilizados dois inseticidas Solvirex (G10 e 96%) e o Disyston (G-25). A aplicação do granulado foi feita no solo ao redor do tronco e a uma distância de, aproximadamente, 20 cm, enquanto que a formulação líquida (96%) foi aplicada em anel, por borrifamento no caule a 10 cm da base.

Em Pinhal, os grupos 1 e 2 receberam três aplicações do Solvirex G10, nas quantidades de 60 g/planta e 40 g/planta respectivamente. As aplicações foram realizadas nos meses de fevereiro, março e abril, durante os três anos. O grupo 3 recebeu 40 g do Solvirex G10 por planta, e o grupo 4 recebeu 24 ml do produto Solvirex 96% por planta, nos meses de abril, maio e junho, também durante três anos consecutivos.

Em Garça, o grupo 1 recebeu 40 g do Solvirex G10 por planta, enquanto que o grupo 2 foi tratado com 18 ml do produto Solvirex 96% por planta. As aplicações foram realizadas nos meses de março, abril e maio durante os três anos.

Em Lucianópolis, os grupos 1 e 2 receberam três aplicações de 40 g dos produtos Disyston G25 e Solvirex G10 respectivamente. O grupo 3 recebeu três aplicações de 18 ml do produto Solvirex 96% à base de dissulfoton. Os inseticidas foram aplicados nos meses de abril, maio e junho durante três anos.

A amostragem de folhas foi realizada após um mês da última aplicação, de onde ambas as folhas dos terceiros pares de dez ramos do terço-médio das plantas centrais de cada grupo foram coletadas ao acaso e transportadas em sacos de plástico dentro de geladeira de isopor, sendo submetidas, na chegada, em condições de laboratório, a teste de frio e a testes químicos. No ano de 1986, foram realizadas as análises microbiológicas, e determinada a presença de resíduos de dissulfoton nas folhas, sendo também coletados os grãos de café para análise de bebida e de resíduos de dissulfoton.

De cada folha coletada foram cortados discos de 2 cm de diâmetro, colocados em bandejas na câmara de um liofilizador (Chriss-Delta IA), e submetido a temperaturas de 0°C até -6°C. Em seguida, as bandejas foram retiradas da câmara do liofilizador e retornadas à temperatura ambiente ($\pm 23^\circ\text{C}$). A avaliação dos efeitos do frio foi feita pela determinação percentual do número de discos de folhas que apresentaram queimaduras.

Para a realização de testes químicos, foi necessário realizar extrações das folhas coletadas segundo os dois métodos extração etanólica, e pó acetônico.

Na extração etanólica de cada amostra de folhas, 10 g de peso fresco (PF) foram submetidos a extração

em 100 ml de etanol 80% fervente, por cinco minutos. Em seguida, o material foi homogeneizado no Ultraturrax, por dois minutos, à velocidade máxima, e reextraída no mesmo etanol, por mais cinco minutos, sob fervura. A suspensão foi então filtrada em papel Whatman nº.1, e os filtrados foram evaporados em cápsula de porcelana e retomados em água destilada, na concentração calculada por grama de peso fresco (PF) de folhas/ml. Posteriormente, os extratos foram submetidos a testes de açúcares, visando determinar o conteúdo de glicose através do método de Somogyi-Nelson (Nelson, 1944; Somogyi, 1952), açúcares redutores segundo método de Somogyi (Somogyi, 1945, 1952), além do teste de fenóis segundo método de Swain & Hillis (1959). As amostras foram analisadas em duplicatas e repetidas três vezes. Paralelamente, foi determinado o peso seco (PS) das folhas de café nas amostras, para a transformação de peso PF em PS, a ser utilizado na expressão do resultado final em mg de equivalentes de glicose, frutose, sacarose ou ácido clorogênico/g de PS de tecido foliar.

As amostras de folhas coletadas, na quantidade de 10 g de PF de tecido foliar, foram fragmentadas em 100 ml de acetona P.A. Merck a -60°C e mantidas em banho de gelo seco durante uma hora, a fim de preparar o pó acetônico. Em seguida, as amostras foram trituradas em um aparelho Ultraturrax, à velocidade máxima, por cinco minutos, e deixadas a decantar no gelo seco, durante 30 minutos. O material foi então filtrado em papel Whatmann nº. 1, e o resíduo, cuidadosamente lavado com 500 ml de acetona a -60°C. O papel de filtro contendo o pó foi colocado em placas-de-petri, dentro de um dessecador e submetido a vácuo a 4°C, para garantir a liberação dos resíduos de acetona. Após 24 horas, o pó foi guardado em frascos e mantido a -20°C até a sua utilização. De cada amostra do pó foram pesados 400 mg e suspensos em 100 ml de tampão fosfato 0,1M pH 6,5 + 0,5% de mercaptoetanol. O material foi triturado no Ultraturrax, à velocidade máxima, durante dez segundos, por três vezes, a intervalos também de dez segundos. Após a decantação, foi retirado cuidadosamente o sobrenadante, que foi submetido à análise de proteínas pelo método de Lowry et al. (1951). O resultado foi apresentado em mg de equivalentes de soro albumina bovina (SAB) por grama de pó acetônico de folhas de café.

Na análise microbiológica, cinco folhas de cada grupo, escolhidas ao acaso, foram superficialmente esterilizadas por imersão em solução de hipoclorito de sódio 25%, durante quinze minutos, e lavadas por três vezes em água destilada estéril, durante cinco minutos. Destas folhas, foram retiradas amostras de, aproximadamente, 1 x 1 cm e colocadas em placas-de-petri contendo meio

de batata-água-dextrose (BDA). Após uma semana, as placas foram submetidas a uma avaliação quanto à presença e crescimento de fungos e bactérias provenientes do interior do tecido foliar.

Dos frutos e folhas de café coletados ao acaso das plantas tratadas e dos controles, foram analisados os resíduos de derivados de sulfona do dissulfotona, segundo método de Storherr et al. (1971). Uma amostra dos frutos de café coletados foi deixada à temperatura ambiente até a completa secagem dos frutos, e após a análise de resíduos foi realizada a análise de bebida.

Observação das plantas após a ocorrência de geada

Foram realizadas observações, nos anos de 1985 e 1986, em Pinhal, e no ano de 1986 em Garça e Lucianópolis.

As temperaturas nos campos de Pinhal, Garça e Lucianópolis foram monitorizadas através da leitura em termômetros de máxima e mínima, instalados nos locais dos experimentos. No campo de Pinhal, as temperaturas foram também monitoradas por aparelhagem da própria Fazenda.

No campo de Pinhal ocorreram geadas no ano de 1985, com temperatura mínima de -1°C no local do café, e, no ano de 1986, com temperatura mínima de 2°C. Em Garça e Lucianópolis, a temperatura mínima ficou entre 2 e 3°C.

O grau de severidade do efeito do frio foi avaliado através do sistema de notas, na semana seguinte à ocorrência da geada de 1986. As notas seguiram uma escala de 0 a 5 onde 0 = ausência de dano foliar, 1 = folhas com apenas os bordos queimados, 2 a 4 = graus crescentes de queimaduras no limbo foliar, e 5 = folhas totalmente queimadas e brotos danificados. Após dois meses, foi avaliado o grau de recuperação dessas plantas em relação à brotação, floração, fitotoxicidade, e a presença de bicho-mineiro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os cafeeiros tratados com Solvirex G-10 e 96% durante os anos de 1984 a 1985 apresentaram maiores níveis de proteínas, fenóis e glicose do que as plantas controle, principalmente no segundo ano de tratamento (1985) (Tabela 1). Entretanto, o aumento das substâncias químicas solúveis foi mais evidente quando aplicado o Solvirex 96% pelo fato de o produto apresentar ação mais rápida do que o produto granulado.

Em relação ao ano de 1986, com relação a

TABELA 1. Teores totais de proteínas, fenóis e glicose nos extratos de folhas de cafeeiros-controles e tratadas com Solvirex, em Pinhal, nos anos de 1984 e 1985.

Tratamentos	Ano	Intervalo em dias	Proteínas (Eq. mg SAB/gPS)*	Glicose (Eq. mg glicose/gPS)*	Fenóis (Eq. mg Ac. clor/gPS)*
Controle		-	98	434	140
Solv. G10 40 g	1984	28	109**	434	124**
Solv. G96% 24 ml		28	135**	572**	160**
Controle		-	70	367	171
Solv. G10 40 g	1985	21	79**	479**	234**
Solv. 96% 24 ml		21	161**	583**	213**

* Médias de 3 repetições/teste.

** Médias para variáveis na mesma coluna diferem em relação a controle ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

TABELA 2. Teores totais de proteínas e fenóis nos extratos de folhas de cafeeiros-controles e tratadas com Solvirex em Pinhal, no ano de 1986.

Tratamentos	Intervalo de tempo	Proteínas (Eq. mg SAB/g pó)*	Fenóis (Eq. mg Ac. clorog/gPS*)
Controle	-	57,1	212,1
Solv. G10 60 g	60	60,6**	213,4**
Solv. G10 40 g	60	72,1**	207,9**
Solv. G10 40 g	30	62,9**	162,3**
Solv. 96% 24ml	30	87,4**	248,2**

* Médias de 3 repetições/teste.

** Médias para variáveis na mesma coluna diferem em relação a controle ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

plantas no campo de Pinhal, pode-se observar que as quantidades de proteínas referentes aos quatro grupos de plantas tratadas tendem a ser superiores às quantidades encontradas nas plantas controle. O aumento no conteúdo de fenóis somente foi observado nas plantas tratadas com Solvirex 96% (Tabela 2). Esse aumento não foi importante nos mecanismos de resistência, uma vez que ocorrem efeitos de proteção contra o frio mesmo nos casos em que não houve alterações nas quantidades de fenóis (Tabela 2 e Fig. 1, 2 e 3).

Ainda no ano de 1986, através da quantificação de açúcares, verificou-se um aumento de açúcares redutores (glicose e frutose) e sacarose nos grupos de plantas tratadas, nos campos de Pinhal, Garça e Lucianópolis. Em Pinhal, o grupo I apresentou teores de açúcares um pouco mais elevados do que



FIG. 1. Plantas de café controle da Fazenda da Cia. de Café Bom Retiro, Pinhal, 24 horas após geada com temperatura -1°C .



FIG. 2. Plantas de café tratada com 40 g de Solvirex G-10, 30 dias após a última aplicação e 24 horas após a geada com temperatura -1°C .



FIG. 3. Plantas de café tratada com 24 ml de Solvirex 96%, 30 dias após a última aplicação e 24 horas após a geada com temperatura -1°C .

os do grupo 2, pelo fato de o grupo 2 ter recebido maior quantidade de produto granulado, na mesma época. O grupo 3 recebeu a mesma quantidade de produto que o grupo 2, embora com um mês de defasagem nas aplicações, apresentando teores menores de açúcares. Isto indica que o produto necessita de um período superior a 30 dias para induzir o aumento de açúcares. O grupo 4 foi o que apresentou maiores quantidades de açúcares, devido à ação mais rápida do produto Solvirex 96% sobre o metabolismo da planta (Fig. 4).

Em Garça, como as plantas eram mais jovens, 40 g do Solvirex G10 foram suficientes para induzir aumento nos teores de açúcares apenas 30 dias após a última aplicação. Como no campo de Pinhal, a aplicação do produto Solvirex 96% teve maior ação no aumento da quantidade de açúcares, em relação ao produto Solvirex G10 (Fig. 5) sendo que o mesmo ocorreu no campo de Lucianópolis, não só com plantas tratadas com Solvirex G10, mas também com plantas tratadas com Disyston G25 (Fig. 6).

No laboratório, foi realizado o teste de frio, sendo observado que as plantas tratadas com Solvirex 96%, em todos os campos, apresentaram 98-100% de proteção contra os efeitos da geada, enquanto que as plantas tratadas com Solvirex G10 e Disyston G25 apresentaram proteção ao redor de 95% em relação às plantas-controles. No campo, após a geada, também foi observado o mesmo efeito. No entanto, o produto Solvirex 96% se

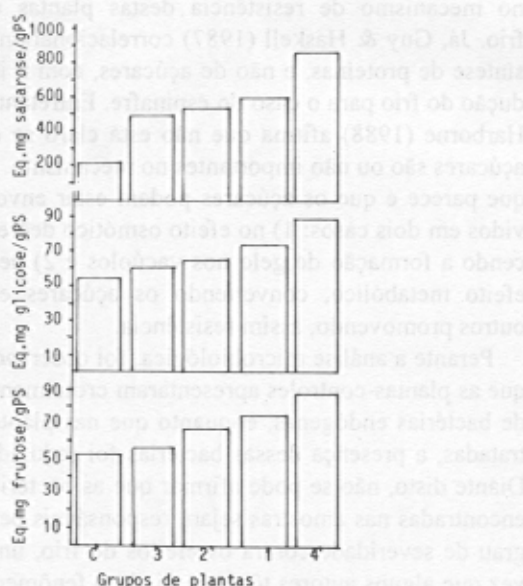


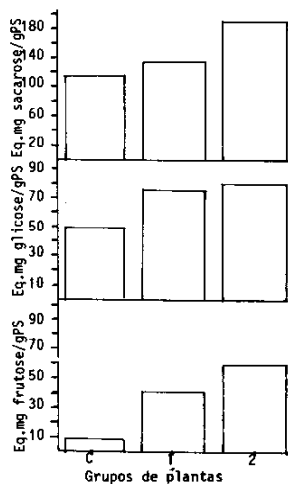
FIG. 4. Total de açúcares redutores e sacarose pelo método de Somogyi (1944, 1945) nos extratos de folhas de cafeeiro controle e tratadas com Solvirex, na Fazenda da Cia. de Café Bom Retiro, Pinhal, no ano de 1986.

mostrou um pouco mais eficiente do que o Solvirex G10 e Disyston G25.

Comparando-se os efeitos dos dois últimos produtos, observou-se que o produto Disyston G25 teve um maior efeito de proteção contra o frio do que o produto Solvirex G10. Este fato deve-se à maior concentração de princípio ativo no Disyston, que é G-25, enquanto o Solvirex é G-10, ou à diferença na formulação dos dois produtos, uma vez que no Disyston o inerte é areia, e no Solvirex é argila. Todos os resultados demonstram que existe uma relação entre proteção contra os efeitos do frio e o aumento dos teores de proteínas e açúcares, uma vez que o produto técnico foi também mais eficaz no aumento destas substâncias. Sakai (1960) também encontrou em plantas de gardênia e maçã uma significativa quantidade (acima de 40%) de açúcares, como: glucose, frutose e sacarose, após a ocorrência de geada, com o objetivo de serem os responsáveis

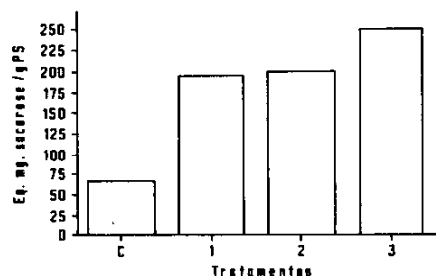
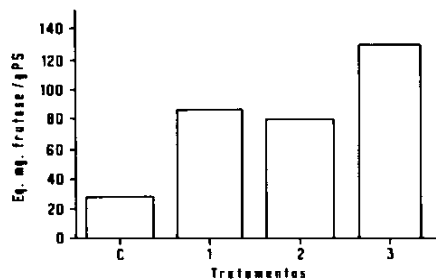
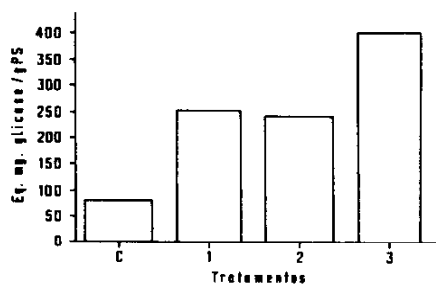
no mecanismo de resistência destas plantas ao frio. Já, Guy & Haskell (1987) correlacionaram a síntese de proteínas, e não de açúcares, com a indução do frio para o caso do espinafre. Entretanto, Harborne (1988) afirma que não está claro se os açúcares são ou não importantes no mecanismo. O que parece é que os açúcares podem estar envolvidos em dois casos: 1) no efeito osmótico decrescendo a formação de gelo nos vacúolos e 2) pelo efeito metabólico, convertendo os açúcares em outros promovendo, assim resistência.

Perante a análise microbiológica, foi observado que as plantas-controles apresentaram crescimento de bactérias endógenas, enquanto que nas plantas tratadas, a presença dessas bactérias foi reduzida. Diante disto, não se pode afirmar que as bactérias encontradas nas amostras sejam responsáveis pelo grau de severidade contra os efeitos do frio, uma vez que alguns autores têm associado o fenômeno de congelamento dos tecidos de vegetais à presença de bactérias denominadas "nucleadoras de gelo", nos espaços intercelulares. No entanto, é importante ressaltar que o tratamento com os pro-



Grupo 1: aplicação de 40g granulado-30 dias após aplicação
 Grupo 2: aplicação de 18 ml técnico-30 dias após aplicação
 Grupo C: controle

FIG. 5. Total de açúcares reductores e sacarose pelo método de Somogyi (144, 1945) nos extratos de folhas de cafeeiro controle e tratadas com Solvirex, na Fazenda do Sr. Shiba, Garça, no ano de 1986.



Tratamento 1: aplicação de Disyston G25 - 40 g; 30 dias após última aplicação.
2: aplicação de Solvirex G10 - 40 g; 30 dias após última aplicação.
3: aplicação de Solvirex 96% - 18 ml; 30 dias após última aplicação.
C: controle.

FIG. 6. Açúcares reductores e sacarose nos extratos de folhas de cafeeiros-controle e tratadas com Solvirex e Disyston em Lucianópolis, no ano de 1986.

duto eliminou as bactérias presentes no interior dos tecidos das folhas.

A análise de resíduos realizada sobre frutos de café e folhas demonstrou que nos frutos de café oriundos de plantas tratadas não foram detectados resíduos de derivados de sulfonas, mas nas folhas de café tratadas foram detectadas de 70 a 140 ppm de resíduo de sulfona (Tabela 3). O resíduo de sulfona encontrado nas folhas de café não interferiu na qualidade de bebida quando comparado com plantas-controle o que demonstra a possibilidade de aplicação destes produtos no controle do bicho-mineiro (*Perileuoptera coffeella*) e na indução de proteção contra a geada.

Observação no campo

As plantas tratadas com Solvirex 96% receberam nota 0 em Pinhal, 1 em Garça e 0 em Lucianópolis. As plantas tratadas com o Solvirex G10 receberam nota 1 em Pinhal e Lucianópolis, e nota 2 em Garça, mas as plantas tratadas com Disyston G25 em Lucianópolis receberam nota zero. Em todos os locais, as plantas-controles receberam nota 5 (Fig. 1, 2 e 3) somente para os tratamentos com Solvirex G10 e 96%.

Quanto à recuperação destas plantas após a geada, foi observada intensa brotação e floração nas plantas tratadas, enquanto que nas plantas-controles tais eventos foram retardados. A presença de bicho-mineiro somente foi observada em plantas-controle de todos os campos. Entretanto, em Garça, notou-se a presença de fitotoxicidade nas folhas da parte inferior das plantas tratadas com Solvirex 96%, enquanto nos outros campos não fora observada a fitotoxicidade. Todos os fatores descritos vêm demonstrar que os produtos melhoraram o estado fisiológico das plantas, podendo-se observar seus efeitos meses após sua aplicação. Traub (1983) e Fisher (1986), estudando os efeitos do tratamento com Temik em plantas de citros, observaram que as plantas tratadas também se mantinham com poucos danos após a ocorrência de geadas.

CONCLUSÕES

1. Em vista dos resultados obtidos, pode-se afirmar que os produtos Solvirex G10 como Disyston G25 são eficazes, e, portanto, recomendáveis, não só para o controle do bicho-mineiro mas também para indução de proteção contra a geada.

TABELA 3. Resíduos de sulfona (ppm) em folhas e frutos de plantas de café tratadas com inseticidas fosforados, em Pinhal, Garça e Lucianópolis.

Local	Tratamentos	Intervalo de tempo	Resíduos folhas*	Sulfona (ppm) frutos*
Pinhal	Controle	30	0	0
	Controle	60	0	0
	Solv. G10 40 g	30	90**	0
	Solv. G10 40 g	60	80**	0
	Solv G 10 60 g	60	85**	0
	Solv. 96% 24 ml	30	140**	0
Garça	Controle	30	0	0
	Solv. G10 40 g	30	70**	0
	Solv. 96% 18 ml	30	100**	0
Lucianópolis	Controle	30	0	0
	Disyst. G25 40 g	30	70**	0
	Solv. G 10 40 g	30	70**	0
	Solv. 96% 18 ml	30	100**	0

* Médias de 3 repetições/teste.

** Médias para as variáveis na mesma coluna diferem em relação a controle ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

2. Para que haja o efeito de proteção contra a geadas, são necessárias três aplicações, a cada 30 dias, de 40 g do produto granulado, em plantas de três anos de idade.

3. Plantas de maior porte necessitam de maior quantidade de produto e/ou tempo maior após a última aplicação para que se tornem protegidas.

AGRADECIMENTOS

À Cooperativa dos Cafeicultores de Garça, pelo apoio técnico e fornecimento do produto Disyston granulado; à Sandoz, pelo fornecimento do produto Solvirex; ao Instituto Brasileiro do Café, pela realização dos testes de bebida; à Seção de Resíduos do Instituto Biológico de São Paulo, pelas análises de resíduos; ao Sr. Morizo Shiba, pela concessão do campo experimental em Garça; à Companhia de Café Bom Retiro, pela concessão do campo experimental (Fazenda Santa Rita) em Pinhal; ao Sr. Luiz Antonio Santos Castro, pela concessão do campo experimental da Fazenda N. Senhora Aparecida, em Lucianópolis, e finalmente a Dra. Walkyria B.C. Moraes, pela orientação.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, P.R.; VAZ ARRUDA, H. Possível resistência à geadas conferida por inseticidas fosforados sistêmicos, aplicados para o controle do "bichomineiro" do cafeeiro, *Perileucoptera coffeella* (Guérin-Mén). *O Biológico*, v.41, p.246-247, 1975.
- ASARE-BOAMAM, N.K.; FLETCHER, R.A. Protection of bean seedlings against heat and chilling injury by triadimefon. *Physiologia Plantarum*, v.67, p.353-358, 1986.
- BACH, E.E.; BERETTA, M.J.G.; GIANNOTTI, O.; FIGATTI, P.; UNGARO, M.T.S.; ALMEIDA, P.R.; MORAES, W.B.C. Induced protection to frost in *Coffea arabica* by systemic phosphorilated insecticides. *Phytopathologische Zeitschrift*, v.95, p.87-92, 1979.
- BORNMAN, O.H.; JANSSON, E. *Nicotiana tabacum* studies. X. ABA increases resistance to cold damage. *Physiologia Plantarum*, v.48, p.491-493, 1980.
- FISHER, J. Research on Temik continues at C.R.E.C. *Citrus Industry*, p.5, Mar. 1986.
- GUY, C.L.; HASKELL, D. Induction of freezing tolerance in spinach is associated with the synthesis of cold acclimation induced proteins. *Plant Physiology*, v.84, p.872-878, 1987.
- HARBORNE, J.B. The plant and its biochemical adaptation to the environment. In: HARBORNE, J.B. *Introduction to ecological biochemistry*. [S.l.]: Academic Press, 1988. p.1-41.
- INSTITUTO BRASILEIRO DO CAFÉ. *Cultura de café no Brasil*. 2. Clima e fenologia do cafeeiro. Campinas: IBC, 1981. p.43.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, M.; FARR, A.L.; RANDALL, J.J.R. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, v.193, p.263-275, 1951.
- NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemistry*, v.153, p.375-380, 1944.
- SAKAI, A. Relation of sugar content to frost-hardiness in plants. *Nature*, v.185, p.698-699, 1960.
- SOMOGYI, M. A new reagent for the determination of sugars. *Journal Biological Chemistry*, v.160, p.61-68, 1945.
- SOMOGYI, M. Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*, v.195, p.19-23, 1952.
- STORHERR, R.W.; OTT, P.; WATTS, P.R. A general method for organophosphorus pesticide residues in nonfatty foods. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, v.54, p.513-516, 1971.
- SWAIN, R.; HILLIS, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of Science Food and Agriculture*, v.10, p.63-68, 1959.
- TRAUB, D. Grower documents freeze protection from pesticide. *Citrus Industry*, p.34, Jan. 1983.
- ZHANG, C.L.; LI, P.A.; BRENNER, M.L. Relationship between mefluidide treatment and abscisic acid metabolism in chilled corn leaves. *Plant Physiology*, v.81, p.699-701, 1986.