

## ***Xylella fastidiosa* DO CAFEIEIRO NO TRIÂNGULO MINEIRO E ALTO PARANAÍBA**

TAKATSU, A.<sup>1</sup>; SANTOS, M.R.<sup>1</sup> e MALUF, R.C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciências Agrárias, UFB, Campus Umuarama, Bloco 2E, 38405-320, Uberlândia-MG; <atakatsu@triang.com.br>

**RESUMO:** O presente trabalho teve como objetivos: desenvolver uma metodologia simples e rápida que possa ser usada para diagnose e avaliação da concentração de *X. fastidiosa* em tecidos de cafeeiro infectado; avaliar a disseminação desta fitobactéria nas regiões do Triângulo Mineiro e do Alto Paranaíba; avaliar o desenvolvimento dos sintomas em cafeeiros novos; e avaliar o efeito das podas na recuperação dos cafeeiros afetados. A metodologia de diagnose ao microscópio, com a objetiva de menor aumento, utilizando solução de lactoglicerina para clarificar o extrato do xilema, adaptada, permitiu a avaliação da concentração bacteriana das amostras e o diagnóstico da doença na fase de manifestação dos sintomas característicos da doença. Foi encontrada alta correlação entre a concentração da bactéria nos extratos do xilema e o sintoma de encurtamento de internódios dos ramos. No trabalho de levantamento, *X. fastidiosa* foi encontrada amplamente disseminada em todas as áreas de produção de café do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, o que indica que a doença não é nova na região. Os primeiros sintomas em cafeeiros novos foram observados a partir de 4 a 5 anos, mas a queda na produtividade foi observada em torno de 8 anos em diante. Verificou-se ainda que a prática de poda recupera o vigor das plantas enfraquecidas pela *X. fastidiosa* e recupera a produtividade por alguns anos. Os ramos desenvolvidos após a poda não apresentam massas da bactéria no xilema nem encurtamento de internódios.

**Palavras-chave:** *Coffea arabica*, amarelinho.

## ***Xylella fastidiosa* IN COFFEE PLANTATIONS OF TRIANGULO MINEIRO AND ALTO PARANAÍBA**

**ABSTRACT:** The objectives of this work was to: a) develop a simple and fast method which could be used for diagnosis of *X. fastidiosa* of coffee plants and to evaluate its concentration in infected host tissues; b) to evaluate the dissemination of this bacteria in the regions of Triangulo Mineiro and Alto Paranaiba; c) to evaluate the development of symptoms in young coffee plants and d) to evaluate the effect of pruning on the recovery of infected plants. The method of examination of xylem extract clarified with

lactoglycerin solution under low magnification objective, adapted for this work, allowed the evaluation of bacterial concentration in the infected tissues and the diagnosis of the stage which starts the symptom development. It was found high correlation between bacterial concentration and the symptoms of short internodes in the branches. *X. fastidiosa* was largely disseminated in all coffee production areas of Triângulo Mineiro and Alto Paranaíba. This data shows that it is not a new disease but found for a long time in these regions. The development of first symptoms in new coffee plantation was observed after 4 to 5 years but the productivity was affected after 8 years. It was shown that the pruning revigorate the weakened plants by *X. fastidiosa* and recovers the productivity as the new shoots develops without symptoms for some years.

**Key words:** Coffee, *Coffea arabica*, control.

## INTRODUÇÃO

Ao se iniciar o trabalho, sabia-se apenas que a ocorrência de *Xylella fastidiosa* em cafeeiro havia sido relatada em Guaxué-MG e que a doença causada por esta bactéria, denominada amarelinho, poderia estar sendo disseminada para outras regiões produtoras de café do Estado de Minas Gerais. Esta doença era vista como uma grande ameaça à cafeicultura do Estado, em razão dos grandes prejuízos causados na citricultura.

O presente trabalho teve como objetivos: estabelecer uma metodologia de diagnose simples e rápida que tenha correlação com o quadro sintomatológico; fazer o levantamento da distribuição desta fitobactéria nas regiões do Triângulo Mineiro e do Alto Paranaíba; avaliar a evolução dos sintomas em função da idade das culturas; e avaliar o efeito das podas na recuperação dos cafeeiros afetados.

## MATERIAL E MÉTODOS

**a) Diagnose ao microscópio.** Seções de ramos de aproximadamente 1 cm de comprimento foram retiradas da porção imediatamente anterior à parte terminal verde ou da parte de internódios curtos e, após a remoção da casca (cortex), foram espremidas com alicate, coletando-se o líquido com pipeta capilar e depositando-o sobre uma lâmina com uma gota de lactoglicerina. O extrato foi imediatamente misturado à lactoglicerina e examinado ao microscópio, com a objetiva de menor aumento, sem ser coberto com lamínula. Quando havia dúvidas, foi examinado também com objetivas de maior aumento - de até 40X -

para se certificar da estrutura fibrilar da massa visualizada. A presença de cirros bacterianos de consistência fibrilar (massa compacta em forma cilíndrica ou amorfa constituída de grande número de bactérias bastonetiformes finas e longas) foi considerada como resultado positivo para a presença de *X. fastidiosa*. Para avaliação da concentração de *X. fastidiosa* no extrato foram atribuídas pontuações constituídas de somatórias das notas dadas em função do tamanho das massas bacterianas (1: massas pequenas; 2 e 3: intermediárias; e 4: grandes) multiplicadas pelo número das respectivas massas visualizadas no campo da objetiva de menor aumento.

**b) Correlação da concentração bacteriana e quadro sintomatológico.** Foram examinados 125 ramos de cafeeiros coletados aleatoriamente de cinco culturas, três de cultivares do grupo Catuaí e duas de Mundo Novo, com idades de 8 a 15 anos. Foram considerados para a correlação a concentração de *X. fastidiosa* no extrato, o escurecimento do xilema, o encurtamento de internódios, amarelecimento de folhas, o crestamento das folhas e a desfolha.

**c) Levantamento.** As coletas de amostras foram feitas em diferentes propriedades de fácil acesso, selecionadas ao acaso ao longo das principais rodovias, abrangendo os municípios de Araguari, Indianópolis, Monte Carmelo, Iraí de Minas, Patrocínio, Patos de Minas, Presidente Olegário, Carmo de Paranaíba, Rio Paranaíba e São Gotardo. Foram amostradas entre 4 e 5 propriedades de cada um destes municípios e, de cada propriedade, 15 a 20 plantas, escolhidas aleatoriamente. De cada planta amostrada foi coletado um ramo, de maneira dirigida para o que tinha sintoma de encurtamento de internódios. A diagnose foi feita pelo método de exame do extrato do xilema ao microscópio sem a quantificação da concentração bacteriana, devido ao volume de amostras, e confirmado pelo teste de PCR utilizando-se os primers específicos e segundo o protocolo de Minsavage et al. (1994).

**d) Idade das culturas na manifestação de sintomas.** Foram coletadas amostras de diferentes localidades e propriedades, de diferentes idades a saber: cinco culturas com idade acima de 10 anos; cinco culturas com idade entre 5 e 10 anos; e cinco culturas com idade entre 2 e 5 anos. De cada cultura foram amostradas 10 plantas ao acaso e, de cada planta, dois ramos correspondentes aos dois lados opostos da planta. A coleta de ramos foi dirigida, procurando-se sempre que possível por aqueles com sintomas de encurtamento de internódios. O exame do material foi feito considerando-se os sintomas de encurtamento de internódios, escurecimento do xilema e concentração de *X. fastidiosa* no extrato do xilema. Foram examinadas 100 amostras de cada faixa de idade, totalizando 300 amostras.

**e) Efeito das podas na recuperação dos cafeeiros infectados por *X. fastidiosa*.** Foram feitas avaliações nas modalidades recepa e esqueletamento. As coletas de amostras foram feitas em plantações com 1, 2 e 3 anos após a última poda, de cada modalidade, em cultivares do grupo Catuaí, escolhendo-se

20 plantas aleatoriamente de diferentes áreas representativas de cada plantação. De cada planta foram coletadas duas amostras, uma de ramo desenvolvido após a poda e outra da parte não podada para comparação, totalizando 240 amostras examinadas. A amostragem das plantas foi aleatória, mas a de ramos foi dirigida, procurando-se aqueles com sintomas de encurtamento de internódios.

Os exames foram feitos considerando-se os sintomas de encurtamento de internódios, escurecimento do xilema e concentração de *X. fastidiosa* no extrato do xilema.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**a) Diagnose ao microscópio.** O método de lactoglicerina para clarear o extrato do xilema permitiu a visualização e a quantificação da concentração de *X. fastidiosa* em amostras coletadas para exame em laboratório e mostrou ser muito mais eficiente e rápido do que o de coloração com azul-de-metileno descrito por LIMA et al. (1997).

Os patamares mais altos registrados na quantificação da concentração de *X. fastidiosa* nos extratos do xilema se situaram em torno de 50 pontos, podendo atingir, em alguns casos isolados, pontuações muito mais elevadas. Entretanto, as pontuações mais freqüentes se situaram na faixa de 0 a 30 pontos. No presente trabalho consideraram-se as concentrações de até 5 pontos como baixas; de 5 a 20, medianas; e acima de 20, elevadas.

Verificou-se que a concentração de *X. fastidiosa* no extrato do xilema varia muito entre os ramos coletados da mesma planta e mesmo entre as diferentes partes do mesmo ramo. No entanto, a concentração elevada da bactéria foi encontrada, na grande maioria dos casos, nas partes mais novas e nas proximidades da parte do ramo com entrenós curtos. Nas partes mais velhas ou próximas à inserção do caule, a concentração da bactéria foi baixa ou não visualizada ao microscópio.

Esta metodologia permite o diagnóstico da doença na fase em que começa a causar os sintomas característicos da doença, como encurtamento dos internódios, escurecimento dos tecidos do xilema e redução na produção e, conseqüentemente, acompanhamento e comparação da evolução da doença em diferentes tratamentos experimentais. Os métodos de ELISA ou de PCR são necessário para detectar as plantas nas fases iniciais de infecção, mas não permitem a distinção entre o estágio da doença em que causa danos na planta, o que geralmente ocorre somente depois de 6 a 8 anos, e os estádios anteriores, em que não há nenhum sintoma ou dano.

**b) Correlação da concentração bacteriana e quadro sintomatológico.** O sintoma que apresentou correlação bastante elevada com a concentração de *X. fastidiosa* no xilema foi o encurtamento

de internódios, apesar de se ter constatado, em alguns casos, entrenós curtos com baixa concentração ou mesmo sem a visualização da bactéria.

Quanto ao escurecimento do xilema, verificou-se que os ramos com alta concentração da bactéria na parte mais nova e com encurtamento de internódios tinham sempre escurecimento acentuado do xilema na parte mais velha, próxima à inserção ao caule; entretanto, verificou-se que a recíproca nem sempre é verdadeira.

A desfolha, apesar de todos os materiais com alta concentração de *X. fastidiosa* apresentarem este sintoma, pode ser causada também pela alta incidência de ferrugem, de cercosporiose, de nematóides e outros fatores fisiológicos.

O amarelecimento e crestamento das folhas, apesar de estarem na descrição dos primeiros relatos da doença (Paradela Filho et al., 1995; Lima et al., 1996), não foram freqüentes a ponto de poder caracterizar a doença.

Muitas síndromes de amarelecimento geral, desfolha intensa, de seca dos ramos e até de morte súbita têm sido atribuídas à *X. fastidiosa* simplesmente devido aos resultados positivos em testes de ELISA e de PCR. Quase todos os materiais examinados com estes sintomas não tinham ou apresentaram baixa concentração da bactéria, como também os ramos não tinham entrenós curtos, não podendo ser, portanto, atribuídos a esta bactéria.

**c) Levantamento da distribuição de *X. fastidiosa* do cafeeiro no Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba.** Mais de 800 amostras foram examinadas, abrangendo 50 propriedades e 10 municípios, desde Araguari até São Gotardo, e mais de 70% destas amostras coletadas de plantas com mais de 10 anos apresentaram resultados positivos em exame ao microscópio.

Esta alta incidência em plantas amostradas aleatoriamente indica que a doença está amplamente distribuída nestas regiões, da mesma forma que Lima et al. (1996) e Carvalho et al. (2000) encontraram, respectivamente, nos Estados de São Paulo e do Paraná. Estes resultados levam a concluir que a infecção de cafeeiros por *X. fastidiosa* na região não é um fato novo, mas, pelo contrário, deve ocorrer há muito tempo sem causar danos visíveis a curto prazo. Diante desse fato, é até possível aventar a hipótese de que a doença tenha evoluído primeiro em cafeeiro e passado mais tarde para citros, uma vez que a clorose variegada dos citros, ou o amarelinho, é uma doença relativamente recente nos laranjais (Rosseti et al., 1990).

Os resultados mostraram também que ela não causa em cafeeiros danos tão marcantes como em citros, mas é uma doença que afeta o sistema vascular e o seu efeito é marcadamente de estresse hídrico,

sendo mais significativo nas regiões onde o período de estiagem é prolongado, como na maioria das áreas de produção de café dos cerrados.

Os efeitos dessa infecção foram mais acentuados, como era de se esperar em doenças do sistema vascular, nas culturas não-irrigadas do que em irrigadas e em plantas mal nutridas do que em culturas bem adubadas. Foi constatado também maior efeito da doença nos cafezais do Triângulo Mineiro, onde ocorre período seco mais longo, do que nos de Alto Paranaíba.

As informações obtidas dos produtores indicam que a produtividade das plantas afetadas pode ser recuperada através de adubação e irrigação adequadas por vários anos após a manifestação dos sintomas, porém chega-se a um estágio em que essas medidas não surtem mais os efeitos esperados.

A grande confusão sobre a *X. fastidiosa* em cafeeiro tem sido criada em função das técnicas de diagnose utilizadas, como as de PCR e de ELISA. Através destas técnicas, muitos materiais analisados apresentam resultados positivos, inclusive de plantas afetadas por nematóides, por outras doenças, debilitadas por algum problema fisiológico e até mesmo de plantas sem nenhum sintoma ou problema de produtividade.

**e) Idade das culturas na manifestação de sintomas.** A presença de massa bacteriana nos extratos do xilema em concentrações baixas pode ser visualizada a partir de 3,5 anos, e as primeiras manifestações de sintomas de encurtamento de internódios constatadas foram em um cultivar do grupo Catuaí com 4,5 anos. Infecções precoces como esta devem estar relacionadas com a infecção precoce e/ou alto potencial de infecção nas fases jovens das culturas.

Foi verificado que a manifestação de sintomas em culturas novas é muito variável dentro da plantação e entre as plantações e que os níveis de infecção e a evolução da doença ficam mais uniformes a partir de 8 a 10 anos de idade, com mais de 80% das amostras com resultados positivos, com concentrações elevadas da bactéria nos tecidos. Nesta fase, os agricultores começam a perceber a redução na produção.

A análise do padrão espacial da distribuição e evolução da doença deverá ser feita, portanto, em culturas novas, antes dos 10 anos de idade.

**f) Efeito das podas na recuperação de cafeeiros infectados por *X. fastidiosa*.** Verificou-se que, independentemente dos métodos de poda utilizados, as brotações advindas após esta prática foram vigorosas e não apresentavam sintomas de encurtamento de internódios nem escurecimento dos tecidos lenhosos, como também não foram detectadas massas da bactéria nos extratos do xilema.

Os ramos coletados da parte inferior ou da parte não podada apresentaram sintomas de encurtamento de internódios, escurecimento do xilema e presença de massas de *X. fastidiosa* nos extratos do xilema e pequena carga de grãos.

Na modalidade de poda por recepa, o reaparecimento de massas de bactérias foi constatado em várias amostras de 3 anos. Quanto à poda por esqueletamento, o reaparecimento de massas bacterianas foi verificado em amostras de 2 anos. Para uma avaliação mais consistente, especialmente quanto à evolução de sintomas após a poda, é necessário analisar maior número de amostras por um período mais longo e em diferentes cultivares.

Exames feitos em diferentes partes da planta não-podada indicaram que a maior concentração de *X. fastidiosa* se encontra na parte de internódios curtos, na parte imediatamente anterior à parte verde. Na parte basal, próximo à haste ou tronco, apesar de apresentar escurecimento do xilema mais acentuado, foi encontrada baixa concentração ou não foi visualizada a massa bacteriana ao microscópio. Com a poda, a planta pode emitir brotações novas a partir da região em que a bactéria não está presente ou está com baixa concentração. Como a evolução da *X. fastidiosa* é bastante lenta, a planta pode manter o vigor e boa produtividade por mais alguns anos. Esses aspectos diferem radicalmente das características da clorose variegada dos citros, descritas por Garcia Jr. et al. (1995).

Esses dados indicam que entre os inúmeros fatores associados à perda de vigor de cafeeiros, contornados com a prática da poda, está a *X. fastidiosa* como a principal causa. Vários aspectos reforçam essa hipótese, sendo os mais contundentes: 1) as podas são feitas geralmente a partir de 8 anos, quando os sintomas de *X. fastidiosa* começam a interferir na produtividade; 2) os intervalos entre uma poda e outra (que variam muito em função das modalidades de poda aplicadas) coincidem na maioria dos casos com o retorno dos sintomas; 3) *X. fastidiosa* diminui os tamanhos dos grãos, que se recuperam com a poda; e 4) as renovações de cafezais não-podados são feitas entre 12 e 15 anos para as variedades do grupo Catuaí, quando os sintomas estão muito acentuados e já não respondem adequadamente às adubações.

As afirmações de que a *X. fastidiosa* do cafeeiro é uma doença sem importância ou de plantas estressadas não se sustentam diante das evidências obtidas, especialmente para as culturas com altos investimentos para manter uma produtividade elevada, em áreas onde predomina longo período de estiagem.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, F.M.S.; MENEGUIM, L. & LEITE, R.P. Levantamento da distribuição de *Xylella fastidiosa* associada a *Coffea* spp, em regiões cafeeiras do Paraná. Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 1: 287-290, Brasília, EMBRAPA-Café e MINASPLAN. 2000.

GARCIA Jr., A.; MAGGIONE, C.S.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; POMPEU Jr., J.; DE NEGRI, J.D.; QUAGGIO, J.A.; BERETTA, M.J.G.; GRAVENA, S. & RODAS, V.Z. Como conviver com a CVC em São Paulo. **LARANJA** 16 (2): 145-154. 1995.

LIMA, J.E.O.; MIRANDA, V.S.; COUTINHO, A.; ROBERTO, S.R. & CARLOS, E.F. Distribuição de *Xylella fastidiosa* no cafeeiro, nas regiões cafeeiras, e seu isolamento *in vitro*. **Fitopatol. Bras.**, 21 (3): 392-393. 1996.

MINSAVAGE, V.G.; THOMPSON, C.M.; HOPKINS, D.L.; LEITE, R.M.V.B.C. & STALL, R.E. Development of a polymerase chain reaction protocol for detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue. **Phytopathology**, 84 (5): 456-461, 1994.

PARADELA FILHO, O.; SUGIMORI, M.H.; RIBEIRO, I.J.A.; MACHADO, M.A.; LARANJEIRA, F.F.; GARCIA Jr., A.; BERETTA, M.J.G.; HARAKAWA, R.; RODRIGUES NETO, J. & BERIAM, L.O.S. Primeira constatação em cafeeiro no Brasil da *Xylella fastidiosa* causadora da clorose variegada dos citros. **LARANJA** 16 (2): 135-136. 1995.

LIMA, J.E.O.; MIRANDA, V.S.; COUTINHO, A.; ROBERTO, S.R. & CARLOS, E.F. Distribuição de *Xylella fastidiosa* do cafeeiro, nas regiões cafeeiras, e seu isolamento *in vitro*. **Fitopatol. bras.**, 21 (3): 392-393. 1996.

LIMA, J.E.O.; MIRANDA, V.S.; ROBERTO, S.R.; COUTINHO, A.; PALMA, R.R.; PIZOLITTO, A.C. & DE-LIMA, J.E.O. Diagnose da clorose variegada dos citros por microscopia ótica. **Fitopatologia Brasileira**, 22 (3): 370-374. 1997.