

CONTROLE ALTERNATIVO DA MANCHA AUREOLADA DO CAFEIEIRO

Jaqueline F. B. LEITE¹; Roseli R. GOULART²; Fernando, F. JESUS³; Leônidas L. BELAN⁴

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito de diferentes concentrações de N-acetil cisteína no crescimento de *Pseudomonas syringae* pv *garcae* in vitro. Para tal, adicionou-se ao meio de cultura 523, 0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 mg de NAC/mL. A bactéria foi espalhada sobre o meio em placas de Petri e incubada por 48h a 28 °C. Fez-se uma suspensão bacteriana e a absorbância foi medida. Houve decréscimo na absorbância com o aumento da concentração de NAC. Não houve crescimento bacteriano com 8 e 10 mg/mL.

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho. Muzambinho/MG - E-mail: jaquelinebuenoleite@hotmail.com

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho. Muzambinho/MG - E-mail: roseli.goulart@muz.ifsuldeminas.edu.br

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho. Muzambinho/MG - E-mail: fernandotec75@hotmail.com

⁴ Universidade Federal de Lavras. Lavras /MG. E-mail: leonidas_agronomia@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

A mancha aureolada, doença de origem bacteriana, causa prejuízos consideráveis ao cafeeiro no viveiro e em lavouras novas ou podadas (CARVALHO; CHAULFOUN; CUNHA, 2010).

Nas folhas mais velhas os sintomas são caracterizados por manchas

necróticas de cor pardo-escuro, circundadas por um halo amarelo (GODOY; BERGAMIN FILHO; SALGADO, 1997). Em folhas mais novas é possível observar a transparência desta região quando o tecido lesionado é colocado contra luz (ZAMBOLIM; VALE; ZAMBOLIM, 2005). As folhas lesionadas, conseqüentemente caem reduzindo a produção de fotoassimilados pela planta (BICALHO, 2013).

Nos ramos a bactéria provoca lesões nas inflorescências, rosetas e frutos novos (PATRÍCIO, 2011) causando a mumificação dos chumbinhos, posteriormente ocorre desfolha e seca dos ramos (GODOY et al., 1997).

No campo tem sido utilizadas pulverizações com caldas contendo produtos cúpricos, associados ou não a Dithane[®] e antibióticos como Casugamicina[®], por exemplo (MATIELLO; ALMEIDA, 2013).

A ausência de medidas adequadas de controle tem refletido em perdas econômicas significativas aos produtores, uma vez que, nas regiões mais favoráveis à incidência da doença o custo de produção tem aumentado, devido ao aumento no número de aplicações de bactericidas e fungicidas na tentativa de conter o avanço da doença (SERA, 2001).

O uso do análogo do aminoácido cisteína, N-acetil cisteína (NAC), por não ser tóxico a humanos e ter reconhecido efeito bactericida na cultura do citros, pode oferecer potencial para integrar as medidas de controle para a mancha aureolada do cafeeiro. A hipótese é que o NAC se liga às pontes de sulfeto de proteínas ligadas a estruturas de locomoção e de adesão das bactérias mudando sua conformação, o que compromete a colonização sistêmica e formação de biofilme (MURANAKA et al., 2013).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito de diferentes concentrações de N-acetil cisteína no crescimento de *Pseudomonas syringae* pv *garcae* *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório do IFSULDEMINAS - Campus Muzambinho, no qual utilizou-se isolado patogênico de *Pseudomonas syringae* pv *garcae*, proveniente de folhas de cafeeiro fornecidos pelo departamento de fitopatologia da UFLA- Universidade Federal de Lavras. Para preparo do inóculo, a

bactéria foi semeada em placas de Petri contendo meio 523 de Kado & Heskett (1970), e posteriormente incubada a 28°C com fotoperíodo de 12 horas por 48 horas. Após este período as células bacterianas foram suspensas em solução salina (NaCl a 0,85%) estéril e a concentração bacteriana determinada em espectrofotômetro a 600 nm (OD600), conforme descrito por Oliveira e Romeiro (1990). A suspensão de células bacterianas foi calibrada para $1,0 \times 10^7$ UFC/mL (absorbância 0,2).

Posteriormente adicionou-se o análogo do aminoácido cisteína, N-acetil cisteína (NAC), ao meio de cultura 523 nas seguintes concentrações, 0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 mg/mL. Placas contendo somente meio 523 representaram o controle negativo. O pH do meio de cultura foi ajustado para 7,0. Posteriormente, verteu-se o meio em placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro e posteriormente, adicionou-se em cada placa 100 µL da suspensão de inóculo ($1,0 \times 10^7$ UFC/mL), sendo esta, distribuída sobre o meio com auxílio de alça de Drigalski. Em seguida as placas foram incubadas nas mesmas condições citadas anteriormente.

Para cada tratamento utilizou-se cinco repetições, totalizando 30 unidades experimentais, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, sendo cada unidade experimental constituída por uma placa de Petri.

Para verificar a eficiência dos tratamentos em relação à inibição do desenvolvimento bacteriano, após 48 horas de incubação, adicionou-se 20 mL de solução salina (0,85%) estéril em cada placa, removendo-se as colônias, formando suspensão homogênea, a qual foi levada ao espectrofotômetro para a medição da absorbância a 600 nm.

Os dados de absorbância foram submetidos à análise de regressão no programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve decréscimo significativo na concentração de células bacterianas na suspensão com o aumento da concentração de NAC. Observou-se redução gradativa na absorbância com o aumento da concentração de NAC no meio de cultivo, ou seja, houve menor proliferação da bactéria. A redução na absorbância variou de 45 a 54% nas concentrações de NAC de 2,0 a 6,0 mg/mL, sendo que nas

concentrações de 8 e 10 mg/mL houve inibição completa da bactéria, conforme ilustra a figura abaixo.

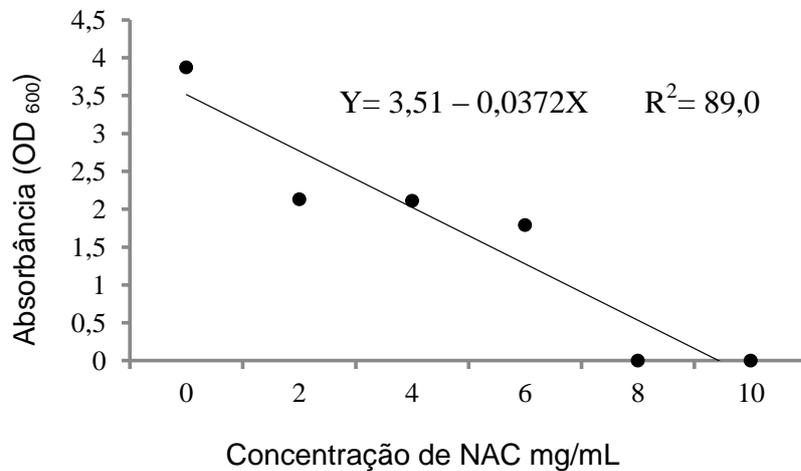


Figura 1. Efeito de diferentes concentrações de NAC no crescimento de *Pseudomonas syringae* pv *garcae* *in vitro*.

Resultado semelhante ao do presente trabalho foi obtido por Muranaka et al.(2013), no qual observou-se redução da adesão de *Xylella fastidiosa* a superfície de vidro, redução na formação de biofilme pela bactéria e na quantidade de exopolissacarídeo nos tratamentos com concentrações superiores a 1 mg/mL de NAC, com 6 mg/ml não houve crescimento bacteriano.

Goulart et al. (2014) avaliou o efeito de diferentes concentrações do NAC no controle curativo da mancha aureolada em mudas de cafeeiro. Observaram-se redução na incidência da doença de apenas 8,7% em relação à testemunha na concentração de 480 mg.L água⁻¹, nas demais concentrações utilizadas a incidência da doença foi semelhante a testemunha sem NAC. Os autores concluíram que o NAC utilizado de forma curativa no cafeeiro não foi eficiente.

No entanto, nos testes *in vitro* os resultados do presente trabalho indicam potencial para o uso do NAC no controle da mancha aureolada no cafeeiro, porém são necessárias novas pesquisas. O uso destes análogos é vantajoso, uma vez que, além de tratar de uma molécula pequena é de uso seguro para animais e humanos, não oferece riscos ambientais, embora ainda não se saiba exatamente o efeito exato

dessa molécula sobre a bactéria após sua absorção pela planta (SOUZA et al., 2012), sendo necessário estudos mais aprofundados na área da cafeicultura, uma vez que a mancha aureolada é motivo de preocupação devido a ausência de pesquisas de base teórica e prática, e medidas efetivas de manejo (BELAN, 2014).

CONCLUSÕES

- O aumento da concentração de NAC diminui a proliferação de *Pseudomonas syringae* pv *garcae* *in vitro*;
- As concentrações de 8 e 10 mg/mL inibe completamente o crescimento bacteriano;
- O NAC possui potencial para uso no manejo da mancha aureolada do cafeeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELAN, L. L. **Detecção de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* em sementes, microanálise de raios x e desenvolvimento de escala diagramática para a mancha aureolada do cafeeiro.** 2014. 128 f. **Tese (Doutorado)** - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

BICALHO, L. O. R. 2013. **Controle da mancha-aureolada do cafeeiro.** Disponível em:<http://rehagro.com.br/plus/modulos/noticias/ler.php?cdnoticia=2459>. Acesso: 08/02/13

FERREIRA, D. F. Sisvar: **A computer statistical analyses system. Ciência e Agrotecnologia.** (UFLA), v.35, n.16, p.1039-1042, 2011.

CARVALHO, V. L.; CHAULFOUN, S. M.; CUNHA, R. L. 2010. In: Reis, P. R.; Cunha, R. L. **Café arábica do plantio a colheita.** Vol.1. **Epamig – Lavras - MG**, p.693-756.

GODOY, C. V, BERGAMIN FILHO, A.; SALGADO, C.L. 1997. **Doenças do cafeeiro.** In: Kimati, H. *et al.* (Eds.) Manual de Fitopatologia, vol. 2: Doenças das plantas cultivadas, 3ª edição. São Paulo. **Agronômica Ceres.** p. 184-200.

GOULART, R. R.; JÚNIOR, V. D.; BELAN, L. L.; POZZA, E.A. **Uso de N-acetil cisteína no controle da mancha aureolada do cafeeiro (*Pseudomonas syringae* pv *garcae*).** 2015. Resumo.....48º Congresso Brasileiro de Fitopatologia. São Pedro – SP. **Tropical Plant Pathology:** 1983-2052.

KADO, C. I.; HESKETT, M. G. 1970. **Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*.** *Phytopathology*, v. 60, p. 969-976.

MATIELLO, J. B.; ALMEIDA, S. R. **Ataque da bacteriose mancha aureolada (*Pseudomonas syringae* pv *garcae*) se espalha nas lavouras cafeeiras.** Disponível em: <http://www.fundacaoprocafe.com.br/sites/default/files/publicacoes/pdf/folhas/Folha001Pseudomonas.pdf>, Acesso: 08/02/13

MURANAKA, L. S.; GIORGIANO, T. E.; TAKITA, M. A.; FORIM, M. R.; SILVA, L. F. C.; FILHO, H. D. C.; MACHADO, M. A.; SOUZA, A. A. 2013. **N-Acetylcysteine in Agriculture, a Novel Use for an Old Molecule: Focus on Controlling the Plant-Pathogen *Xylella fastidiosa*.** V. 8 issue 8. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0072937>, Acesso 10/08/2015

PATRÍCIO, F. R. A. 2011. **Mancha aureolada volta a preocupar cafeicultores.** *Boletim Informativo Peracetic*. Vol. 1 Ed. 2.

SERA, T. **Coffee genetic breeding at IAPAR.** 2001. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.1, p.179-190.

SOUZA, A. A.; GHILARDI, A. A.; FILHO, H. D. C.; SIMONETTI, L. M.; BASTIANEL, M. 2012. **Avanços nas pesquisas para o controle do CVC.** *Informativo Centro de Citricultura*. Cordeirópolis, número 200.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, E. M. 2005. **Doenças do Cafeeiro.** In: KIMATI, A.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. *Manual de Fitopatologia*. 4.ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**, v.2, p.165-180.