

## CONTROLE QUÍMICO E BIOLÓGICO DA MANCHA AUREOLADA EM MUDAS DE CAFEIEIRO

Manuel Victor Pessoni Fernandes Domingues<sup>1</sup>; Bianca Cristina de Deus<sup>2</sup>; Luis Otávio Saggion Beriam<sup>3</sup>; Masako Toma Braghini<sup>4</sup>; Irene Maria Gatti Almeida<sup>5</sup>; Eduardo Roberto de Almeida Bernardo<sup>6</sup>; Caio Fábio Quintino de Araújo<sup>7</sup>; Flávia Rodrigues Alves Patricio<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Bolsista Iniciação Científica FUNDAG - Instituto Biológico, Campinas, SP, mv\_domingues1@hotmail.com

<sup>2</sup>Bolsista Iniciação Científica CNPq/PIBIC - Instituto Biológico, Campinas, SP, bianca.c.deus\_@hotmail.com

<sup>3</sup>Pesquisador Científico Instituto Biológico, Campinas, SP, beriam@biologico.sp.gov.br

<sup>4</sup>Bolsista Consórcio Pesquisa Café – Instituto Agronômico, Campinas, SP, mako@iac.sp.gov.br

<sup>5</sup>Pesquisador Científico Instituto Biológico, Campinas, SP, gatti@biologico.sp.gov.br

<sup>6</sup>Pesquisador Científico Agrivalle, Pouso Alegre, MG, eduardo.bernardo@agrivalle.com.br

<sup>7</sup>Engenheiro Agrônomo Casa Bugre, Indaituba, SP, fabio@casabugre.com.br

<sup>8</sup>Pesquisador Científico Instituto Biológico, Campinas, SP, flavia@biologico.sp.gov.br

**RESUMO:** A mancha aureolada, causada pela bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, é uma doença do cafeeiro cuja importância vem aumentando nos últimos anos no Brasil. Este trabalho foi realizado visando a avaliar em mudas de cafeeiro o comportamento de produtos que vêm sendo empregados por produtores em condições de campo para o manejo da doença. Neste estudo produtos formulados com Dióxido de cloro, Hidróxido de cobre, Duo®\*\* (produto microbiológico), Hidróxido de cobre + Dióxido de cloro e Casugamicina foram avaliados em relação ao seu potencial para o controle da mancha aureolada em mudas de cafeeiro e sobre a inibição do crescimento de culturas bacterianas de *P. syringae* pv. *garcae* em meio de cultura nutriente ágar. Os produtos foram adicionados ao meio de cultura nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 µg de ingrediente ativo (i.a.) por litro de meio. Mudas de cafeeiro da cultivar Mundo Novo foram tratadas com os produtos citados e um dia depois foram inoculadas com uma suspensão contendo 10<sup>6</sup> unidades formadoras de colônias (UFC).mL<sup>-1</sup> de suspensão preparada com dois isolados de *P. syringae* pv. *garcae*. Avaliou-se a incidência e a severidade (porcentagem de área foliar afetada pela doença) aos 18 e 24 dias após a inoculação, respectivamente. O Dióxido de cloro reduziu o número de UFCs de *P. syringae* pv. *garcae* quando adicionado na dose de 1000 µg de i.a. por litro de meio. A Casugamicina e o Hidróxido de cobre reduziram o número de UFCs de colônias quando adicionados na dose de 100 µg de i.a. por litro de meio. Os tratamentos com Dióxido de cloro, nas doses de 1 e 2 L de produto comercial (p.c.) ha<sup>-1</sup>, Duo®, nas doses 1 e 2 L de p.c.ha<sup>-1</sup>, Hidróxido de cobre 1 e 2 na dose de 2 litros de p.c ha<sup>-1</sup>, Casugamicina na dose de 1,5 litro de p.c.ha<sup>-1</sup> e a mistura de Hidróxido de Cobre + Dióxido de cloro nas doses de 2 + 1 litros de L de p.c.ha<sup>-1</sup> promoveram o controle da mancha aureolada, reduzindo a incidência e a severidade da doença nas mudas de cafeeiro. Estes produtos são promissores para o manejo da mancha aureolada em mudas de cafeeiro, portanto sugere-se que sejam estudados em condições de campo.

\*\*Produto em fase de registro no MAPA

**PALAVRAS-CHAVE:** *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, *Coffea arabica*.

## CHEMICAL AND BIOLOGICAL CONTROL OF BACTERIAL BLIGHT IN COFFEE SEEDLINGS

**ABSTRACT:** Bacterial blight, caused by *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, is a disease of the coffee crop that has become more important in recent years in Brazil. This study was carried out aiming to evaluate the chemical control of bacterial blight in coffee seedlings with products that are being used under field conditions by coffee producers. In this study the products Chlorine dioxide, Copper hydroxide, Organomineral Fertilizer, the mixture of Copper hydroxide + Chlorine dioxide and Kasugamycin were tested to evaluate the control of bacterial blight in coffee seedlings and the inhibition of the growth of *P. syringae* pv. *garcae* in culture media nutrient agar. The products were added to culture media in the concentrations of 1, 10, 100 and 1000 µg of active ingredient L<sup>-1</sup> of medium. The seedlings of cultivar Mundo Novo were treated with the products and one day after they were inoculated with a suspension prepared with two isolates of *P. syringae* pv. *garcae* containing 10<sup>6</sup> colony forming units (CFU) per mL of suspension. Chlorine dioxide reduced the number of CFU of *P. syringae* pv. *garcae* when added to the medium in the doses of 1000 µg de a.i.L<sup>-1</sup> of medium. Kasugamycin and Copper hydroxide reduced the number of CFU of *P. syringae* pv. *garcae* when added to the medium in the doses of 100 µg de a.i.L<sup>-1</sup> of medium. The treatments with Chlorine dioxide in the doses of 1 and 2 L of c.p.ha<sup>-1</sup>, Duo (1 and 2 L/ c.p.ha<sup>-1</sup>), Copper hydroxide in the doses of 2 L of c.p.ha<sup>-1</sup>, Kasugamycin in the doses of 1.5 L/ha and the mixture of Copper hydroxide + Chlorine dioxide in the doses of 2 +1 L of c.p.ha<sup>-1</sup> promoted the control of bacterial blight, reducing the incidence and severity of the disease in the coffee seedlings. These products are promising for the management of bacterial blight in coffee seedlings and should be studied under field conditions.

\*\*Product in registration on Ministry of Agriculture

**KEYWORDS:** *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, *Coffea arabica*.

## INTRODUÇÃO

A mancha aureolada do cafeeiro, causada pela bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* é uma doença cuja importância vem aumentando nos últimos anos no Brasil. A mancha aureolada ocorreu com relativa frequência em grande parte das regiões produtoras de café do Estado de São Paulo, e em lavouras do Sul de Minas Gerais e do Cerrado, estado de Minas Gerais. As epidemias da doença têm sido severas nas lavouras em formação, até os quatro anos de idade, especialmente em locais de altitudes elevadas e ocorrem em lavouras infestadas, sujeitas a ventos frios, temperaturas baixas, especialmente após períodos de chuvas e elevada umidade (Almeida *et al.* 2012, Patricio & Oliveira, 2014).

A mancha aureolada causa lesões em folhas, ramos, flores e frutos. Nas folhas, as lesões podem ser circundadas por um halo amarelado. Quando incide nas flores e frutos a doença pode reduzir a produção da cultura. Nos ramos as lesões progredem para a seca, causando prejuízos consideráveis, especialmente durante a formação da lavoura e após podas. Nas mudas, a doença pode ser severa, com lesões nas folhas e no caule que podem resultar na morte das mesmas (Malavolta *et al.*, 2008).

O manejo para o controle da mancha aureolada é realizado pelo uso de mudas sadias e o plantio de quebra-ventos, sendo complementado por aplicações de fungicidas cúpricos (Patricio & Oliveira, 2014). Recentemente produtos sanitizantes e agentes de biocontrole têm sido utilizados por produtores de diversas regiões, mas faltam dados comprovando a eficiência destes compostos.

Os objetivos deste estudo foram avaliar o efeito de produtos alternativos, um formulado com cloro e Produto Biológico formulado com *Bacillus amyloliquefasciens*, além de um cúprico, o hidróxido de cobre, e de um antibiótico, a casugamicina, sobre o controle da mancha aureolada em mudas de cafeeiro inoculadas com *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, e o crescimento da bactéria em meio de cultura acrescido com estes produtos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os compostos estudados foram testados em experimentos conduzidos *in vitro* e em casa de vegetação.

**Experimento *in vitro*** - Foram preparadas placas contendo meio nutriente ágar (NA) em que os produtos Dióxido de cloro, Hidróxido de cobre e a Casugamicina foram adicionados nas concentrações de 0, 1, 10, 100 e 1000 µL de ingrediente ativo (i.a.) por litro de meio. Foi preparada uma suspensão aquosa contendo duas linhagens de *P. syringae* pv. *garcae* (IBSBF 2840 e IBSBF 3024), crescidas durante 48h em meio NA, com concentração aproximada de 10<sup>8</sup> unidades formadoras de colônias (UFC) mL<sup>-1</sup>. Alíquotas de 0,1 mL dessa suspensão foram adicionadas às placas contendo meio NA com as diferentes concentrações dos produtos e distribuídas com auxílio de uma alça de Drigaski. As placas permaneceram a 28°C por 48 horas sendo avaliado o número de colônias viáveis da bactéria. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições, sendo cada repetição representada por uma placa de Petri.

**Experimento em casa de vegetação** - Mudanças de cafeeiro com pelo menos três pares de folhas receberam os tratamentos descritos na Tabela 1. Os produtos foram aplicados com pulverizador costal de pressão constante de CO<sub>2</sub>, equipado com bicos tipo D<sub>2</sub>. As mudas foram inoculadas com uma suspensão contendo 10<sup>6</sup> UFC dos dois isolados de *P. syringae* pv. *garcae* (IBSBF 2840 e IBSBF 3024) utilizados nos experimentos *in vitro*. O Dióxido de cloro foi reaplicado logo após a inoculação. As mudas foram colocadas em câmara úmida por 72 horas. Após a retirada da câmara úmida as mudas foram transferidas para uma casa de vegetação com irrigação por nebulização. A incidência e a severidade da doença foram avaliadas aos 18 e 24 dias após a inoculação, respectivamente. A severidade foi avaliada pela área foliar afetada pela doença. O produto biológico utilizado foi o Duo® [*Bacillus amyloliquefasciens*(BS01-AGVL)].

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com 16 repetições, sendo cada repetição representada por uma muda de cafeeiro da cultivar Mundo Novo.

Tabela 1. Tratamentos realizados nas mudas de cafeeiro cv. Mundo Novo para o controle da mancha aureolada, causada por *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*.

Princípio ativo	Dose de produto comercial (p.c.)	Dose de ingrediente ativo (i.a.)	
	(g ou mL.ha <sup>-1</sup> )	(g ou mL.ha <sup>-1</sup> )	(g ou mL.100 L <sup>-1</sup> )
1. Testemunha	-	-	-
2. Dióxido de cloro	1000	70	17,5
3. Dióxido de cloro	2000	140	35
4. **Duo®	1000	105,44	26,36
5. **Duo®	2000	210,88	52,72
6. Hidróxido de cobre 1	2000	1000	333
7. Hidróxido de cobre 1 + dióxido de cloro	2000 + 1000	1000 + 1000	333 + 167
8. Hidróxido de cobre 2	2000	1000	333
9. Casugamicina	1500	30	7,5
10. Casugamicina	2000	40	10

\*\*Produto em fase de registro no MAPA

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Experimento *in vitro*** - Para o Dióxido de cloro observou-se inibição na formação de colônias de *P. syringae* pv. *garcae* na dose de 1000 µg de princípio ativo por litro de meio N.A. (Tabela 2). Este resultado era esperado, pois se trata de um produto de ação de contato e que pode volatilizar, portanto com pouco efeito em meio de cultura. Para o antibiótico Casugamicina observou-se inibição praticamente total da formação de colônias bacterianas quando o princípio ativo foi adicionado ao meio de cultura a partir da dose de 100 µg de i.a. por litro de meio N.A (Figuras 1A e 1B). Para os produtos formulados com Hidróxido de cobre, 1 e 2, houve redução drástica no número de unidades formadoras de colônias de *P. syringae* pv. *garcae* a partir da dose de 100 µg de i.a. por litro de meio N.A (Figuras 2 A e 2B). Resultado semelhante foi observado por Scheck & Pscheidt (1998) ao avaliarem a inibição do crescimento de colônias de *P. syringae* pv. *syringae* em meio de cultura acrescido com Hidróxido de cobre.

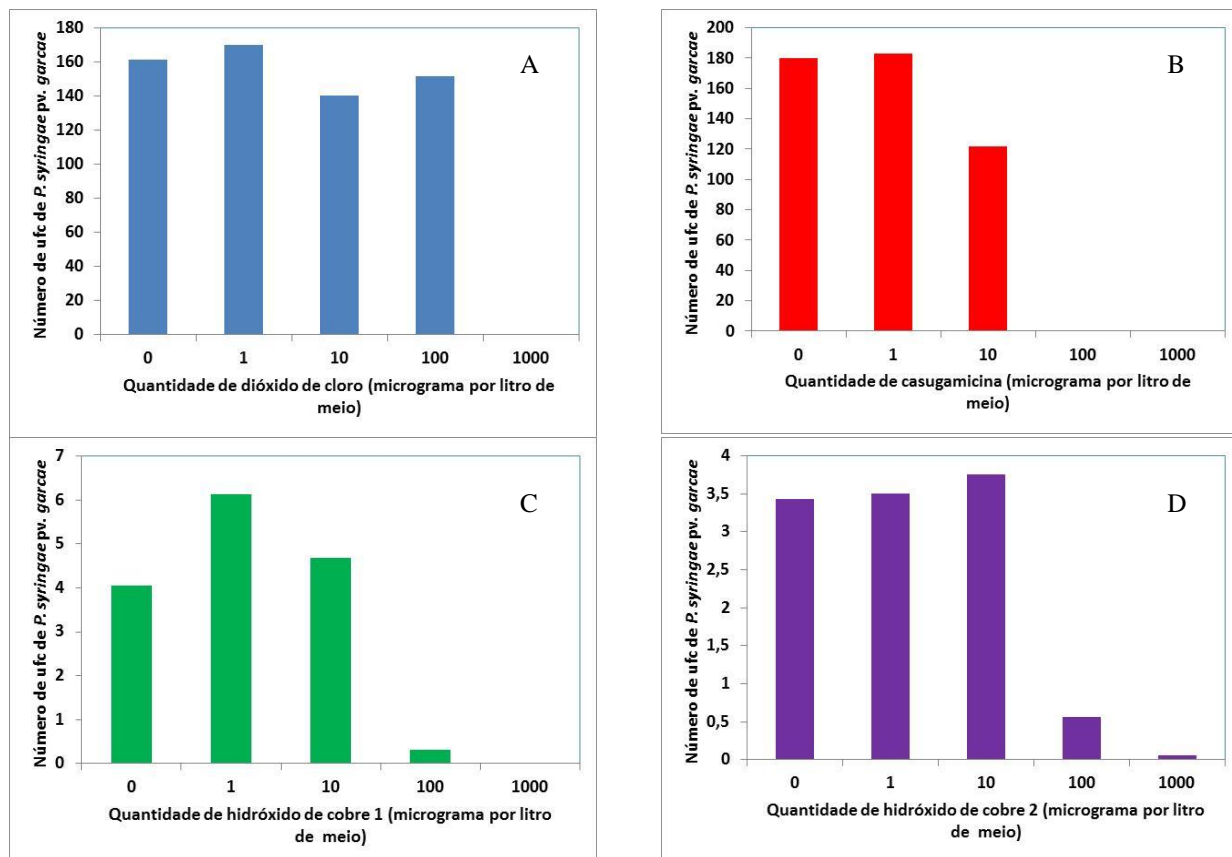


Figura 1. Número de unidades formadoras de colônias de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* em meio de cultura N.A. acrescido com Dióxido de cloro (A), Casugamicina (B), Hidróxido de cobre 1 (C), Hidróxido de cobre 2 (D).

**Experimento com mudas de cafeeiro** - Observou-se na primeira avaliação que todos os produtos aplicados reduziram a incidência da mancha aureolada, mas os tratamentos com Dióxido de cloro na dose de 2 L de p.c. ha<sup>-1</sup>, Duo® na dose de 1 L de p.c.ha<sup>-1</sup>, Hidróxido de cobre 1 na dose de 2 L de p.c. ha<sup>-1</sup>, Hidróxido de cobre 1 + Dióxido de cloro nas doses de 2+ 1 L de p.c. ha<sup>-1</sup> e Casugamicina na dose de 1,5 L de p.c. ha<sup>-1</sup> foram mais eficientes que os demais (Figura 2). Com relação à severidade da mancha aureolada, observou-se, na segunda avaliação, que todos os tratamentos promoveram o controle da doença e não diferiram significativamente entre si (Figura 3).

Assim como observado neste estudo, Patricio et al. (2006) também obtiveram controle da mancha aureolada com o Hidróxido de Cobre e a Casugamicina. Resultados semelhantes foram encontrados por Scheck & Pscheidt (1998) ao obterem o controle de *P. syringae* pv. *syringae* em plantas de lilás com o Hidróxido de Cobre e por Garibaldi et al. (2014), ao avaliarem o efeito de Hidróxido de Cobre e Oxiclreto de Cobre sobre o controle de *P. syringae* pv. *actinidiae* em plantas de kiwi. Produtos formulados com cloro têm sido utilizados por produtores de café de diversas regiões para o manejo da mancha aureolada, e neste estudo foi possível observar que o Dióxido de Cloro promoveu o controle da mancha aureolada nas mudas de cafeeiro e o mesmo ocorreu com o produto Biológico Duo®. Os resultados obtidos neste estudo indicam que estes compostos podem ser utilizados para o manejo da mancha aureolada em mudas de cafeeiro, portanto sugere-se que sejam testados em condições de campo.

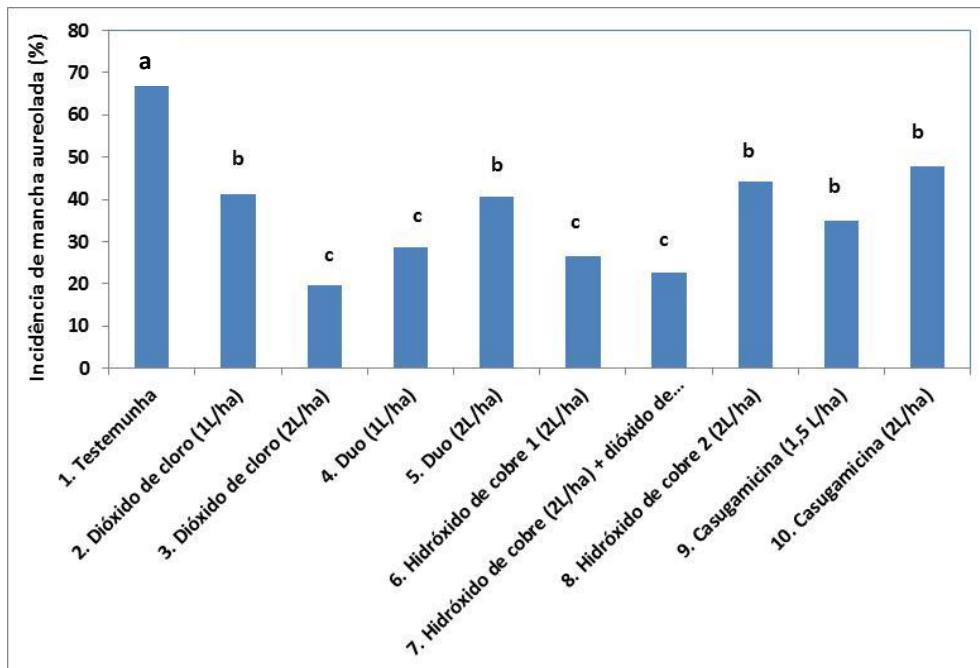


Figura 2. Incidência de mancha aureolada, causada por *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* em mudas de cafeeiro da cultivar Mundo Novo, em avaliação realizada 10 dias após a inoculação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott.

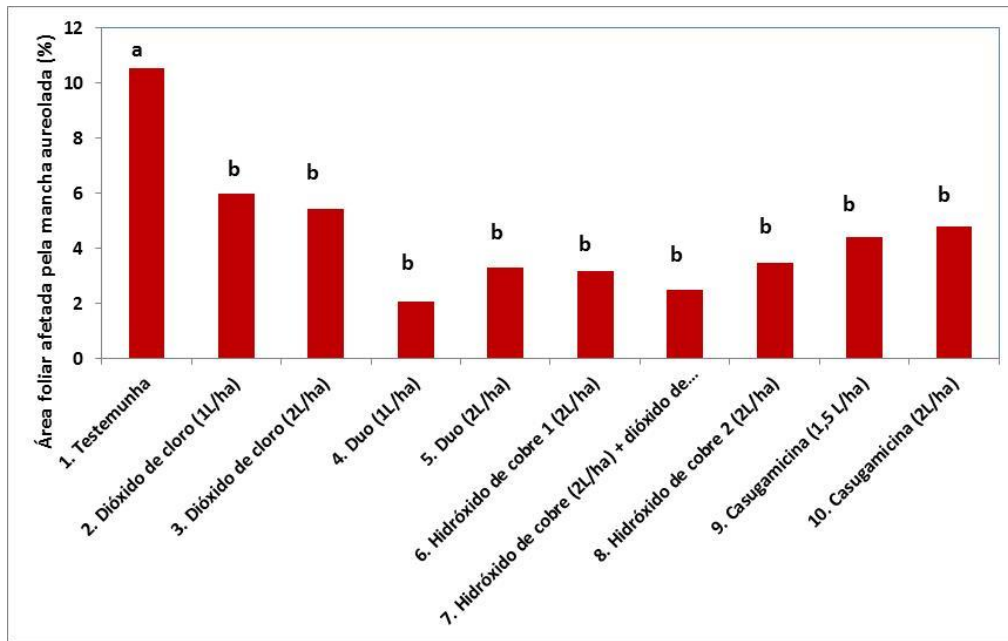


Figura 3. Severidade, avaliada pela área foliar afetada pela doença de mancha aureolada, causada por *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* em mudas de cafeeiro da cultivar Mundo Novo, em avaliação realizada 25 dias após a inoculação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott

## CONCLUSÕES

O Dióxido de cloro reduziu o número de unidades formadoras de colônias de *P. syringae* pv. *garcae* quando adicionado ao meio N.A. na dose de 1000 µg de i.a. por litro de meio.

A Casugamicina e os produtos formulados com Hidróxido de cobre reduziram o número de unidades formadoras de colônias de *P. syringae* pv. *garcae* quando adicionados ao meio N.A. nas doses de 100 e 1000 µg de i.a. por litro de meio.

O Produto Biológico Duo®, nas doses 1 e 2 L de p.c.ha<sup>-1</sup>, controlou mancha aureolada, causada por *P. syringae* pv. *garcae*, em mudas de cafeeiro da cultivar Mundo Novo.

Os tratamentos com Dióxido de cloro, nas doses de 1 e 2 L de p.c.ha<sup>-1</sup>, formulados com Hidróxido de cobre na dose de 2 L de p.c.ha<sup>-1</sup>, Casugamicina na dose de 1,5 L de p.c.ha<sup>-1</sup> e a mistura de Hidróxido de Cobre + Dióxido de cloro nas doses de 2 + 1 L de p.c.ha<sup>-1</sup> promoveram o controle da mancha aureolada, causada por *P. syringae* pv. *garcae*, em mudas de cafeeiro da cultivar Mundo Novo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, I.M.G.; MACIEL, K.W.; BERIAM, L.O.S.; RODRIGUES, L.M.R.; DESTÉFANO, S.A.L.; RODRIGUES-NETO, J.; PATRÍCIO, F.R.A. Increase in incidence of Bacterial Halo Blight (*Pseudomonas syringae* pv. *garcae*) in coffee producing areas in Brazil. *ASIC – Costa Rica*, ANAIS, CD-ROM. p.1080-1084 (2012).
- GARIBALDI, A.; GULLINO, M.L.; MONCHIERO, M.; PUGLIESE, M.; SPADARO, D. Efficacy of different chemical and biological products in the control of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* on kiwifruit. *Australasian Plant Pathology Journal*, v. 44, p.13-23 (2014).
- MALAVOLTA, E.; FERNANDES, D.R.; CASALE, H.; ROMERO, J.P. Seja o doutor do seu cafezal. Arquivo do agrônomo n. 3. 2ª Edição, revisada e ampliada. 2008. Encarte técnico – Informações Agronômicas, 1993, 36p. Disponível em: [http://www.inpofos.org/ppiweb/BRAZIL.NSF/\\$webindex/D6E59CFA316D7C8183256B27003883C7?opendocument&navigator=home+page](http://www.inpofos.org/ppiweb/BRAZIL.NSF/$webindex/D6E59CFA316D7C8183256B27003883C7?opendocument&navigator=home+page). (Acesso em 10/04/2015).
- PATRÍCIO, F.R.A.; OLIVEIRA, E.G. Desafios no manejo de doenças do café. *Visão Agrícola*, v.12, p.51-54 (2014).
- PATRÍCIO, F.R.A.; ALMEIDA, I.M.G.; BARROS, B.C.; FRARE, P.M.; SANTOS, A.S. Effectiveness of acibenzolar-S-methyl, fungicides and antibiotics for the control of brown eye spot, bacterial blight, brown leaf spot and coffee rust in coffee. *Annals of Applied Biology*. v.152, p.29-39 (2007).
- SCHECK, H.J.; PSCHIEDT, J.W. Effect of copper bactericides on copper-resistant and-sensitive strains of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Disease*, v.82, p.397-406 (1998).