



JEANNY ALICE VELLOSO

**MANGANÊS E FLÚOR PARA O MANEJO DA
MANCHA AUREOLADA DO CAFEIEIRO**
(Pseudonomas syringae pv. garcae)

LAVRAS – MG

2015

JEANNY ALICE VELLOSO

**MANGANÊS E FLÚOR PARA O MANEJO DA MANCHA AUREOLADA
DO CAFEIEIRO (*Pseudomonas syringae* pv. *garcae*)**

Dissertação apresentada ao Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Paulo Estevão de Souza

Coorientadores

Dr. Edson Ampélio Pozza

Dra. Adélia Aziz Alexandre Pozza

Dr. Leônidas Leoni Belan

LAVRAS – MG

2015

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Velloso, Jeanny Alice.

Manganês e flúor para o manejo da mancha aureolada do
cafeeiro (*Pseudomonas syringae* pv. *garcae*) / Jeanny Alice
Velloso. – Lavras : UFLA, 2015.

43 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)—Universidade Federal de
Lavras, 2015.

Orientador(a): Paulo Estevão de Souza.

Bibliografia.

1. Mancha aureolada. 2. Café. 3. Nutrição mineral. 4.
Epidemiologia. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

JEANNY ALICE VELLOSO

**MANGANÊS E FLÚOR PARA O MANEJO DA MANCHA AUREOLADA
DO CAFEIRO (*Pseudonomas syringae* pv. *garcae*)**

Dissertação apresentada ao Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 07 de agosto de 2015.

Dr. Rubens José Guimarães

UFLA

Dra. Milene Alves de Figueiredo Carvalho Embrapa Café

Dr. Paulo Estevão de Souza
Orientador

Dr. Edson Ampélio Pozza
Dra. Adélia Aziz Alexandre Pozza
Dr. Leônidas Leoni Belan
Coorientadores

**LAVRAS – MG
2015**

*Aos meus pais, Elis Regina e Joanir.
À minha querida avó, Maria Helena (in memoriam).*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por me conceder saúde, esperança e determinação para concluir mais esta etapa.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Fitopatologia (DFP), por minha formação e pós-graduação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por me conceder a bolsa de estudos.

Ao professor Paulo Estevão, pela orientação.

Aos professores Edson Ampélio Pozza e Adélia Aziz Alexandre Pozza, pela coorientação.

Aos professores do Departamento de Fitopatologia, pelos ensinamentos e experiências a nós transmitidos.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia, especialmente ao Sílvia, por toda a colaboração no Laboratório de Epidemiologia e auxílio na instalação e condução dos experimentos.

Aos amigos do Laboratório de Epidemiologia pela convivência e apoio, especialmente ao Humberson, Cristian, Marcelo, José Otávio e Marina e por me ajudarem quando mais precisei.

Aos meus pais e a toda minha família, pelo amor, compreensão, colaboração e paciência.

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o efeito de concentrações de manganês (Mn) e flúor (F) para o manejo da mancha aureolada do cafeeiro, conduziu-se experimento instalado inicialmente em casa de vegetação e posteriormente sob condições controladas em câmara de crescimento, para avaliar a intensidade da doença e fotossíntese. O ensaio foi conduzido no Departamento de Fitopatologia (DFP), da Universidade Federal de Lavras (UFLA). A cultivar suscetível Catuaí Vermelho IAC 99 foi utilizada. Os tratamentos consistiram na combinação de cinco concentrações de Mn (0; 0,7; 1,4; 2,8; e 5,6 g. L⁻¹) e cinco concentrações de F (0; 0,01875; 0,0375; 0,075; e 0,15 g. L⁻¹), em esquema fatorial 5 x 5, totalizando 25 tratamentos com quatro repetições. O delineamento foi em blocos casualizados. Houve interação significativa entre as concentrações de Mn e F para a área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) e para a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS). Não houve influência da interação entre as concentrações de Mn e F na fotossíntese das mudas de cafeeiro, bem como não houve efeito isolado para as concentrações de F. As concentrações de Mn influenciaram significativamente a fotossíntese, havendo redução decorrente ao aumento das concentrações deste nutriente.

Palavras-chave: Mancha aureolada. Café. Nutrição mineral. Epidemiologia.

ABSTRACT

In order to evaluate the effect of concentrations of manganese (Mn) and fluorine (F) for the management of bacterial blight in coffee, experiment was conducted initially in greenhouse and later under controlled conditions in growth chamber to evaluate the intensity of the disease and photosynthesis. The assay was conducted in the Department of Plant Pathology (DFP), at Lavras Federal University (UFLA). The susceptible cultivar Catuaí Vermelho IAC 99 was used. Treatments consisted of a combination of five Mn concentrations (0, 0.7, 1.4, 2.8, and 5.6 g L⁻¹) and five F concentrations (0, 0.01875, 0.0375, 0.075 and 0.15 g L⁻¹) in a factorial 5 x 5, totaling 25 treatments with four replications. The experimental design was a randomized block. There was a significant interaction between the concentrations of Mn and F to the area under disease progress curve of incidence (AUDPCI) and the area under disease progress curve of severity (AUDPCS). There was no influence of the interaction between the concentrations for Mn and F in the photosynthesis rate of the coffee seedlings, and no isolated effect for concentrations of F. The Mn concentrations significantly influenced photosynthesis, occurring decrease due to increase of the nutrient concentration.

Keywords: Bacterial blight. Coffee. Mineral nutrition. Epidemiology.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	A cafeicultura no Brasil	11
2.2	Doenças bacterianas relatadas em cafeeiro	11
2.3	Mancha aureolada do cafeeiro	12
2.3.1	Etiologia	13
2.3.2	Sintomatologia	13
2.3.3	Epidemiologia	14
2.3.4	Manejo da mancha aureolada	15
2.4	Nutrição mineral e doenças de plantas	17
2.4.1	Manganês (Mn)	18
2.5	Flúor (F)	19
3	MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1	Local	20
3.2	Produção e adaptação das mudas à solução nutritiva	20
3.3	Aplicação dos tratamentos	21
3.4	Obtenção do isolado, preparo do inóculo e inoculação de <i>P. syringae</i> pv. <i>garcae</i>	22
3.5	Avaliações, variáveis analisadas e análise estatística	22
4	RESULTADOS	24
4.1	Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD)	24
4.2	Fotossíntese	29
5	DISCUSSÃO	30
6	CONCLUSÃO	33
7	CONSIDERAÇÕES GERAIS	34
	REFERÊNCIAS	35

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café e o Estado de Minas Gerais é responsável por mais de 50% da produção nacional, com safra para o ano de 2015, estimada em 23,64 milhões de sacas e a região Sul de Minas responsável por 45,68% deste total (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2015). Apesar disso, a cafeicultura brasileira enfrenta dificuldades no processo produtivo, resultando na redução da qualidade e da produtividade, sendo os responsáveis por essa perda a deficiência nutricional, o manejo inadequado da lavoura, as pragas e as doenças (GARCIA JÚNIOR et al., 2003).

Dentre as principais doenças que afetam o cafeeiro está a mancha aureolada, cujo agente etiológico é a bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* Young, Dye e Wilkie. Essa doença se agrava, principalmente, em lavouras localizadas em regiões de altitudes elevadas e com ocorrência de ventos frios (ITO et al., 2008), em lavouras novas ou lavouras onde se realizou poda e, também, em viveiros nas regiões produtoras dos estados do Paraná, São Paulo e em Minas Gerais, ocorrendo nas regiões Sul, Triângulo Mineiro, Alto Paranaíba e Cerrado (MOHAN, 1976; SERA; ALTEIA; PETEK, 2002; ZOCCOLI; TAKATSU; UESUGI, 2011).

A carência de informações sobre a mancha aureolada, o restrito número de defensivos registrados para o manejo e o desenvolvimento de resistência do patógeno a antibióticos dificultam seu controle (JESUS JUNIOR et al., 2002). Essa ausência de informações ocasiona danos, perdas e aumento no custo de produção em virtude do acréscimo de aplicações de produtos fitossanitários (ZOCCOLI; TAKATSU; UESUGI, 2011). Diante desses problemas, é desejável que outros métodos de manejo de doenças sejam aplicados como forma de reduzir o uso excessivo de produtos químicos e controlar a doença.

Dentre as medidas de manejo de doenças, há o manejo cultural por meio da nutrição mineral de plantas. A relação entre a nutrição mineral de plantas e a intensidade de doenças foi estudada em cafeeiro para o manejo da cercosporiose (GARCIA JÚNIOR et al., 2003; POZZA et al., 2001), da mancha de Phoma (LIMA et al., 2010) e da ferrugem (SANTOS et al., 2008; TALAMINI et al., 2001), no entanto, para a mancha aureolada não existem estudos. Marschner (2012) afirma que os nutrientes minerais influenciam a anatomia e a composição química das células vegetais, as quais podem aumentar ou reduzir a resistência das plantas aos patógenos.

Em relação aos elementos minerais, destaca-se o manganês (Mn), um micronutriente essencial às plantas envolvido em importantes processos fisiológicos e bioquímicos (MALAVOLTA, 2006; RÖMHEL; MARSCHNER, 1991), incluindo a produção de compostos relacionados às reações de defesa das plantas contra patógenos (HUBER; WILHELM, 1988). Juntamente com o Mn, outro elemento de destaque neste estudo é o flúor (F). O F não é um elemento nutriente para as plantas, podendo até mesmo provocar injúrias em espécies suscetíveis ao seu acúmulo (WEINSTEIN, 1977). No entanto, os fluoretos são utilizados contra bactérias agentes da cárie dentária (NARVAI, 2000) e, segundo Shellis e Duckworth (1994), o F disponível nestes compostos é absorvido pelo microrganismo, provocando alterações no seu interior. Desta forma, acredita-se que a combinação dos elementos Mn e F possa promover alteração na intensidade da mancha aureolada.

Diante da carência de medidas de manejo, de estudos relacionados à nutrição mineral e de medidas alternativas de controle, objetivou-se com este estudo avaliar concentrações de Mn e F em pulverização foliar para o manejo da mancha aureolada do cafeeiro.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cafeicultura no Brasil

O Brasil é o maior produtor e exportador de café do mundo com área plantada do café arábica (*Coffea arabica* L.) totalizando 1.775,6 mil hectares correspondentes a 78,5% das lavouras brasileiras (CONAB, 2015). De acordo com a CONAB (2015), em Minas Gerais encontra-se a maior área cultivada com café arábica (1.188,2 mil ha) equivalente a 66,9% da área cultivada com esta espécie no país.

Além da importância econômica a cafeicultura no país tem grande importância social. Essa atividade gera empregos diretos no campo (MELLO, 2001) e, também, indiretos nas cidades, nas fases de beneficiamento e comercialização do café (MOREIRA; ADAMI; RUDORFF, 2004).

2.2 Doenças bacterianas relatadas em cafeeiro

Não só *P. syringae* pv. *garcae* (*Psg*), agente etiológico da mancha aureolada (AMARAL; TEIXEIRA; PINHEIRO, 1956), possui ocorrência relatada em cafeeiro, mas também outras espécies de bactérias fitopatogênicas, como: *Xylella fastidiosa*, agente causal da atrofia dos ramos do café (PARADELA FILHO, 1995); *Pseudomonas andropogonis*, agente causal da mancha escura bacteriana (RODRIGUES NETO et al., 1981); *P. syringae* pv. *tabaci* (DESTÉFANO et al., 2010; RODRIGUES NETO et al., 2006) e *P. cichorii* (ROBBS et al., 1974), ambas agentes de manchas foliares.

2.3 Mancha aureolada do cafeeiro

A mancha aureolada foi descrita pela primeira vez no Brasil no município de Garça, Estado de São Paulo (AMARAL; TEIXEIRA; PINHEIRO, 1956), no entanto, após ser constatada foi considerada de menor importância econômica (COSTA; SILVA, 1960) em que apenas casos isolados da doença foram identificados por, aproximadamente, duas décadas depois de seu relato (MOHAN, 1976). Além do Estado de São Paulo, *Psg* foi descrita oficialmente em Minas Gerais e Paraná (KIMURA; ROBBS; FERRARI, 1976; MOHAN, 1976).

Em Minas Gerais essa bacteriose ocorre comumente na região do Alto Paranaíba, e os primeiros relatos da doença datam de 1980, em São Gotardo, ocorrendo em épocas chuvosas, levando à intensa seca de ramos (VALE; ZAMBOLIM, 1997). É uma doença preocupante em regiões mais frias, expostas ao vento (SERA et al., 2004), no Paraná, em São Paulo e, também, no Sul de Minas Gerais, principalmente, em lavouras novas, podadas e em viveiros (MOHAN, 1976). Além do Brasil, *Psg* foi relatada no Quênia (RAMOS; SHAVDIA, 1976), Etiópia (KOROBKO; WONDIMAGEGNE, 1997), Uganda e China (CHEN, 2002).

Os danos causados pela doença estão relacionados direta ou indiretamente com a produção de acordo com o órgão vegetal afetado (RODRIGUES et al., 2013). Esses autores afirmam que, ao infectar as folhas e ramos, as manchas necróticas e abscisão podem levar à redução da área fotossintética e, quando ocorre nas flores e frutos, sua queda prematura leva à redução direta da produção. Rodrigues et al. (2013) relatam, ainda, que a falta de manejo da bacteriose nos viveiros pode levar a danos de até 100%, por estarem mais suscetíveis, uma vez que o adensamento das mudas proporciona condições favoráveis para a disseminação do patógeno e ocorrência da doença.

2.3.1 Etiologia

A bactéria *Psg* pertence ao grupo das bactérias Gram-negativas, é aeróbia estrita e apresenta células em formato de bastonetes com medidas que variam de 0,5 a 1,0 μm de diâmetro e 1,5 a 4,0 μm de comprimento que se movimentam utilizando de um a vários flagelos polares (AGRIOS, 2005; FERREIRA; SALGADO, 1995). Quando cultivados em meio de cultura King B (KB) (KING; WARD; RANEY, 1954), os isolados produzem pouca quantidade de pigmento fluorescente e, em meios de cultura como Batata Dextrose Agar (BDA) e Nutriente Agar (NA), produzem pigmento marrom, denominado melanina (BARTA; WILLIS, 2005). Estes autores observaram que isolados provenientes do Quênia produziam pigmento fluorescente em meio KB, ao contrário dos isolados brasileiros.

2.3.2 Sintomatologia

A doença possui esta denominação em decorrência da formação de um halo amarelo ao redor das lesões nas folhas (CARVALHO; CHALFOUN, 2000; POZZA; CARVALHO; CHALFOUN, 2010). Estas lesões consistem em manchas de formato irregular, de colocação marrom-escura, com inicial formação de pontos encharcados e posterior formação do halo de coloração amarela, característico da doença e mais evidente em folhas velhas, pois, em folhas novas, este halo pode não ser observado (RODRIGUES et al., 2013; ZAMBOLIM; VALE; ZAMBOLIM, 2005). As lesões podem ocorrer ao longo da superfície foliar e, frequentemente, em torno das margens das folhas, em que a infecção é facilitada por danos mecânicos; nos ramos, ocorre morte dos tecidos com necrose da ponta até a base e nas flores e frutos novos promove necrose (GODOY; BERGAMIN FILHO; SALGADO, 1997). Em mudas em condições

de viveiro, a doença provoca queima das folhas e necrose dos tecidos jovens (ZAMBOLIM et al., 1999; ZAMBOLIM; VALE; ZAMBOLIM, 2005), resultando na morte das mudas (RODRIGUES et al., 2013). Folhas jovens do cafeeiro são mais suscetíveis à *Psg*, enquanto as folhas velhas apresentam maior resistência à infecção (OLIVEIRA, 1988; OLIVEIRA; ROMEIRO, 1991).

2.3.3 Epidemiologia

A ocorrência da mancha aureolada é favorecida por baixas temperaturas associadas à chuva fina (GODOY; BERGAMIN FILHO; SALGADO, 1997), em lavouras situadas em locais de elevadas altitudes e sujeitas ao vento (POZZA; CARVALHO; CHALFOUN, 2010). A maior intensidade da doença foi observada no Paraná quando as médias mensais de temperatura e umidade relativa do ar variaram de 13,1°C a 20,5°C e 57% a 73%, respectivamente, e precipitação de 111,3 mm (CARDOSO; MOHAN, 1980).

Zoccoli, Takatsu e Uesugi (2011) realizaram levantamento relacionando as condições meteorológicas e a ocorrência da mancha aureolada na região do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba e observaram que a ocorrência da doença nessa região é variável e, em áreas serranas de topografia acidentada, altitudes elevadas, temperaturas amenas e sujeitas a ventos fortes ou contínuos, como na região que compreende os municípios de Patrocínio e São Gotardo, a mancha aureolada tem ocorrido todos os anos, porém, com intensidade variada e imprevisível. Os mesmos autores afirmaram que são necessários dados climatológicos mais refinados os quais englobam faixa de temperatura em que as folhas são mais suscetíveis, o tempo de duração do molhamento foliar para haver a infecção, bem como a velocidade e a duração do vento e o impacto das chuvas.

A penetração da bactéria nos tecidos das plantas se dá por aberturas naturais e/ou ferimentos na presença de água livre (KIMATI et al., 2005). Estes ferimentos podem ter sido provocados por tratos culturais, atrito entre folhas, abrasão de grãos de areia carregados pelo vento ou ainda por meio da própria ação do vento, cujas microfissuras podem ser provocadas (RODRIGUES et al., 2013).

A colonização do tecido vegetal pela bactéria se dá pelos espaços intra e intercelulares e as áreas necróticas ficam circundadas por um halo amarelo, que surge em resultado da liberação de toxinas pela bactéria (RODRIGUES et al., 2013). Esses autores relatam que a disseminação da bactéria ocorre de uma folha para outra ou para plantas vizinhas, por meio da água e/ou pelo vento, portanto, sua incidência é reduzida em condições de menor período de molhamento foliar necessário para sua disseminação. Além disso, segundo Belan (2014), sementes de café provenientes de plantas com sintomas de mancha aureolada podem conter inóculo viável da bactéria, podendo contribuir para sua disseminação.

Zocolli, Takatsu e Uesugi (2011) evidenciaram a sobrevivência da bactéria na forma epifítica, ou seja, na superfície das folhas sem causar doença, quando mudas aparentemente saudáveis adquiridas de viveiros que possuíam mudas com sintomas resultaram na formação de cafezais com menos de um ano de idade muito afetados pela doença.

2.3.4 Manejo da mancha aureolada

O manejo da doença deve basear-se em medidas preventivas, como a escolha do local para instalação da lavoura, protegendo o cafeeiro de ventos frios no campo, com medidas como a instalação de quebra ventos (GODOY; BERGAMIN FILHO; SALGADO, 1997), distante de locais onde há a ocorrência da doença e plantio de mudas saudáveis para evitar a contaminação da

área (RODRIGUES et al., 2013). Esses autores recomendam, ainda, que os viveiros também sejam instalados em locais livres da incidência direta de ventos frios ou devem ser instaladas barreiras laterais e o manejo adequado da irrigação é necessário, de forma a evitar o excesso de molhamento foliar.

O controle genético de doenças bacterianas, por meio do plantio de cultivares resistentes, é a melhor alternativa, cuja aplicação retorna o melhor custo/benefício ao produtor por reduzir a doença e, também, a utilização de produtos químicos (RODRIGUES et al., 2013). Em concordância, Ito et al. (2008) afirmam o plantio de cultivares resistentes ser o método mais eficiente e ecologicamente correto, já que o controle químico pode ser ineficiente em plantas adultas e relatam que a cultivar IPR-102 possui resistência à *Psg*, além de boas características agronômicas.

A proteção química das plantas contra a bactéria envolve a aplicação de antibióticos e compostos cúpricos (GODOY; BERGAMIN FILHO; SALGADO, 1997; RODRIGUES et al., 2013). Mohan e Cardoso (1977) relataram que a mistura de antibióticos com esses compostos aumentou a eficiência de controle da mancha aureolada e a recuperação das plantas foi mais rápida, quando situadas a pleno sol, provavelmente, por reduzir o número de horas de molhamento foliar. Patrício et al. (2008) mostraram que o antibiótico cloridrato de kazugamicina e oxicloreto de cobre reduziram a incidência de mancha aureolada e acibenzolar-s-methyl (BTH), indutor de resistência, resultou em proteção das mudas contra a bactéria.

Ainda assim, poucas são as informações sobre a dinâmica da mancha aureolada (JESUS JUNIOR et al., 2002), restrito número de defensivos específicos registrados (SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS - AGROFIT, 2015) e o desenvolvimento de resistência da bactéria a antibióticos dificultam seu controle (JESUS JUNIOR et al., 2002). Outro fator limitante é que as áreas montanhosas, com maior incidência da doença, possuem relevo

irregular, o que dificulta a mecanização de práticas culturais (RODRIGUES et al., 2013).

2.4 Nutrição mineral e doenças de plantas

Os efeitos dos nutrientes minerais no crescimento e na produção das plantas são geralmente explicados pelas funções que exercem no seu metabolismo, podendo alterar o padrão de crescimento, a morfologia, a anatomia e a composição química da planta, contribuindo para aumentar ou diminuir sua resistência a patógenos e pragas (MARSCHNER, 2012). As principais mudanças proporcionadas pela nutrição mineral, responsáveis por alterar a intensidade de doenças são a espessura da parede celular e cutícula, a manutenção de compostos solúveis dentro das células, como açúcares simples e aminoácidos, variações na suberização, na silificação e na lignificação dos tecidos, na síntese e no acúmulo de compostos fenólicos (MARSCHNER, 1995).

A indisponibilidade de nutrientes necessários, para sintetizar as barreiras físicas e químicas ou o desvio de elementos em torno dos locais de infecção, pode resultar em suscetibilidade à doença (HUBER, 1980). Em contraste, o mesmo autor relata que a resistência pode ser conferida pela ausência de nutrientes essenciais para a atividade patogênica. Portanto, os elementos minerais estão diretamente envolvidos em todos os mecanismos de defesa como componentes integrais da célula, substratos, enzimas e transportadores de elétrons ou como ativadores, inibidores e reguladores do metabolismo (HUBER, 1980).

Existem diversos estudos sobre o manejo da nutrição mineral influenciando na intensidade de doenças em espécies vegetais. Lima et al. (2010) relataram que o desequilíbrio da relação nitrogênio/potássio promove alterações no estado nutricional e favorece a infecção do fungo *Phoma tarda* em

mudas de cafeeiro. Garcia Júnior et al. (2003) observaram a influência do potássio e do cálcio na incidência da cercosporiose e Pozza et al. (2001) verificaram o controle da doença com o incremento da nutrição com nitrogênio e o aumento indireto da doença com o aumento da nutrição potássica. Em doenças bacterianas, a multiplicação e a severidade do crestamento foliar são reforçadas com a deficiência de potássio e cálcio e, muitas vezes (KIRALY, 1976), mas não sempre, por deficiência de nitrogênio (HUBER; THOMPSON, 2007).

2.4.1 Manganês (Mn)

O Mn é um micronutriente essencial para as plantas absorvido como Mn^{+2} , seu transporte ocorre via corrente transpiratória; a longa distância se move via xilema; e sua redistribuição é pouco eficiente (MALAVOLTA, 2006). Sua função como ativador ou cofator de enzimas é fundamental nos processos de respiração, controle hormonal, metabolismo do nitrogênio e biossíntese de compostos secundários (MALAVOLTA, 2006).

O Mn possui importância em processos bioquímicos e fisiológicos das plantas, os quais possuem função estrutural, redox e no transporte de elétrons na fotossíntese (BURNELL, 1988; ROMHELD; MARSCHNER, 1991). Existem diversas enzimas que são ativadas por Mn^{+2} e algumas enzimas contêm Mn, como a proteína de Mn no fotossistema II, a superóxido dismutase contendo Mn (MnSOD) e a oxalato oxidase (BURNELL, 1988; HUGHES; WILLIAMS, 1988). Os referidos autores relataram que o Mn atua na ativação de várias enzimas da rota do ácido chiquímico e rotas subsequentes, culminando na biossíntese de aminoácidos aromáticos (como a tirosina), produtos secundários (como lignina e flavonoides) e o ácido indolacético. Outro papel do Mn é atuar na estabilização da conformação ativa de fenilalanina amônia-ase (PAL) (WALL; QUINN; D'CUNHA, 2008) e estimular peroxidases (ÖNNERUD et

al., 2002). Plantas deficientes em Mn apresentam baixa concentração de fenólicos e lignina, resultante da falta desse nutriente, pois, o mesmo atua como cofator de enzimas responsáveis por produzir esses compostos (BROWN; GRAHAM; NICHOLAS, 1984; RENGEL; GRAHAM; PEDLER, 1993).

Diversos estudos realizados relatam o aumento ou a redução na severidade de doenças em espécies de plantas cultivadas, a exemplo da antracnose em banana (CHILLET et al., 2000 apud THOMPSON; HUBER, 2007), mancha de graxa em citros (TIMMER; ZITKO, 1995 apud THOMPSON; HUBER, 2007), sarna da batata (SAHA; MIAN; BARI, 1997 apud THOMPSON; HUBER, 2007) e mancha bacteriana em arroz (PHILIP; DEVADATH, 1981, 1984 apud THOMPSON; HUBER, 2007). Yamada (2007) afirmaram que infecções por *Xylella* spp. (bactérias endofíticas) causam pouco dano, com exceção de plantas em que apresentam deficiência de micronutrientes, como o Mn e zinco (Zn).

Outra justificativa para o uso do Mn neste estudo é dada por este micronutriente participar da composição de fungicidas como o mancozeb e o maneb (DEBBARH et al., 2002; ZHOU et al., 2004), correspondendo a 17% do peso molecular do primeiro (HUNSCHE et al., 2007).

2.5 Flúor (F)

A absorção do F pelas folhas, quando está na forma gasosa, ocorre principalmente por meio dos estômatos e, em menor proporção, pela cutícula (MILLER, 1993). A absorção do F em solução ocorre por toda a superfície foliar (AZEVEDO, 1995), deslocando-se via apoplasto em direção às margens e ao ápice, por meio da corrente transpiratória, em que seu acúmulo pode promover injúrias (MILLER, 1993).

O uso de fluoretos como meio preventivo e terapêutico contra a cárie dentária teve início na década de 1940 nos Estados Unidos e Canadá com a fluoretação das águas de abastecimento público (NARVAI, 2000). A ação do F contra bactérias é descrita por Shellis e Duckworth (1994). Segundo esses autores, o microrganismo absorve o F disponível topicamente e, no seu interior, interfere na atividade enzimática e no controle do pH intracelular, reduzindo a produção de ácidos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

O experimento foi instalado inicialmente em casa de vegetação e, posteriormente, sob condições controladas em câmara de crescimento vegetal do Departamento de Fitopatologia (DFP) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, com temperatura de $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas e umidade relativa mantida acima de 70% com uso de nebulizadores.

3.2 Produção e adaptação das mudas à solução nutritiva

Utilizaram-se mudas de cafeeiro da cultivar Catuaí Vermelho IAC 99. As sementes foram lavadas em água de torneira, desinfestadas em hipoclorito de sódio 1% (por um minuto), álcool 50% (por 50 segundos) e enxaguadas em seguida com água destilada esterilizada. Após esse procedimento, realizou-se a semeadura em bandejas plásticas contendo areia lavada e foram acondicionadas em câmara de crescimento vegetal com temperatura de 28°C e fotoperíodo de 12 horas. Após a emissão do par de folhas cotiledonares, as mudas foram irrigadas com solução básica de Hoagland e Arnon (1950) a 20% da força iônica. A

aplicação desta solução foi realizada a cada dez dias até as mudas emitirem o primeiro par de folhas verdadeiras.

Depois de 20 dias, as mudas foram levadas para casa de vegetação e transferidas para recipientes com capacidade de 2,6 L, contendo solução nutritiva a 50% da força iônica, calculada com base na solução básica de Hoagland e Arnon (1950), sob aeração contínua realizada por compressor e mangueiras. As mudas permaneceram por mais 20 dias nessas condições para adaptação à solução nutritiva. Após esse período foram selecionadas de acordo com a uniformidade de tamanho e transferidas para a solução nutritiva completa (HOAGLAND; ARNON, 1950).

O pH da solução foi monitorado semanalmente, com pHmetro digital e ajustado entre 5,5 e 6,0 com a adição de HCl 0,1 mol/L, quando o pH esteve acima de 6,0 ou NaOH 0,1 mol/L, quando o pH esteve abaixo de 5,5. Quando necessário, o volume dos vasos foi completado com água deionizada.

As variáveis ambientais (temperatura máxima, média e mínima e umidade relativa do ar) foram monitoradas, por intermédio de coletores de dados com sensores internos, localizados nas bancadas onde o experimento foi instalado.

3.3 Aplicação dos tratamentos

Os tratamentos consistiram na combinação de cinco concentrações de Mn (0; 0,7; 1,4; 2,8; e 5,6 g. L⁻¹) e cinco de F (0; 0,01875; 0,0375; 0,075; e 0,15 g. L⁻¹), em esquema fatorial 5 x 5, totalizando 25 tratamentos. O delineamento foi em blocos casualizados, com quatro repetições, sendo cada unidade experimental composta por duas mudas com dois a três pares de folhas verdadeiras. Foram utilizados sulfato de manganês (MnSO₄) e fluoreto de sódio (NaF) como fontes de Mn e F, respectivamente.

Realizaram-se duas aplicações dos tratamentos, com intervalo de sete dias entre aplicações, correspondendo a 14 e 7 dias anteriores à inoculação da suspensão bacteriana. As aplicações foram realizadas, via pulverização foliar, utilizando-se borrifador manual.

3.4 Obtenção do isolado, preparo do inóculo e inoculação de *P. syringae* pv. *garcae*

Utilizou-se o isolado de referência de *P. syringae* pv. *garcae* souche pathotype (CFPB1634). Colônias da bactéria foram repicadas em tubos de ensaio contendo meio MB1. Após 48 horas, foi preparada a suspensão bacteriana em solução salina (NaCl a 0,85%) esterilizada e ajustada a $5,1 \times 10^9$ UFC.mL⁻¹ (absorbância 0,8) em espectrofotômetro a 600 nm (OD600), conforme descrito por Oliveira e Romeiro (1990).

Sete dias após a segunda aplicação dos tratamentos, as mudas foram transferidas para câmara de crescimento vegetal (temperatura de 22 ± 3 °C, umidade relativa do ar acima de 70% e fotoperíodo de 12 horas) e os vasos individualmente acondicionados por 24 horas em câmara úmida, formada por sacos plásticos transparentes umedecidos internamente. Depois deste período, a suspensão bacteriana foi pulverizada na superfície abaxial das folhas até o ponto de escorrimento. Posteriormente, as mudas foram novamente acondicionadas em câmara úmida por 72 horas e após esse período os sacos plásticos foram retirados.

3.5 Avaliações, variáveis analisadas e análise estatística

Avaliaram-se o primeiro e o segundo par de folhas verdadeiras das mudas. Observações diárias foram realizadas para quantificar a incidência

(percentual de folhas com sintomas) e severidade da doença (percentual de área foliar lesionada). A incidência foi avaliada diariamente e a severidade a cada dois dias, com auxílio de escala diagramática proposta por Belan et al. (2014). Avaliou-se, ainda, o período de incubação da doença, que consiste no número de dias entre a inoculação e o surgimento dos primeiros sintomas nas folhas.

Os dados de incidência e severidade foram utilizados, para calcular a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), tanto para incidência (AACPI) quanto para severidade (AACPS), conforme proposto por Shaner e Finney (1977) (Equação 1).

(Eq. 1)

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

Em que:

AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença.

Y_i = proporção de doença na i -ésima observação.

T_i = tempo, em dias, na i -ésima observação.

n = número total de observações.

Avaliou-se a atividade fotossintética das mudas de cafeeiro, utilizando-se o analisador de gás por infravermelho (IRGA) (LI-6400XT Portable Photosynthesis System, LI-COR, Lincoln, USA) aos 15 dias após a inoculação. As leituras foram feitas com fonte de radiação fotossinteticamente ativa (PAR) em câmara fechada fixada em $600 \mu\text{mol}$ de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Blue + Red LED LI-6400-02B, LI-COR, Lincoln, USA). Analisou-se uma folha completamente expandida por muda do primeiro par de folhas verdadeiras.

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2015) e, quando significativos

por meio do teste F, as concentrações dos fatores foram ajustadas a modelos de regressão linear e/ou superfícies de resposta. Foram analisados os dados de AACPI, AACPS e fotossíntese em função das concentrações de Mn e F pulverizadas nas folhas. Os dados de AACPS foram transformados para $\log_{10}(Y+1)$ para estabilizar a variância dos resíduos.

4 RESULTADOS

4.1 Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD)

Houve aumento da incidência da doença ao longo do tempo e os primeiros sintomas foram observados aos cinco dias após a inoculação. A menor incidência (3,12%) foi observada com as maiores concentrações de Mn ($5,6 \text{ g.L}^{-1}$) e F ($0,15 \text{ g.L}^{-1}$). Em contraste, a maior incidência da doença (46,87%) ocorreu aos 11 dias após a inoculação, para as concentrações de $2,8 \text{ g.L}^{-1}$ de Mn e 0 g.L^{-1} de F (Figura 1).

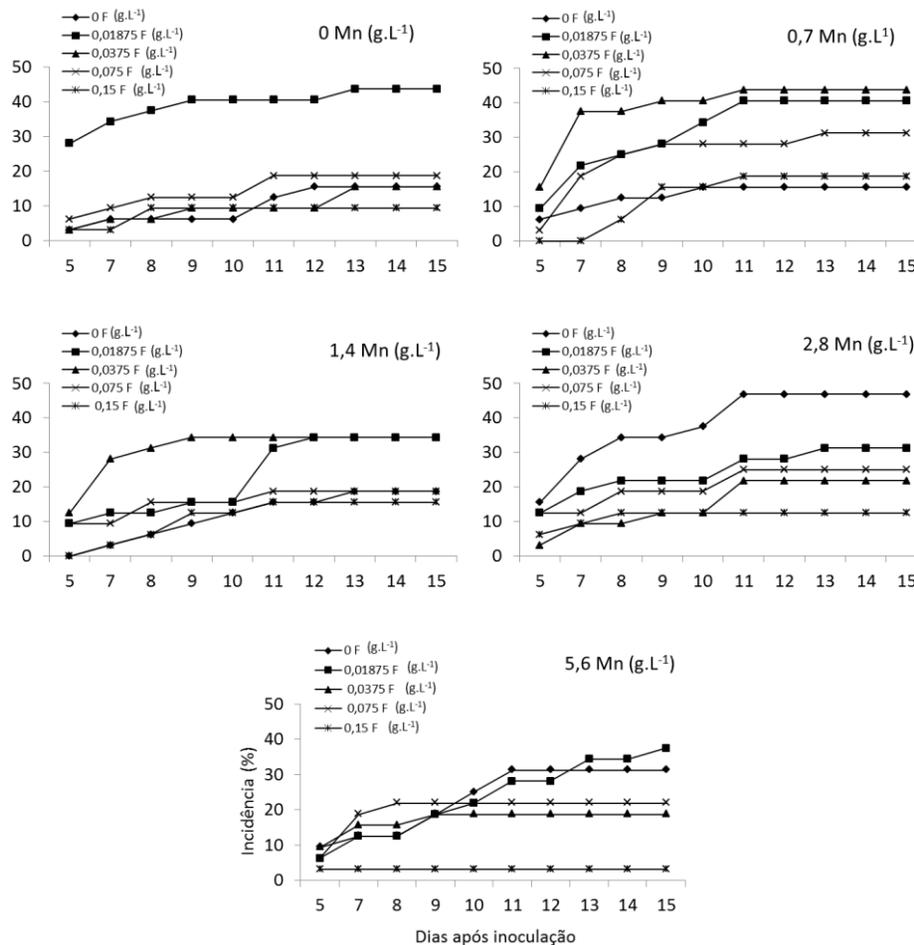


Figura 1. Curva de progresso da incidência (%) da mancha aureolada (*Pseudomonas syringae* pv. *garcae*) em folhas de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica*), em função das concentrações de manganês (Mn) e flúor (F) pulverizadas nas mudas.

Houve interação significativa entre as concentrações de Mn e F para a variável AACPI ($p < 0,05$). Houve menor AACPI entre as concentrações de 0,7 a 1,4 g.L⁻¹ de Mn e 0,10 a 0,12 g.L⁻¹ de F. Foram observados maiores valores de AACPI, para as concentrações próximas de 2,8 a 4 g.L⁻¹ de Mn com 0 g.L⁻¹ de F,

0,5 a 1 g.L⁻¹ de Mn com 0,04 g.L⁻¹ de F e 4,5 a 5,5 g.L⁻¹ de Mn com 0,08 a 0,12 g.L⁻¹ de F (Figura 2).

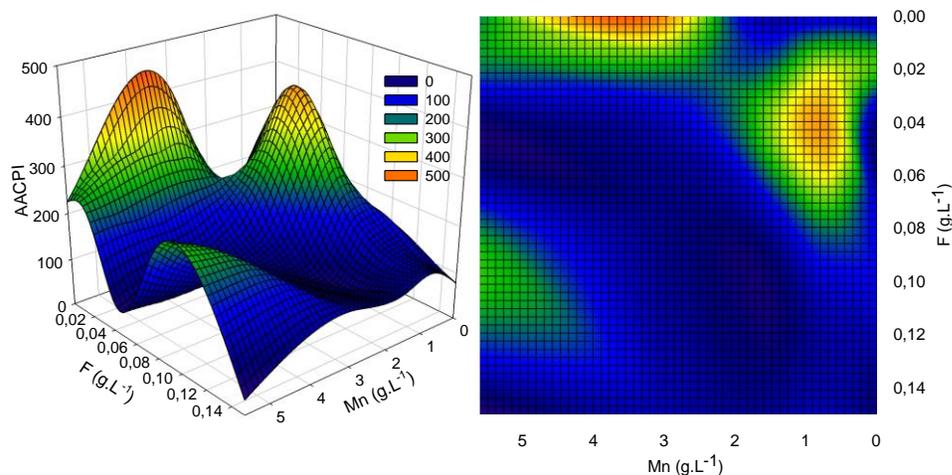


Figura 2. Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) da mancha aureolada (*Pseudomonas syringae* pv. *Garcae*) em folhas de mudas de café (Coffea arabica), em função das concentrações de manganês (Mn) e flúor (F) pulverizadas nas mudas.

Ressalta-se que a região de menor AACPI compreende toda a região representada por cor azul, variando de 0 a 100 (Figura 2). Dessa forma, qualquer combinação de concentrações de Mn e F que esteja dentro dessa região retorna menor AACPI. Entretanto, as concentrações citadas, anteriormente, apresentando menor AACPI, foram estabelecidas por estarem situadas em uma região distante das áreas de risco de maior incidência da doença (picos verde, amarelo e laranja) e, também, por apresentarem menor gasto de produtos para o controle da doença.

Houve progresso da severidade da doença ao longo do tempo. A menor severidade (0,05%) foi observada para a combinação de 0,7 g.L⁻¹ de Mn com 0,15 g.L⁻¹ de F. Em contraste, a maior severidade (4,12%) ocorreu aos 17 dias após a inoculação para as concentrações de 0 g.L⁻¹ de Mn e 0,01875 g.L⁻¹ de F (Figura 3).

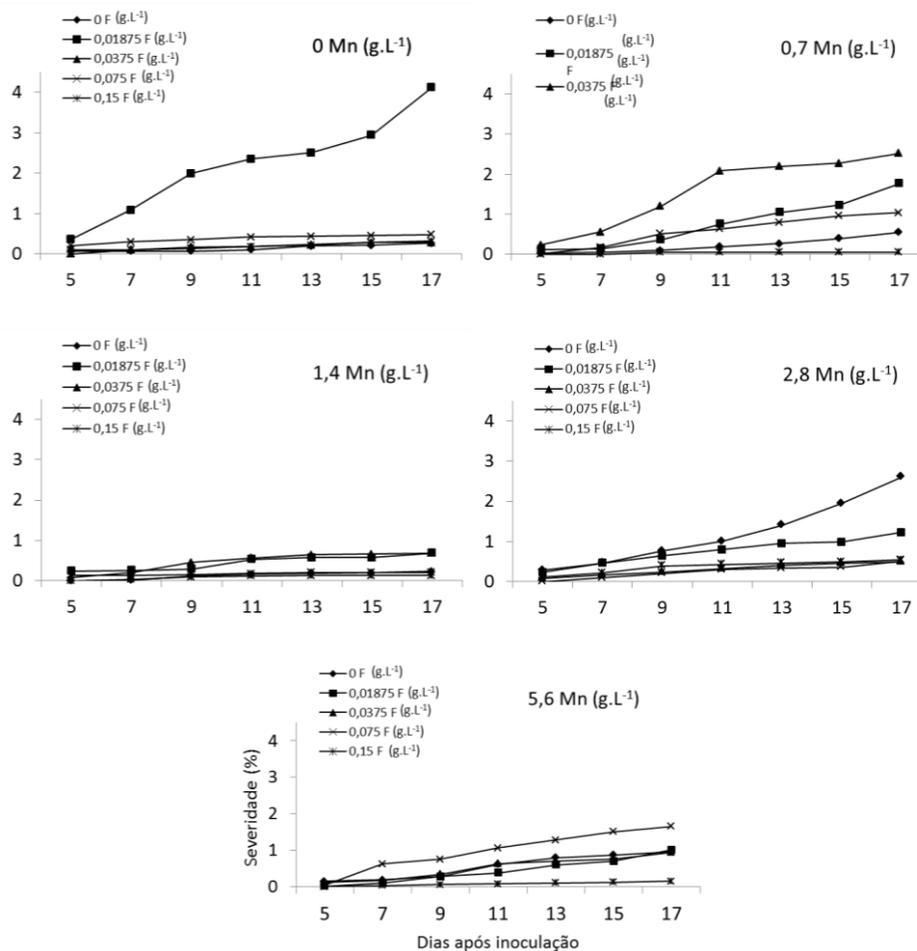


Figura 3. Curva de progresso da severidade da mancha aureolada (*Pseudomonas syringae* pv. *garcae*) em folhas de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica*), em função das concentrações de manganês (Mn) e flúor (F) pulverizadas nas mudas.

Houve interação significativa entre as concentrações de Mn e F para a variável AACPS ($p < 0,01$). As concentrações entre 0,7 e 1,4 g.L⁻¹ de Mn, combinadas com a concentração de 0,12 g.L⁻¹ de F, proporcionaram menor AACPS (Figura 4). A maior AACPS foi observada para as concentrações de Mn entre 2,8 e 4 g.L⁻¹ combinadas 0 g.L⁻¹ de F.

As concentrações citadas foram estabelecidas seguindo o mesmo critério para AACPI.

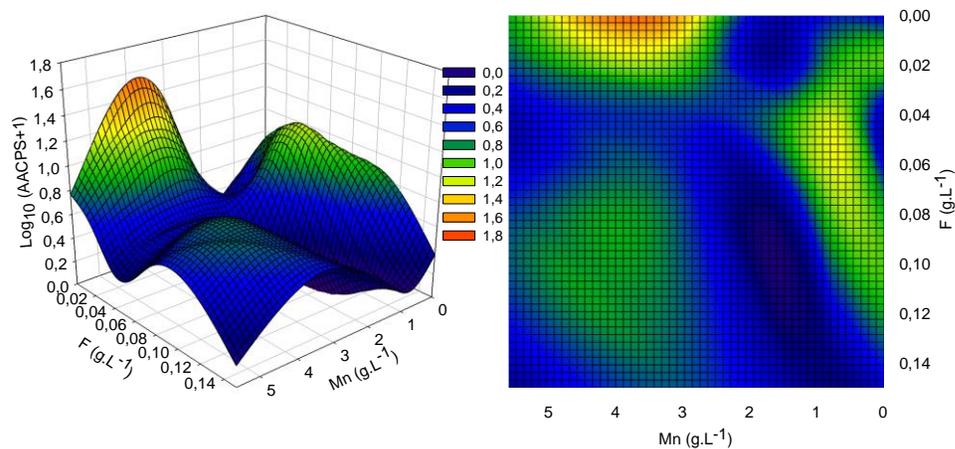


Figura 4. Curva de progresso da severidade da mancha aureolada (*Pseudomonas syringae* pv. *garcae*) em folhas de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica*), em função das concentrações de manganês (Mn) e flúor (F) pulverizadas nas mudas.

* Dados transformados por $\text{log}_{10}(\text{AACPS}+1)$.

4.2 Fotossíntese

Não houve efeito da interação entre as concentrações de Mn e F na fotossíntese das mudas de cafeeiro, bem como não houve efeito isolado para as concentrações de F. Todavia, as concentrações de Mn influenciaram significativamente a fotossíntese ($p < 0,01$). Houve redução linear da fotossíntese com o aumento das concentrações de Mn. A redução foi de $9,59 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ para $9,23 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ correspondentes às concentrações de $0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ e $5,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente (Figura 3).

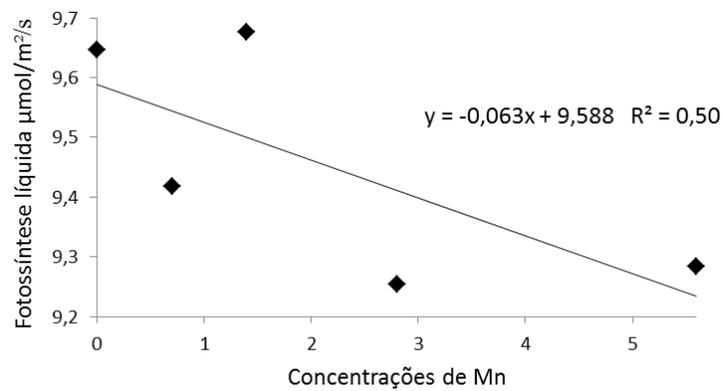


Figura 5. Fotossíntese líquida em mudas de cafeeiro (*Coffea arabica*) com sintomas de mancha aureolada (*Pseudomonas syringae* pv. *garcae*) e submetidas a diferentes concentrações de manganês (Mn) pulverizadas nas mudas.

5 DISCUSSÃO

O Mn pode ter efeito direto sobre os patógenos incluindo inibição do crescimento, da esporulação, da replicação, da produção de enzimas e de toxinas, ou indireto, influenciando o hospedeiro (HUBER; WILHELM, 1988). Os mesmos autores afirmam que, nesse caso, por modificação do ambiente da rizosfera por exsudatos das raízes ou por modificação dos metabólitos constituintes requeridos para a atividade patogênica; já, os efeitos indiretos ocorrem via aumento da produção de compostos inibitórios (como fenólicos e fitoalexinas) e defesas físicas (como formação de calo e lignificação). Os resultados obtidos no presente estudo podem ser explicados tanto por efeitos diretos ou indiretos do Mn, conforme citado anteriormente. Diretamente, quando presente na superfície foliar e restringindo a infecção bacteriana, ou indiretamente, por atuar nas respostas de defesa da planta contra a colonização bacteriana dos tecidos, de forma a reduzir assim a incidência e severidade da mancha aureolada.

Conforme já relatado, a intensidade de doenças fúngicas e bacterianas pode ser reduzida com o aumento da disponibilidade de Mn nos tecidos vegetais (CHILLET et al., 2000 apud THOMPSON; HUBER, 2007; PHILIP; DEVADATH, 1981, 1984 apud THOMPSON; HUBER, 2007; SAHA; MIAN; BARI, 1997 apud THOMPSON; HUBER, 2007; TIMMER; ZITKO, 1995 apud THOMPSON; HUBER, 2007; YAMADA, 2007). No entanto, Amaral (2008), em seus estudos, avaliou o controle da cercosporiose em cafeeiro (*Cercospora coffeicola*) e observou que a maior AACPD ocorreu em plantas pulverizadas com a concentração de $0,435 \text{ g.L}^{-1}$ de sulfato de manganês (equivalente à $0,16 \text{ g.L}^{-1}$ de Mn). Em contrapartida, doenças bacterianas em aveia (*Pseudomonas* spp., SHUTTE, 1957), arroz (*Xanthomonas oryzae*, PHILIP; DEVADATH, 1981, 1984 apud THOMPSON; HUBER, 2007), soja (*Pseudomonas syringae*

pv. *glycinea*, ERSEK et al., 1985) e tomate (*P. syringae*, CONLIN; MCCARTER, 1983), tiveram a severidade reduzida quando cultivadas em locais com maior disponibilidade desse elemento (HUBER; WILHELM, 1988). No presente estudo, também, houve redução na severidade da doença. Quando aplicadas as concentrações de Mn entre 0,7 e 1,4 g.L⁻¹, principalmente, quando combinadas com 0,12 g.L⁻¹ de F, verificaram-se os menores valores de AACPS.

A redução da incidência e severidade da mancha aureolada obtidos neste estudo com a aplicação de concentrações de F pode ser explicada por seu modo de ação sobre as bactérias, conhecido para bactérias da cárie dentária. O F possui efeito preventivo no controle da cárie (CHAVES, 1977). Shellis e Duckworth (1994) relataram que o microrganismo absorve o F disponível topicamente e, no seu interior, interfere na atividade enzimática e no controle do pH intracelular, reduzindo a produção de ácidos.

Na avaliação da fotossíntese, o elevado acúmulo de Mn, associado à inibição da fotossíntese e da carboxilação em várias espécies de plantas, foi relatado por Millaleo et al. (2012). Segundo esses autores, o declínio da fotossíntese é considerado como um dos principais mecanismos que constituem os efeitos tóxicos do excesso de Mn e é proposto como um indicador precoce para a toxicidade de Mn em tabaco (NABLE; HOUTZ; CHENIAE, 1988) e arroz (LIDON; BARREIRO; RAMALHO, 2004). No presente estudo, constatou-se redução da fotossíntese nas folhas das mudas de café em resposta ao incremento das concentrações de Mn, concordando com Millaleo et al. (2012). Essa redução da fotossíntese pode ser explicada por Gonzales e Lynch (1997), Malavolta (1980) e Marschner (2012). Segundo Malavolta (1980), a transferência de energia dos compostos de ATP ou ADP (adenosina trifosfato e difosfato, respectivamente), fundamental em diversos processos executados no interior das plantas, como o de fotossíntese, pode sofrer interferência do excesso de íons de Mn⁺². Este autor afirma que o Mn⁺² pode

substituir o Mg^{+2} (que atua como cofator da maior parte das enzimas fosforilativas, formando uma ponte entre o pirofosfato do ATP ou do ADP e a molécula da enzima), porém, sua eficiência é menor que a do Mg^{+2} . Em decorrência desta substituição, a falta de Mg inibe a fixação do CO_2 mesmo havendo clorofila suficiente, pois o Mg é exigido em reações de fotofosforilação como também em outras reações de fosforilação, limitando a regeneração da rubisco, enzima que capta o dióxido de carbono do ar atmosférico (MALAVOLTA, 1980). No entanto, para Gonzales e Lynch (1997) e Marschner (2012) o decréscimo da fotossíntese nas folhas com elevada quantidade de Mn pode ser em virtude do decréscimo da concentração de clorofila ou inibição da atividade da rubisco (CHATTERJEE; NAUTIYAL; AGARWALA, 1994; HOUTZ; NABLE; CHENIAE, 1988).

6 CONCLUSÃO

De forma geral, concentrações entre 0,7 e 1,4 g.L⁻¹ de Mn combinadas com concentrações de 0,12 g.L⁻¹ de F, reduzem a intensidade da mancha aureolada em mudas de cafeeiro.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para o melhor esclarecimento da influência do Mn na redução da intensidade da mancha aureolada, estudos bioquímicos devem ser realizados com o objetivo de avaliar a atividade de enzimas envolvidas nas reações de defesa das plantas, como, por exemplo, a biossíntese de compostos fenólicos e compostos estruturais, como a lignina.

Assim como para o Mn, o melhor esclarecimento do efeito do F no controle da doença é necessário, podendo ser realizado, por meio da avaliação do efeito direto do F sobre as bactérias fitopatogênicas *in vitro*, além de estudos da observação ultraestrutural das folhas de cafeeiro tratadas com este elemento em microscopia eletrônica.

A redução observada na fotossíntese líquida (taxa de assimilação líquida do CO₂) em função do aumento das concentrações de Mn foi na ordem decimal (9,59 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ para 9,23 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). Esse fato aliado ao baixo valor do coeficiente de determinação (R²) observado (0,50) permite afirmar que, novas análises devem ser realizadas para confirmar as afirmações e discussões feitas no presente trabalho.

REFERÊNCIAS

AGRIOS, G. M. **Plant pathology**. 5th ed. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2005. 922 p.

AMARAL, D. R. **Formulações de extratos vegetais e micronutrientes na indução de resistência em mudas de cafeeiro contra *Cercospora coffeicola***. 2008. 92 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

AMARAL, J. F.; TEIXEIRA, C.; PINHEIRO, E. D. O bactério causador da mancha aureolada do cafeeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 23, p. 151-155, ago.1956.

AZEVEDO, A. A. **Ação do flúor, em chuva simulada, sobre a estrutura foliar de *Glycine max* (L.) Merrill**. 1995. 95 p. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

BARTA, T. M.; WILLIS, D. K. Biological and molecular evidence that *Pseudomonas syringae* pathovars *coronafaciens*, *striaefaciens* and *garcae* are likely the same pathovar. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 153, n. 7/8, p. 492-499, Aug. 2005.

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**. Leônidas Leoni Belan. 2014. 126 p. Tese (Doutorado Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

BELAN, L. L. et al. Diagrammatic scale for assessment of bacterial blight in coffee leaves. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 162, n. 11/12, p. 801-810, Dec. 2014.

BROWN, P. H.; GRAHAM, R. D.; NICHOLAS, D. J. D. The effects of manganese and nitrate supply on the level of phenolics and lignin in young wheat plants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 81, n. 3, p. 437-440, Oct. 1984.

BURNELL, J. N. The biochemistry of manganese in plants. In: GRAHAM, R. D.; HANNAM, R. J.; UREN, N. D. (Ed.). **Manganese in soils and plants**. Dordrecht: Klumer Academic Publishers, 1988. chap. 9, p. 125-137.

CARDOSO, R. L.; MOHAN, S. K. Ocorrência e intensidade do cretamento bacteriano causado por *Pseudomonas garcae* em relação a alguns fatores climáticos, no estado do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 7., 1979, Araxá. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1980. p. 65-66.

CARVALHO, V. L.; CHALFOUN, S. M. **Doenças do cafeeiro**: diagnose e controle. Belo Horizonte: EMBRAPA, 2000. 44 p. (Boletim Técnico, 58).

CHATTERJEE, C.; NAUTIYAL, N.; AGARWALA, S. C. Influence of changes in manganese and magnesium supply on some aspects of wheat (*Triticum aestivum*) physiology. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 40, n. 2, p. 191-197, 1994.

CHAVES, M. M. **Odontologia social**. 2. ed. Rio de Janeiro: Labor, 1977. 448 p.

CHEN, Z. **Morphocultural and pathogenic comparisons between *Colletotrichum kahawae* and *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from coffee berries**. 2002. 163 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrônômica) - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2002.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira: café 2015: segundo levantamento. **Acompanhamento da Safra do Café**, Brasília, v. 2, n. 2, p. 1-59, jun. 2015.

CONLIN, K. C.; MCCARTER, S. M. Effectiveness of selected chemicals in inhibiting *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in vitro and in controlling bacterial speck. **Plant Disease**, St. Paul, v. 67, n. 6, p. 639-644, June 1983.

COSTA, A. S.; SILVA, D. M. A mancha aureolada do cafeeiro. **Bragantia**, Campinas, v. 19, p. 63-69, 1960.

DEBBARH, I. et al. Human neurotoxicity of ethylenebis-dithiocarbamates (EBDC). **Revue Neurologique**, Paris, v. 158, n. 12, p. 1175-1180, Dec. 2002.

DESTÉFANO, S. A. L. et al. Bacterial leaf spot caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* in Brazil. **Plant Pathology**, London, v. 59, n. 6, p. 1162-1163, Dec. 2010.

ERSEK, T. et al. Sugar-specific attachment of *Pseudomonas syringae* pathovar *glycinea* to isolated single leaf cells of resistant soybean *Glycine max* cultivars. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 113, n. 3, p. 260-270, July 1985.

FERREIRA, L. P.; SALGADO, C. L. Bactérias. In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. 1995. v. 1, cap. 5, p. 97-130.

GARCIA JÚNIOR, D. et al. Incidência e severidade da cercosporiose do cafeeiro em função do suprimento de potássio e cálcio em solução nutritiva. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 286-291, maio/jun. 2003.

GODOY, C. V.; BERGAMIN FILHO, A.; SALGADO, C. L. Doenças do cafeeiro. In: KIMATI, A. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p. 184-206.

GONZALES, A.; LYNCH, J. P. Effects of manganese toxicity on leaf CO₂ assimilation of contrasting common bean genotypes. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 101, n. 4, p. 872-880, Dec. 1997.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. 347 p.

HOUTZ, R. L.; NABLE, R. O.; CHENIAE, G. M. Evidence for effects on the in vivo activity of ribulose-bisphosphate carboxylase/oxygenase during development of Mn toxicity in tobacco. **Plant Physiology**, Washington, v. 86, n. 4, p. 1143-1149, Apr. 1988.

HUBER, D. H.; WILHELM, N. S. The role of manganese in resistance to plant diseases. In: GRAHAM, R. D.; HANNAM, R. J.; UREN, N. C. (Ed.). **Manganese in soils and plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1988. chap. 11, p. 155-173.

HUBER, D. M. The role of mineral nutrition in defense. In: HORSFALL, J. G.; COWLING, E. B. (Ed.). **Plant disease: an advanced treatise: how plants defend themselves**. New York: Academic Press, 1980. v. 5, cap. 21, p. 381-406.

HUBER, D. M.; THOMPSON, I. A. Nitrogen and plant disease. In: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. (Ed.). **Mineral nutrition and plant disease**. St. Paul: APS Press, 2007. chap. 3, p. 31-44.

HUGHES, N. P.; WILLIAMS, R. J. P. An introduction to manganese biological chemistry. In: GRAHAM, R. D.; HANNAM, R. J.; UREN, N. C. (Ed.). **Manganese in soils and plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 1988. chap. 1, p. 7-19.

HUNSCHE, M. et al. Mancozeb wash-off from apple seedlings by simulated rainfall as affected by drying time of fungicide deposit and rain characteristics. **Crop Protection**, Bonn, v. 26, n. 5, p. 768-774, 2007.

ITO, D. S. et al. Resistance to bacterial blight in arabica coffee cultivars. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 8, n. 2, p. 99-103, 2008.

JESUS JUNIOR, W. C. J. et al. Controle químico da mancha aureolada do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 61, 2002. Suplemento.

KIMATI, H. et al. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. 663 p.

KIMURA, O.; ROBBS, C. F.; FERRARI, J. A. R. Algumas observações relacionadas com as bacterioses do cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 4., 1976, Caxambu. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1976. p.104-106.

KING, E. O.; WARD, M. K.; RANEY, D. E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, Saint Louis, v. 44, n. 2, p. 301-307, Aug. 1954.

KIRALY, Z. Plant disease resistance as influenced by biochemical effects of nutrients in fertilizers. In: FERTILIZER USE PLANT HEALTH, PROCEEDINGS COLLOQUIUM, 12., 1976, Atlanta. **Proceedings...** Bern: International Potash Institute, 1976. p. 33-46.

KOROBKO, A.; WONDIMAGEGNE, E. Bacterial blight of coffee (*Pseudomonas syringae* pv. *garcae*) in Ethiopia. In: RUDOLDH, K. et al. **Pseudomonas syringae and related pathogens**. Netherlands: Springer, 1997. p. 538-541.

LIDON, F. C.; BARREIRO, M. G.; RAMALHO, J. C. Manganese accumulation in rice: implications for photosynthetic functioning. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 161, n. 11, p. 1235-1244, Nov. 2004.

LIMA, L. M. et al. Relação nitrogênio/potássio com mancha de Phoma e nutrição de mudas de cafeeiro em solução nutritiva. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, n. 4, p. 223-228, jul./ago. 2010.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 256 p.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3rd ed. London: Academic Press, 2012. 889 p.

MELLO, E. V. Cafeicultura no Brasil. In: ZAMBOLIM, L. **Tecnologias de produção de café com qualidade**. Viçosa, MG: UFV, 2001. p. 565-646.

MILLALEO, R. et al. Excess manganese differentially inhibits photosystem I versus II in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 64, n. 1, p. 343-354, Jan. 2012.

MILLER, G. W. The effect of fluoride on higher plants. **Fluoride**, Detroit, v. 26, n. 1, p. 3-22, 1993.

MOHAN, S. K.; CARDOSO, R. M. L. Controle químico do cretamento bacteriano em cafeeiros incitado por *Pseudomonas garcae*. In: CONGRESSO BRASILEIRO EM PESQUISA DE CAFÉ, 5., 1977, Guarapari. **Anais...** Guarapari: EPAMIG, 1977. p. 18-20.

MOHAN, S. K. Investigações sobre *Pseudomonas garcae* Amaral et al. em cafeeiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 4., 1976, Caxambu. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1976. p. 56.

MOREIRA, M. A.; ADAMI, M.; RUDORFF, B. F. T. Análise espectral e temporal da cultura do café em imagens Landsat. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília v. 39, n. 3, p. 223-231, mar. 2004.

- NABLE, R. O.; HOUTZ, R. L.; CHENIAE, G. M. Early inhibition of photosynthesis during development of Mn toxicity in tobacco. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 86, n. 4, p. 1136-1142, Apr. 1988.
- NARVAI, P. C. Cárie dentária e flúor: uma relação do século XX. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 2, p. 381-392, 2000.
- OLIVEIRA, J. R. **Idade da folha e suscetibilidade do cafeeiro a *Pseudomonas cichorii* e a *Pseudomonas syringae* pv *garcae***. 1988. 79 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1988.
- OLIVEIRA, J. R.; ROMEIRO, R. S. Compostos fenólicos, idade da folha e resistência do cafeeiro à *Pseudomonas cichorii* e *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 38, n. 220, p. 445-452, nov./dez. 1991.
- OLIVEIRA, J. R.; ROMEIRO, R. S. Reação de folhas novas e velhas de cafeeiros a infecção por *Pseudomonas cichorii* e *P. syringae* pv. *garcae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 15, n. 1, p. 355-356, 1990.
- ÖNNERUD, H. et al. Polymerization of monolignols by redox shuttle-mediated enzymatic oxidation. **Plant Cell**, Rockville, v. 14, n. 8, p. 1953-1962, Aug. 2002.
- PARADELA FILHO, O. et al. Primeira constatação em cafeeiro no Brasil da *Xylella fastidiosa* causadora da clorose variegada dos citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 16, n. 2, p.135-136, 1995.
- PATRÍCIO, F. R. A. et al. 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**, Warwick, v. 152, n. 1, p. 29-39, Feb. 2008.
- POZZA, A. A. A. et al. Influência da nutrição mineral na intensidade da mancha-de-olho-pardo em mudas de cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 1, p. 53-60, jan. 2001.
- 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, fitossanitários e fisiológicos. Lavras: UFLA, 2010. cap. 2, p. 69-101.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2015. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 02 jul. 2015.

RAMOS, A. H.; SHAVDIA, L. D. A dieback of coffee in Kenya. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 60, n. 10, p. 831-835, July/Dec. 1976.

RENGEL, Z.; GRAHAM, R. D.; PEDLER, J. F. Manganese nutrition and accumulation of phenolics and lignin as related to differential resistance of wheat genotypes to the take-all fungus. **Plant Soil**, The Hague, v. 151, n. 2, p. 255-263, Apr. 1993.

ROBBS, C. F. et al. “Crestamento bacteriano das folhas”: nova enfermidade do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) incitada por *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp. **Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, Itaguaí, v. 4, n. 2, p. 1-5, 1974.

RODRIGUES, L. M. R. et al. **Mancha aureolada do cafeeiro causada por *Pseudomonas syringae* pv. *garcae***. Campinas: Instituto Agronômico, 2013. 24 p. (Série Tecnologia Apta/ Boletim técnico IAC, 212).

RODRIGUES NETO, J. et al. *Pseudomonas andropogonis* (Smith, 1911) Stapp, 1928, agente causal da “mancha escura bacteriana” em folhas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 48, p. 31-36, 1981.

RODRIGUES NETO, J. et al. Mancha bacteriana do cafeeiro causada por *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, p. 85, 2006. Suplemento.

RÖMHELD, V., MARSCHNER, H. Function of micronutrients in plants. In: MORTVEDT, J. J. et al. (Ed.). **Micronutrients in agriculture**. Madison: Soil Science Society of America, 1991. chap. 9, p. 297-398.

SANTOS, F. S. et al. Adubação orgânica, nutrição e progresso de cercosporiose e ferrugem do cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária**, Brasília, v. 43, n. 7, p. 783-791, jul. 2008.

SERA, G. H. et al. Associação de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* com algumas características agronômicas em cafeeiros F₂ segregantes para o gene *erecta*. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 5, p. 974-977, set./out. 2004.

SERA, T.; ALTEIA, M. Z.; PETEK, M. R. Melhoramento do cafeeiro: variedades melhoradas no Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR). In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **O estado da arte de tecnologias na produção de café**. Viçosa, MG: UFV, 2002. p. 217-251.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-milde wing resistance in Knox wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, p. 1051-1056, Aug. 1977.

SHELLIS, R. P.; DUCKWORTH, R. M. Studies on the cariostatic mechanisms of fluoride. **International Dental Journal**, London, v. 4, n. 3, p. 263-273, June 1994. Supplement 1.

SHÜTTE, K. H. The significance of micronutrients. **Economic Botany**, New York, v. 11, n. 2, p. 146-159, Apr. 1957.

SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. **Consulta de praga/doença**. Disponível em:
<http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>.
Acesso em: 3 mar. 2015.

TALAMINI, V. et al. Progresso da ferrugem e da cercosporiose-do-cafeeiro (*Coffea arabica* L.) em diferentes lâminas de irrigação e diferentes parcelamentos de adubação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 1, p. 55-62, jan./fev. 2001.

THOMPSON, I. A.; HUBER, D. M. Manganese and plant disease. In: DANTNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. (Ed.). **Mineral nutrition and plant disease**. St. Paul: APS Press, 2007. chap. 10, p. 139-153.

VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L. **Controle de doenças de plantas: grandes culturas**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 1997. v. 2, 1132 p.

WALL, M. J.; QUINN, A. J.; D'CUNHA, G. B. Manganese (Mn²⁺)-dependent storage stabilization of Rhodotorula glutinis phenylalanine ammonia-lyase activity. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, n. 3, p. 894-902, Feb. 2008

WEINSTEIN, L. H. Fluoride and plant life. **Journal of Occupational Medicine**, Chicago, v. 19, n. 1, p. 49-78, Jan. 1977.

YAMADA, T. **Manejo conservacionista na citricultura**. Piracicaba: IPNI, 2007. 98 p.

ZAMBOLIM, L. et al. Manejo integrado das doenças do cafeeiro. In: ENCONTRO SOBRE PRODUÇÃO DE CAFÉ COM QUALIDADE, 1., 1999, Viçosa, MG. **Palestras...** Viçosa, MG: UFV, 1999. p. 134-215.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, E. M. Doenças do cafeeiro. In: KIMATI, A. et al. **Manual de fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p. 165-180.

ZOCCOLI, D. M.; TAKATSU, A.; UESUGI, C. H. Ocorrência de mancha aureolada em cafeeiros na região do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 4, p. 843-849, 2011.

ZHOU, Y. et al. Proteasomal inhibition induced by manganese ethylenebis-dithiocarbamate: relevance to Parkinson's disease. **Neuroscience**, Oxford, v. 128, n. 2, p. 281-291, 2004.