

ASSOCIAÇÃO DE *Xylella fastidiosa* COM ESPÉCIES E HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE CAFEIEIRO¹

Marcos Akio YORINORI, IAPAR, Londrina, PR; e-mail: yorinori@sercomtel.com.br;
Alessandra Ferreira RIBAS, IAPAR, Londrina, PR; Rui Pereira LEITE JR., IAPAR,
Londrina, PR; Caio Katsumi FUNADA, IAPAR, Londrina, PR

RESUMO: A bactéria *Xylella fastidiosa* possui uma ampla gama de plantas hospedeiras que inclui espécies de pelo menos 28 famílias de mono e dicotiledôneas. No café, a ocorrência dessa bactéria foi relatada em cultivares da espécie *Coffea arabica*. Estudos foram realizados para determinar a presença de *X. fastidiosa* em diferentes espécies e híbridos interespecíficos de café (*Coffea* spp.). As espécies de *Coffea* examinadas foram: *C. kapakata*, *C. canephora*, *C. racemosa*, *C. arabica*, *C. dewevrei*, *C. stenophylla* e *C. eugenioides*. Os híbridos examinados foram: *C. arabica* x *C. dewevrei*, *C. arabica* x *C. eugenioides*, *C. arabica* x *C. racemosa* e *C. arabica* x *C. robusta*. Foram coletadas quatro amostras de ramos plagiotrópicos de plantas diferentes para cada espécie e híbrido, tendo sido utilizadas quatro repetições. A detecção de *X. fastidiosa* nas amostras foi realizada pelo teste serológico de DAS-ELISA. A bactéria foi detectada nas sete espécies e nos quatro híbridos examinados. Entretanto, as plantas examinadas aparentemente não apresentavam sintomas de alteração no seu desenvolvimento.

PALAVRAS-CHAVE: *Xylella fastidiosa*, *Coffea* spp., DAS-ELISA, hospedeiro

ABSTRACT: The bacterium *Xylella fastidiosa* has a large range of host plants, including species of 28 different mono and dicotyledonous plant families. On coffee, *X. fastidiosa* was previously reported only in *Coffea arabica*. Studies were carried out to determine the presence of *X. fastidiosa* in different species and interspecific hybrids of coffee (*Coffea* spp.). The species of *Coffea* included in this study were the following: *C. kapakata*, *C. canephora*, *C. racemosa*, *C. arabica*, *C. dewevrei*, *C. stenophylla* e *C. eugenioides*. The hybrids examined were the following: *C. arabica* x *C. dewevrei*, *C. arabica* x *C. eugenioides*, *C. arabica* x *C. racemosa* and *C. arabica* x *C. robusta*. For samples were collected from the plagiotropic branches of different plants for each species or hybrid. The detection of *X. fastidiosa* in the samples were determined by the serological test of DAS-ELISA. The bacterium was detected in all seven species and four hybrids of coffee studied. However, the plants did not show any symptom of disease.

INTRODUÇÃO

A bactéria *Xylella fastidiosa* (Wells *et al.*, 1987) é responsável por doenças de importância econômica em diversas plantas cultivadas, como ameixeira, alfafa, pessegueiro e citros (Hopkins, 1989). Esta bactéria foi relatada pela primeira vez em café da cultivar Mundo Novo (*Coffea arabica* L.) no Estado de São Paulo em 1995 (Paradela *et al.*, 1995). Cafeteiros infectados por *X. fastidiosa* apresentavam ramos com internódios curtos, folhas cloróticas, pequenas e deformadas, abscisão foliar e seca de ramos (Paradela *et al.*, 1995). Sintomas de queima de bordas de folhas também tem sido associados com a infecção de café (*C. arabica*) por *X. fastidiosa* (Lima *et al.*, 1996). Estudos tem mostrado a presença da bactéria associada com café em diferentes regiões produtoras do Brasil, nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Bahia (Paradela *et al.*, 1995; Lima *et al.*, 1996; Ueno & Leite, 1996). Entretanto, esses relatos tem se restringido à cultivares da espécie *C. arabica*. O presente estudo teve por objetivo avaliar germoplasma de café, incluindo diversas espécies de *Coffea* e de híbridos interespecíficos, em relação à presença de *X. fastidiosa*.

MATERIAL E MÉTODOS

As espécies e híbridos interespecíficos de café examinados neste estudo pertencem à Coleção de Espécies de Café da Estação Experimental do IAPAR, Londrina, PR. Foram examinadas sete espécies de café, *Coffea kapakata*, *Coffea canephora*, *Coffea racemosa*, *C. arabica*, *Coffea dewevrei*, *Coffea stenophylla* e *Coffea eugenioides*, e quatro híbridos, *C. arabica* x *C. dewevrei*, *C. arabica* x *C. eugenioides*, *C. arabica* x *C. racemosa* e *C. arabica* x *C. robusta*. Foram coletadas quatro amostras de ramos plagiotrópicos de plantas diferentes para cada espécie e híbrido, com quatro repetições.

¹CONSÓRCIO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DO CAFÉ

Para detecção de *X. fastidiosa* nas diferentes espécies e híbridos interespecíficos de cafeeiro foi utilizado o teste serológico de ELISA (“enzyme-linked immunosorbent assay”). O procedimento do teste de ELISA empregado foi o DAS-ELISA (“Double Antibody Sandwich”) (Clark *et al.*, 1986). Anticorpo policlonal utilizado no teste de DAS-ELISA foi preparado através de injeções intramusculares de suspensão de células totais de *X. fastidiosa* isolada de ameixeira (isolado IAPAR 9746) em coelho da raça Nova Zelândia (Leite *et al.*, 1997). O teste de DAS-ELISA foi realizado basicamente conforme descrito anteriormente (Leite *et al.*, 1997). As amostras foram consideradas positivas ou suspeitas para a presença de *X. fastidiosa* quando a média dos valores de absorvância a 410 nm foi pelo menos três vezes maior do que os valores médios obtidos para o controle tampão de extração (Clark & Adams, 1977).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizados dois experimentos para estudar a presença da bactéria *X. fastidiosa* em diferentes espécies e híbridos interespecíficos de cafeeiro. No experimento 1 todas as sete espécies e os quatro híbridos interespecíficos de cafeeiro apresentaram resultados positivos para presença da bactéria (Tabela 1). A espécie *C. arabica* foi a que apresentou os maiores valores no teste de DAS-ELISA, enquanto que para os híbridos, *C. arabica* x *C. eugenioides* e *C. arabica* x *C. robusta* foram os que apresentaram os maiores valores no teste serológico (Tabela 1). No experimento 2, as espécies *C. racemosa* e *C. stenophylla* e três híbridos não apresentaram resultado positivo para presença de *X. fastidiosa* (Tabela 1). As diferenças obtidas nos dois experimentos podem ser atribuídas à uma não distribuição uniforme da bactéria nos tecidos da planta, como reportado em trabalhos anteriores (Hopkins, 1989). Além disso, na amostragem de tecido vegetal para teste de DAS-ELISA é empregado somente 1,5 g de tecido possibilitando desta forma variações nos resultados de detecção da bactéria. Entretanto, os resultados indicam de modo geral que as diferentes espécies de *Coffea* e seus híbridos são hospedeiras de *X. fastidiosa*. Porém, cabe salientar que as plantas examinadas aparentemente não apresentavam sintomas de alteração no desenvolvimento em função de infecção por *X. fastidiosa*. A ocorrência de hospedeiros assintomáticos para *X. fastidiosa* tem sido largamente reportado na literatura (Hopkins, 1989). Além disso, a manifestação de sintomas de doenças causadas por *X. fastidiosa* normalmente pode demorar meses ou até anos. De qualquer forma, plantas infectadas, mesmo sem apresentar qualquer sintoma, são fontes potenciais da bactéria (Colleta Filho *et al.*, 1998). Os resultados obtidos no presente estudo vêm estender a gama de plantas hospedeiras de *X. fastidiosa*, incluído diferentes espécies de *Coffea* e híbridos interespecíficos de *C. arabica*.

CONCLUSÕES

As espécies *Coffea kapakata*, *C. canephora*, *C. racemosa*, *C. arabica*, *C. dewevrei*, *C. stenophylla* e *C. eugenioides*, e os híbridos *C. arabica* x *C. dewevrei*, *C. arabica* x *C. eugenioides*, *C. arabica* x *C. racemosa* e *C. arabica* x *C. robusta* são hospedeiros de *X. fastidiosa*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CLARK, M.F. & ADAMS, A.N. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34:475-483. 1977.
- CLARK, M.F.; LISTER, R.M.; BAR-JOSEPH, M. ELISA techniques. *Methods in Enzymology.* 118:742-766. 1986.
- COLLETA FILHO, H.D.; BORGES, K.M. & MACHADO, M.A. Detecção de *Xylella fastidiosa* em plantas matrizes de laranja doce assintomáticas para a CVC. **Fitopatologia Brasileira**, v.23, suplemento, p. 208. 1998.
- HOPKINS, D.L. *Xylella fastidiosa*: Xylem-limited bacterial pathogen of plants. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 27, p. 2711-290. 1989
- LEITE, R.M.V.B.C.; LEITE, Jr., R.P. & CERZINE, P.C. Flutuação populacional de *Xylella fastidiosa* em ameixeiras suscetíveis e resistentes à escaldadura da folha. *Fitopatologia bras.* 22:58-63. 1997.
- LIMA, J.E.O. de; 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. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.21, p. 392-393. 1996.
- PARADELA FILHO, O.; SUGIMORI, M.H.; RIBEIRO, I.J.A.; MACHADO, M.A.; LARANJEIRA, F.F.; GARCIA JR., A. & BERETA, M.J.G. Primeira constatação em cafeeiro no Brasil da *Xylella fastidiosa* causadora da clorose variegada dos citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v.16, p. 135-136. 1995.
- UENO, B. & LEITE, JR., R.P. Estudo da variabilidade de isolados de *Xylella fastidiosa* obtidos de cafeeiro e citros através da análise de proteínas totais. *Fitopatol. bras.* 21:341. 1996.

WELLS, J.M.; RAJU, B.C.; HUNG, H.Y.; WEISBURG, W.G.; MANDELCO-PAUL, L. & BRENNER, D.J. *Xylella fastidiosa* gen. nov. sp. nov.: Gram-negative, xylem-limited fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas* spp. Int. J. Syst. Bacteriol. 37:136-143. 1987.

Germoplasma de Café	EXPERIMENTO 1			EXPERIMENTO 2		
	Repetição		Média	Repetição		Média
	1	2		1	2	
Espécie						
<i>C. kapakata</i>	0,113 (+) ^a	0,108 (+)	0,111 ± 0,004 (+)	0,085 (+)	0,159 (+)	0,122 ± 0,052
<i>C. canephora</i>	0,115 (+)	0,047 (+)	0,081 ± 0,048 (+)	0,085 (+)	0,157 (+)	0,122 ± 0,042
<i>C. racemosa</i>	0,079 (+)	0,077 (+)	0,078 ± 0,001 (+)	0,062 (-)	0,085 (-)	0,074 ± 0,016
<i>C. arabica</i>	0,252 (+)	0,165 (+)	0,209 ± 0,061 (+)	0,129 (+)	0,275 (+)	0,202 ± 0,103
<i>C. dewevrei</i>	0,055 (+)	0,054 (+)	0,055 ± 0,001 (+)	0,140 (+)	0,071 (-)	0,106 ± 0,049
<i>C. stenophylla</i>	0,155 (+)	0,116 (+)	0,136 ± 0,028 (+)	0,077 (-)	0,082 (-)	0,080 ± 0,004
<i>C. eugenioides</i>	0,123 (+)	0,193 (+)	0,158 ± 0,049 (+)	0,140 (+)	0,058 (-)	0,099 ± 0,058
Híbrido interespecífico						
<i>C. arabica</i> x <i>C. dewevrei</i>	0,061 (+)	0,153 (+)	0,107 ± 0,065 (+)	0,071 (-)	0,040 (-)	0,056 ± 0,022
<i>C. arabica</i> x <i>C. eugenioides</i>	0,211 (+)	0,236 (+)	0,224 ± 0,018 (+)	0,064 (-)	0,205 (+)	0,135 ± 0,099
<i>C. arabica</i> x <i>C. racemosa</i>	0,045 (+)	0,035 (+)	0,040 ± 0,007 (+)	0,115 (+)	0,047 (-)	0,081 ± 0,048
<i>C. arabica</i> x <i>C. robusta</i>	0,477 (+)	0,262 (+)	0,370 ± 0,152 (+)	0,045 (-)	0,031 (-)	0,038 ± 0,010
Controle						
Isolado de <i>X. fastidiosa</i> 10 ⁶ ufc/ml			0,212 ± 0,008			0,270 ± 0,07
Isolado de <i>X. fastidiosa</i> 10 ⁵ ufc/ml			0,031 ± 0,019			0,082 ± 0,07
Tampão de extração			0,009 ± 0,006			0,033 ± 0,07

^a(+), reação positiva; (-), reação negativa. As amostras foram consideradas positivas quando a média dos valores de absorvância a 410 nm obtidos em leitora de ELISA foi pelo menos 3 vezes maior que o valor médio do tampão de extração.

TABELA 1. Reação aos testes de DAS-ELISA para *X. fastidiosa* de espécies e híbridos interespecíficos de cafeeiro, da Coleção de Germoplasma da Estação Experimental do IAPAR, Londrina, PR.

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