

RELAÇÃO ENTRE OS SINTOMAS MORFOLÓGICOS EXTERNOS DE CAFEIEIRO INFECTADO PELA *Xylella fastidiosa* E A PORCENTAGEM DE OBSTRUÇÃO DOS VASOS DO XILEMA¹

Rachel Benetti QUEIROZ-VOLTAN (IAC - rachelqv@barao.iac.br), Joel Irineu FAHL (IAC), Maria Luíza Carvalho CARELLI (IAC), Osvaldo PARADELA FILHO (IAC), Mauro Hideo SUGIMORI (IAC) & Paulo Boller GALLO (IAC)

RESUMO: Estudaram-se as relações entre os sintomas morfológicos externos apresentados por cafeeiro infectado pela bactéria *Xylella fastidiosa*, e a porcentagem de obstrução dos vasos do xilema em diferentes partes da planta, visando compreender as causas dos seus distúrbios fisiológicos. Ainda é desconhecido se os sintomas morfológicos e fisiológicos apresentados pelo cafeeiro são devidos ao efeito direto da infecção pela bactéria *X. fastidiosa* ou se o esgotamento nutricional e outros fatores de estresse predis põem a planta ao agravamento dos sintomas. Tem sido sugerido que a causa principal dessa doença é uma disfunção no sistema condutor de água, que está relacionada com as oclusões dos vasos do xilema por “gomias”, porém, existem divergências na literatura se estas oclusões seriam suficientes para causar um estresse hídrico. Analisaram-se amostras dos cultivares comerciais de *Coffea arabica* L. enxertados sobre *C. canephora* Pierre ex Froehn e *C. congensis* Froehn. As amostras foram coletadas em experimento instalado em Mococa-SP, no espaçamento de 3,5 x 2,0 m, com duas plantas por cova. Como porta-enxerto, utilizaram-se duas progênies de *C. canephora* (Apoatã IAC 2258 e IAC 2286) e uma de *C. congensis* (IAC Bangelan coleção 5), tolerantes a nematóides e, como enxerto, dois cultivares de *C. arabica* (Catuaí vermelho IAC H 2077-2-5-81 e Mundo Novo IAC 515-20). Também efetuaram-se auto-enxertias em Catuaí e Mundo Novo e, como testemunhas, consideraram-se plantas desses cultivares não enxertadas. Foram retiradas amostras de tecidos da raiz, do caule e de folhas de ramos com e sem sintomas da bactéria e estimada a porcentagem de obstrução dos vasos do xilema. Para as plantas amostradas foram dadas notas de 1 a 4 de acordo com o sintoma visual da presença da bactéria nos ramos, sendo 1 para planta aparentemente sadia e 4 para planta muito infectada. Os diferentes materiais genéticos apresentaram diferenças significativas na porcentagem de obstrução dos vasos do xilema entre os ramos com e sem sintomas externos, entre as regiões da planta amostradas e entre as parcelas. O nível de sintoma de dano externo entre os diferentes materiais embora não tenha variado significativamente entre os cultivares apresentou uma tendência de ser mais severo no Catuaí (não enxertado), em Catuaí enxertado sobre ele mesmo e, em Mundo Novo enxertado sobre *C. canephora* 2286.

ABSTRACT: The relation between external morphological symptoms and the percentage of obstructed xylem elements was studied in several parts of coffee plants infected by the bacteria *Xylella fastidiosa*, in order to establish the causes of physiological disturbances/impairments of this disease. Until the present, it remains unclear if the morpho-physiological symptoms showed by infected coffee plants are solely a direct consequence of the bacterial action or if environmental stress factors may increase plant sensitivity, thus contributing to the dramatic effects. It has been suggested that the main impact of this disease is related with the obstruction of the water transport elements, raising the question if such obstructions are important enough to cause water deficits. In the present work were analyzed samples of *Coffea arabica* L. (Catuaí vermelho IAC H 2077-2-5-81 e Mundo Novo IAC 515-20) grafted on *C. canephora* Pierre ex. Froehn (Apoatã IAC 2258 and IAC 2286) and *C. congensis* Froehn (IAC Bangelan collection 5), both of which have good tolerance to nematodes. For comparison were used plants of Catuaí and Mundo Novo “self-grafted” and plants without grafting. Tissue samples for evaluation of the obstruction of xylem vessels were collected from root, stem and leaves, with and without morphological/visual symptoms of the infection. Concerning the percentage of obstructed xylem elements, significant differences were observed among the plant material between leaves with and without visual symptoms, between the different parts of the plant and between the blocks. The external damage was also different among the studied genetic material, being more severe on Catuaí (not grafted and “self-grafted”) and Mundo Novo grafted on *C. canephora* cv. Apoatã IAC 2286.

PALAVRAS-CHAVE: cafeeiro, anatomia, *Xylella fastidiosa*, obstrução de xilema, sintoma externo.

INTRODUÇÃO

¹ Apoio financeiro: CONSÓRCIO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DO CAFÉ

A presença da bactéria *Xylella fastidiosa* em cafeeiro foi descrita por Paradela Filho *et al.* (1996, 1997) e confirmada por Beretta *et al.* (1996). Desde então, diversos trabalhos tem sido desenvolvidos para o conhecimento da relação hospedeiro-patógeno (Lima *et al.*, 1998; Queiroz-Voltan *et al.*, 1998). Os sintomas morfológicos externos apresentados pelas plantas infectadas são: encurtamento dos entrenós, e com o agravamento da doença, senescência foliar precoce na base dos ramos, resultando em pequeno número de folhas no ápice. Esses ramos também apresentam pecíolos e área foliar reduzidos e frutos menores e agrupados, em vista de um encurtamento dos pedicelos e dos entrenós. Internamente ocorre uma deposição de "goma" nos vasos do xilema, assim como divisões anormais no mesófilo e no xilema, floema e córtex do pecíolo e do caule. As células do mesófilo das folhas de cafeeiro afetadas também apresentam número reduzido de cloroplastos, associado a maior concentração de cristais de oxalato de cálcio (Queiroz-Voltan *et al.*, 1998). O objetivo deste trabalho foi estudar as relações entre os sintomas morfológicos externos de infecção por *X. fastidiosa* e o grau de obstrução dos vasos do xilema em diferentes partes da planta de cultivares de *Coffea arabica* L. enxertados sobre *C. canephora* Pierre ex Froehn. e *C. congensis* Froehn, cultivados em mesmas condições edafoclimáticas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado em Mococa (SP), em 1986, em áreas não infestadas por nematóides. O delineamento utilizado foi o de blocos ao acaso, com dez tratamentos e cinco repetições, sendo o espaçamento de 3,5 x 2,0 m e, as parcelas, de quatro covas, cada uma com duas plantas. Como porta-enxerto foram utilizadas duas progêneses de *C. canephora*, Apoatã IAC 2258 e IAC 2286, e uma de *C. congensis*, IAC Bangelan coleção 5, a qual apresenta grande semelhança taxonômica, morfológica e bioquímica com *C. canephora* (Krug & Carvalho, 1952; Charrier & Berthaud, 1987). Todas essas progêneses são oriundas de plantas matrizes selecionadas pelo Instituto Agrônomo de Campinas em áreas infestadas por nematóides. Como enxerto, empregaram-se dois cultivares de *C. arabica*: Catuaí Vermelho IAC H 2077-2-5-81 e Mundo Novo IAC 515-20. Também foram efetuadas auto enxertias em Catuaí e Mundo Novo, considerando-se, como testemunha, as plantas não enxertadas desses cultivares. Para o estudo anatômico foram obtidas, em 1997, amostras aleatórias de cinco plantas de cada tratamento, sendo uma planta representativa de cada parcela. De cada planta, retirou-se dois ramos, sendo um aparentemente sadio e o outro apresentando sintomas característicos de infecção por *X. fastidiosa*. Para cada uma das plantas amostradas foram utilizados cinco segmentos de 0,5 cm de comprimento de caule e pecíolo, segmentos de 0,25 cm² de limbo de folhas adultas, e segmentos de 0,5 cm de raízes. Os segmentos do limbo foram retirados na região da nervura principal, na porção mediana da lâmina; os do pecíolo, na porção mediana, sendo que para as amostras do pecíolo de folhas com sintoma, foi utilizado todo o comprimento do pecíolo; os do caule foram retirados da região mediana de ramos correspondente ao 6º ou 7º nó do eixo principal e o das raízes da região compreendida entre 5 e 15 cm do seu ápice. Estes tecidos foram fixados em F.A.A. 50 (Johansen, 1940), incluídos em parafina e cortados em micrótomo rotativo manual na espessura de 12 µm e corados com safranina-alcian blue. A porcentagem de vasos obstruídos do xilema da raiz, caule e folha (nervura principal e pecíolo) foi estimada, em microscópio óptico, em 30 campos para cada segmento amostrado, e em seguida obtidas as médias por planta e por cultivar (enxertado ou não). Os resultados das porcentagens de obstrução das diferentes amostras foram analisados através da análise de variância e do valor de F e as diferenças entre as porcentagens médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5%. A fim de se estimar o nível de dano externo ocasionado pela bactéria foram dadas notas de 1 a 4 às plantas amostradas para o estudo anatômico, conforme descrito a seguir: nota 1 - de 0 a 25% de ramos com sintomas morfológicos externos (planta aparentemente sadia); 2 - de 26 a 50% dos ramos com sintomas (intermediário 1); nota 3 - 51 a 75% dos ramos com sintomas (intermediário 2) e nota 4 - de 76 a 100% de ramos com sintomas (planta muito infectada).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que houve diferenças significativas na porcentagem de obstrução dos vasos do xilema entre os materiais genéticos (Tabela 1), entre os ramos com e sem sintomas externos (Tabela 2) e entre as regiões da planta amostrada (Tabela 3). Deste modo, observou-se que os ramos com sintomas externos de presença de *X. fastidiosa* apresentavam uma porcentagem maior de vasos obstruídos do que os sem sintoma; que a porcentagem de obstrução dos vasos diminuía do pecíolo, limbo, caule até as raízes e que, entre os materiais genéticos, embora tenha havido grandes sobreposições entre os mesmos, havia uma tendência de maior obstrução dos vasos de 'Mundo Novo' do que em 'Catuaí'. É importante observar que, embora o Catuaí apresente sintomas morfológicos externos da presença de *X. fastidiosa* mais severos do que em 'Mundo Novo', quando analisada a porcentagem de obstrução de seus vasos, observou-se uma obstrução menor do que em 'Mundo Novo'. Este fato nos leva a supor que 'Catuaí' seja mais sensível à infecção por *X. fastidiosa* do que 'Mundo Novo', isto é, mesmo apresentando uma porcentagem de obstrução menor, os sintomas externos da doença são evidentes. Considerando-se todas as amostras retiradas da planta, verificou-se que o 'Catuaí' enxertado sobre o IAC 2286 apresentou uma porcentagem de obstrução dos vasos maior do que o 'Catuaí' auto-enxertado ou enxertado sobre Bangelan, pé franco e sobre o Mundo Novo enxertado sobre Apoatã 2258 (Tabela 1). Os demais apresentaram sobreposições sobre estes

materiais. Entretanto, quando consideradas as regiões da planta amostrada, as diferenças entre as cultivares foram significativas na região do pecíolo e do limbo, porém não significativas entre as regiões do caule e raiz. No pecíolo e no limbo, a porcentagem de obstrução foi maior em `Catuaí` enxertado em IAC 2286 e menor em `Mundo Novo` enxertado sobre Apoatã 2258. Os demais se sobrepuseram entre si. Apesar das diferenças não serem significativas entre os materiais genéticos, em relação aos sintomas externos, verificou-se uma tendência do Catuaí (pé franco), do Catuaí enxertado sobre o Catuaí e do Mundo Novo enxertado sobre o *C. canephora* 2286 de apresentarem índices mais altos (Tabela 4). Pode-se também observar (tabela 4) que a nota de sintoma externo, varia entre as parcelas dentro de um mesmo material genético. Se compararmos a porcentagem de obstrução dos vasos na planta inteira e os sintomas externos apresentados devido à presença da bactéria, podemos verificar que o Catuaí enxertado sobre Bangelan, apresentou pouco sintoma externo da presença da bactéria e baixa porcentagem de obstrução dos vasos. O Catuaí enxertado sobre *C. canephora* 2286 embora tivesse uma porcentagem de obstrução de seus vasos alta, a média das notas de sintoma visual foi baixa e, ao contrário, Mundo Novo enxertado sobre *C. Canephora* 2286 apresentou notas de sintomas altos tanto para a obstrução de vasos como para o sintoma visual.

CULTIVARES	REGIÃO DA PLANTA				
	toda a planta	nervura foliar	pecíolo	caule	raiz
Catuaí/2286	3,01 ^a a ^b	5,29 a	9,18 a	2,10 a	0,01 a
Mundo Novo	2,35 ab	3,50 ab	5,60 ab	1,63 a	0,36 a
Mundo Novo/ 2286	2,21 ab	2,48 ab	6,02 ab	1,74 a	0,34 a
Catuaí/2258	2,21 ab	3,94 ab	4,90 abc	2,23 a	0,05 a
Mundo Novo/Mundo Novo	1,80 ab	2,46 ab	3,37 bc	1,71 a	0,43 a
Mundo Novo/Bangelan	1,63 ab	3,07 ab	3,85 bc	1,72 a	0,01 a
Catuaí/Bangelan	1,52 b	3,08 ab	3,73 bc	1,20 a	0,02 a
Catuaí	1,48 b	2,42 ab	3,50 bc	1,12 a	0,13 a
Catuaí/Catuaí	1,33 b	2,24 ab	3,70 bc	1,21 a	0,01 a
Mundo Novo/ 2258	1,26 b	1,64 b	2,05 c	1,27 a	0,42 a

^a % de obstrução

^b Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

TABELA 1. Médias da porcentagem de obstrução dos vasos do xilema obliterados por "goma" em cultivares de cafeeiro, considerando-se todas as amostras obtidas da planta e por região da planta

SINTOMAS	% vasos obliterados
Presentes	5,54 a ^a
Ausentes	0,12 b

^a Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

TABELA 2. Médias da porcentagem de obstrução dos vasos do xilema obliterados por "goma" considerando-se as amostras de ramos com sintomas presentes

REGIÕES	% vasos obliterados
Pecíolo	4,43 a ^a
Limbo	2,94 b
Caule	1,57 c
Raiz	0,12 d

^a Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

TABELA 3. Médias da porcentagem de obstrução dos vasos do xilema obliterados por "goma" considerando-se as amostras obtidas de diferentes regiões da planta.

_CULTIVARES	PARCELAS					X ^a	s ^a
	A	B	C	D	E		
Catuai	2 ^b	3	3	2	4	2,8 a	0,84
Catuai/Catuai	2	2	3	3	3	2,6 a	0,55
Mundo Novo/ 2286	3	2	3	2	2	2,4 a	0,55
Mundo Novo	4	1	3	1	2	2,2 a	1,30
Catuai/Apoatã 2258	2	3	2	2	1	2,0 a	0,71
Catuai/2286	3	2	3	1	1	2,0 a	1,00
Mundo Novo/ 2258	2	2	1	2	3	2,0 a	0,71
Mundo Novo/Bangelan	1	2	2	2	3	2,0 a	0,71
Mundo Novo/Mundo Novo	2	2	2	1	3	2,0 a	0,71
Catuai/Bangelan	1	1	1	4	2	1,8 a	1,30

^ax= média aritmética; s= desvio padrão.

^bNotas: 1- 1-25% de ramos com sintomas; 2- de 26 a 50% de ramos com sintomas; 3- 51 a 75% de ramos com sintomas; 4- 76 a 100% de ramos com sintomas. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

TABELA 4. Estimativa do nível de dano externo ocasionado pela bactéria *Xylella fastidiosa* em cultivares comerciais de cafeeiro amostrados para os estudos anatômicos

CONCLUSÕES

Danos internos ocasionados por *X. fastidiosa* em cafeeiro podem ser avaliados através da estimativa da porcentagem de obstrução dos vasos do xilema. Resultados preliminares indicam que, em cultivares de café, a apresentação de uma porcentagem mais alta de obstrução dos vasos do xilema não está necessariamente relacionada com a apresentação de sintomas de dano externo severo, indicando que provavelmente outros fatores devem estar interagindo e ocasionando os distúrbios fisiológicos na planta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERETTA, M. J. G.; HARAKAWA, R.; CHAGAS, C. M.; DERRICK, K. S.; BARTHE, G. A.; CECCARDI, T. L.; LEE, R. F.; PARADELA FILHO, O.; SUGIMORI, M. H. & RIBEIRO, I. J. A. First report of *Xylella fastidiosa* in coffee. *Plant disease*, St. Paul, 80:821, 1996.
- CHAGAS, C. M.; ROSSETI, V. & BERETTA, J. G. Electron microscopy studies of xylem-limited bacterium in sweet-orange affected with *citrus* variegated chlorosis disease in Brazil. *Journal of Phytopathology*, Berlin, 34: 306-312, 1992.
- CHARRIER, A. & BERTHAUD, J. Botanical classification of coffee. In: CLIFFORD, M.M.N. & WILLSON, K. C., eds. *Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage*. London, Croom Helm, 1987. Cap.2, p.13-47.
- HOPKINS, D. L. *Xylella fastidiosa*: xylem-limited bacterial pathogen of plants. *Annual review of phytopathology*, Palo Alto, 27:271-290, 1989.
- HOPKINS, D. L.; MOLLENHAUER, H. A. & FRENCH, W. J. Occurrence of a rickettsia-like bacterium in the xylem of peach trees with phony disease. *Phytopathology*, St. Paul, 63:1422-1423, 1973.
- HOPKINS, D. L. & ADLERZ, W. C. Natural hosts of *Xylella fastidiosa* in Florida. *Plant disease*, St. Paul, 72:429-431, 1988.
- JOHANSEN, D. A. *Plant microtechnique*. New York, McGraw-Hill, 1940. 523p.
- KRUG, C. A. & CARVALHO, A. Melhoramento do cafeeiro. V. Melhoramento por hibridação. *Bragantia*, Campinas, 12:141-152, 195.
- LIMA, J. E. O.; MIRANDA, V. S.; HARTUNG, J. S.; BRLANSKY, R. H.; COUTINHO, A.; ROBERTO, S. R. & CARLOS, E. F. Distribuição da *Xylella fastidiosa* no cafeeiro, nas regiões cafeeiras e seu isolamento "in vitro". *Fitopatologia brasileira*, Brasília, 21(3):392-393, 1996.
- PARADELA FILHO, O. SUGIMORI, M. H.; RIBEIRO, I. J. A.; MACHADO, M. A.; LARANJEIRA, F. F.; GARCIA JUNIOR, A., BERETTA, M. J. G.; HARAKAWA, R.; RODRIGUES NETO, J. & BERIAN, L. O. S. Identificação serológica da *Xylella fastidiosa* causadora da clorose variegada dos citros (CVC), em cafeeiro. *Summa Phytopathologica*, Jaboticabal, 22 (1): 67, 1996.
- PARADELA FILHO; O. SUGIMORI, M. H.; RIBEIRO, I. J. A.; MACHADO, M. A.; LARANJEIRA, F. F.; GARCIA JUNIOR, A., BERETTA, M. J. G.; HARAKAWA, R.; RODRIGUES NETO, J. & BERIAN, L. O. S. Constatação da *Xylella fastidiosa* em cafeeiro no Brasil. *Summa phytopathologica*, Jaboticabal, 23:46-49, 1997.
- QUEIROZ-VOLTAN, R. B.; PARADELA FILHO, O.; CARELLI, M. L. C. & FAHL, J. I. Aspectos estruturais de cafeeiro infectado com *Xylella fastidiosa*. *Bragantia* 57(1):23-33, 1998.

AVISO

ESTA PUBLICAÇÃO PODE SER ADQUIRIDA NOS
SEGUINTE ENDEREÇOS:

FUNDAÇÃO ARTHUR BERNARDES

Edifício Sede, s/nº. - Campus Universitário da UFV
Viçosa - MG
Cep: 36571-000
Tels: (31) 3891-3204 / 3899-2485
Fax : (31) 3891-3911

EMBRAPA CAFÉ

Parque Estação Biológica - PqEB - Av. W3 Norte (Final)
Edifício Sede da Embrapa - sala 321
Brasília - DF
Cep: 70770-901
Tel: (61) 448-4378
Fax: (61) 448-4425