

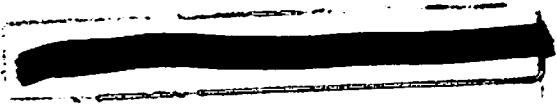


UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

**OCORRÊNCIA E PADRÃO ESPACIAL DA  
ATROFIA DOS RAMOS DO CAFEIEIRO  
(*Xylella fastidiosa*) NAS REGIÕES SUL E ZONA  
DA MATA DE MINAS GERAIS**

**JULIANA FRANCO BARBOSA**

2003



JULIANA FRANCO BARBOSA

**OCORRÊNCIA E PADRÃO ESPACIAL DA ATROFIA DOS RAMOS DO  
CAFEIEIRO (*Xylella fastidiosa*) NAS REGIÕES SUL E ZONA DA MATA  
DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Fitopatologia, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador  
Prof. Dr. Ricardo Magela de Souza

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2003

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Barbosa, Juliana Franco

Ocorrência e padrão espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro (*Xylella fastidiosa*) nas regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais / Juliana Franco  
Barbosa. -- Lavras : UFLA, 2003.

88 p. : il.

Orientador: Ricardo Magela de Souza.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. *Xylella fastidiosa*. 2. *Coffea arabica*. 3. Requeima do cafeeiro. 4  
epidemiologia. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.73932

JULIANA FRANCO BARBOSA

**OCORRÊNCIA E PADRÃO ESPACIAL DA ATROFIA DOS RAMOS DO  
CAFEIEIRO (*Xylella fastidiosa*) NAS REGIÕES SUL E ZONA DA MATA  
DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal  
de Lavras como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em  
Fitopatologia, para a obtenção do título de  
“Mestre”.

APROVADA em 28 de fevereiro de 2003

Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza

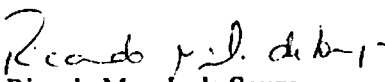
UFLA

Prof. Dr. Armando Takatsu

UFU

Prof. Dr. Mário Sobral de Abreu

UFLA

  
Prof. Dr. Ricardo Magela de Souza  
UFLA  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL

## **DEDICATÓRIA**

Pai, tu és exemplo de vida.  
Mãe, tua força e coragem contagiam.  
Assim fomos criados,  
seguindo a quem nos deu a vida em nome de Jesus.  
Assim temos nome e honra

Aos meus pais, Renato e Lais Helena.

Amigos, verdadeiros irmãos em Cristo.  
Aos meus irmãos, Renata e Narciso.

Coração de mãe  
Abundância de vida  
Divina  
À minha avó

Persistência e Perseverança  
Em Cristo receberá a tua benção  
À minha segunda mãe, Tia Leila.

Homem fiel, em Cristo  
Alegria  
Amor recíproco  
Ao meu “gatinho” Anderson

Ao mestre, com carinho.  
A minha “chefa” Alessandra Boari

## **DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas bênçãos maravilhosas em minha vida, minha luz e minha salvação.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Fitopatologia, pela minha formação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa de estudo.

Ao Consórcio Brasileiro de Pesquisas e Desenvolvimento do Café, pelo financiamento do projeto.

Ao Professor Ricardo Magela de Souza, pela orientação, paciência e confiança.

A Dr<sup>a</sup>. Alessandra de Jesus Boari, pela orientação, amizade e pelos conselhos valiosos.

Ao Professor Edson Ampélio Pozza, pelas sugestões que enriqueceram este trabalho e pela apresentação aos produtores da região da Zona da Mata.

Aos Professores do Departamento de Fitopatologia, pelos ensinamentos e, em especial, ao Professor Mário Sobral de Abreu, por participar da banca de dissertação.

A Professora Antonia dos Reis Figueira pela orientação no trabalho de iniciação científica.

Ao Professor Armando Takatsu, pela oportunidade de poder aprender com a sua experiência.

Ao Pesquisador Rui Pereira Leite Júnior, pelo treinamento realizado no IAPAR e as bolsistas, Luciana Meneguim, Flávia Carvalho e Fernanda Paião.

Ao Professor João Lopes, pelo treinamento realizado no Laboratório de Entomologia da ESALQ e a aluna de doutorado Rosângela Marucci.

Ao Pesquisador Vicente Carvalho da EPAMIG – Lavras, pela concessão da área experimental e sugestões.

A Professora Joelma Pereira do Departamento de Ciências dos Alimentos, pela amizade.

Ao CEPE Café e ao NECAF, professores e funcionários, pelo apoio na condução dos trabalhos.

Aos colegas de mestrado, Arnaldi, Fernando, Gilvane, Íris e Maurício, pelo companheirismo.

Aos colegas de labuta do Laboratório de Bacteriologia, Ana, Alessandra, Théo, Ana Beatriz, Leimi, Nilvanira, Patrícia e Dili.

Aos ex-bolsistas do "Projeto Café" Leonardo Cavalcante, Alessandra Nakasone Ishida, Mauro Júnior e Eduardo Miranda, pelo início dos trabalhos.

A Luciene Ribeiro de Oliveira, bolsista do Consórcio Brasileiro de Pesquisas e Desenvolvimento do Café, que tanto colaborou na condução dos experimentos.

A Maria de Lourdes, Leísa, Roseane, Eloísa, Sheila, Edson, Antônio Carlos, Carzinho, Denise, Nice, Marli, Sidney, Milton, funcionários e laboratoristas, do Departamento de Fitopatologia, que sempre nos auxiliaram.

Aos produtores que “abriram as porteiras” para as coletas de amostras no Sul de Minas Gerais e Zona da Mata, em especial, Alexandre Aad Neto e Afonso Mattos.

Aos amigos Silvia, Mayumi, Noda, Brígida, Regiane, Carla, José Geraldo, Paula, César, em nome de quem agradeço a todos os colegas de graduação pela amizade e pelo vazio que deixaram no meu coração – saudades...

Aos meus pais, irmãos, família Franco e Barbosa e amigos, que sempre me apoiaram e são exemplos a serem seguidos nas principais decisões da minha vida.

Ao Anderson, meu marido, pela sua formação e educação familiar, fruto de pessoas maravilhosas; aos meus sogros Joaquim Sávio e Zuleica Maria, minha admiração.

**MUITO OBRIGADA!**



## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	i
RESUMO.....	ii
ABSTRACT .....	iii
<b>CAPÍTULO 1</b> Ocorrência e padrão espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro ( <i>Xylella fastidiosa</i> ) nas regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais .....	1
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	2
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	5
2.1 Atrofia dos ramos do cafeeiro.....	5
2.2 O fitopatógeno <i>Xylella fastidiosa</i> .....	7
2.3 Transmissão de <i>X. fastidiosa</i> por insetos vetores.....	10
2.4 Métodos para detecção de <i>X. fastidiosa</i> .....	12
2.5 Estudo do padrão espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro.....	15
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18
<b>CAPÍTULO 2</b> Ocorrência de <i>Xylella fastidiosa</i> em cafeeiro nas regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais.....	27
1 RESUMO.....	28
2 ABSTRACT .....	29
3 INTRODUÇÃO .....	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
4.1 Coleta de amostras.....	32
4.1.2 Amostragem de folhas de cafeeiro em plantas com sintomas e sem sintomas da ARC, na região Sul de Minas Gerais.....	34
4.1.3 Amostragem de folhas de cafeeiro em plantas com sintomas e sem sintomas da ARC, na Zona da Mata de Minas Gerais.....	34
4.2 Extração do DNA genômico.....	34
4.3 Reação de amplificação do DNA – PCR .....	36
4.4 Corrida em gel de agarose .....	36
4.5 Obtenção e conservação dos isolados de <i>Xylella fastidiosa</i> de cafeeiros.....	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
5.1 Detecção de <i>Xylella fastidiosa</i> em amostras de folhas de cafeeiro provenientes de plantas com sintomas e sem sintomas da ARC, na região Sul de Minas Gerais.....	38
5.2 Detecção de <i>Xylella fastidiosa</i> em amostras de folhas de cafeeiro provenientes de plantas com sintomas e sem sintomas da ARC, na Zona da Mata de Minas Gerais.....	42
6 CONCLUSÕES .....	47
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
<b>CAPÍTULO 3</b> Análise do padrão espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro nas regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais.....	51
1 RESUMO.....	52
2 ABSTRACT .....	53

3 INTRODUÇÃO .....	54
4 MATERIAIS E MÉTODOS .....	56
4.1 Caracterização dos sintomas observados no campo.....	56
4.2 Coleta dos dados .....	56
4.3 Áreas avaliadas .....	58
4.4 Análise de "ordinary runs" .....	61
4.5 Índice de dispersão .....	62
4.6 Dinâmica e estrutura dos focos da atrofia dos ramos do cafeeiro.....	62
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
5.1 Sintomas observados no campo.....	63
5.2 Padrão espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro .....	63
5.2.1 Região Sul de Minas Gerais.....	63
5.2.2 Região da Zona da Mata de Minas Gerais .....	74
5.3 Dinâmica e estrutura dos focos da atrofia dos ramos do cafeeiro na região Sul de Minas Gerais e Zona da Mata.....	77
5.4 Dinâmica e estrutura dos focos da atrofia dos ramos do cafeeiro, ao longo do tempo, na região Sul de Minas Gerais .....	78
6 CONCLUSÕES .....	82
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	87

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

$\mu$	Média
$\sigma^2$	Variância
ada	Água destilada autoclavada
ARC	Atrofia dos ramos do cafeeiro
ava.	Avaliação
B01	Talhão amostrado no município de Araponga, MG
B02	Talhão amostrado no município de Araponga, MG
BCYE	Charcoal-yeast extract medium
CVC	Clorose variegada dos citros
DAS-ELISA	Double antibody sandwich –Enzyme linked immunosorbent assay
DIBA	Dot immuno-binding assay
E(U)	Número esperado de “run”
E01	Talhão amostrado no município de Lavras, MG
G01	Talhão amostrado no município de Lavras, MG
ICF	Índice de compactação de foco
IFF	Índice de forma de foco
IS01	Talhão amostrado no município de Varginha, MG
m	Número de plantas com sintomas
M01	Talhão amostrado no município de Lavras, MG
MA01	Talhão amostrado no município de Canaã, MG
MG	Minas Gerais
N	Número total de plantas
nc	Número de colunas
NF	Número de foco
nl	Número de linhas
NMPF	Número médio de plantas por foco
NPF	Número de plantas por foco
NPK	Nitrogênio fósforo potássio
P	Probabilidade
PCR	Polymerase chain reation
S(U)	Desvio padrão de U
SR01	Talhão amostrado no município de Elói Mendes, MG
SR02	Talhão amostrado no município de Elói Mendes, MG
U	“run”
UFLA	Universidade Federal de Lavras

## RESUMO

BARBOSA, Juliana Franco. Ocorrência e padrão espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro (*Xylella fastidiosa*) nas regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais. 2003. 88p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)- Universidade Federal de Lavras.

O presente trabalho teve como objetivos estudar: a ocorrência de *X. fastidiosa* em cafeeiro nas regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais; a obtenção de isolados destas áreas para preservação e estudos posteriores de virulência e patogenicidade; a avaliação do progresso da atrofia dos ramos do cafeeiro ao longo do tempo em Lavras, MG, bem como o arranjo espacial atual das plantas afetadas, visando caracterizar a dinâmica da doença. As amostras coletadas foram encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal de Lavras e analisadas pela técnica de PCR. A presença de *X. fastidiosa* foi detectada em amostras coletadas nos municípios de Lavras, Ijaci, Aguanil, Cristais, Três Pontas, Campos Gerais, Varginha, Nepomuceno, Alfenas, Viçosa, Teixeiras, Coimbra, Manhuaçu, Manhumirim, Canaã, Araponga e São Miguel do Anta, tanto em plantas com sintomas como em plantas aparentemente sadias. No município de Campo Belo, todas as amostras foram negativas quanto à presença de *X. fastidiosa*. Foram obtidos 22 isolados provenientes de Lavras e 1 isolado de Varginha. Para o estudo da dinâmica espacial, foram aplicadas as seguintes análises: seqüências ordinárias, índice VM e análise da dinâmica e estrutura de focos. Em todos os talhões avaliados, considerando-se a área como um todo, foi observada uma tendência ao agrupamento ou formação de reboleira. Nas avaliações individuais, alguns talhões apresentaram arranjo de plantas doentes, aleatório ou casualizado. A distribuição de plantas com distribuição aleatória foi evidente em lavouras mais novas, no início da epidemia. O número de focos diminuiu com o aumento da incidência da doença, assim como o índice de compactação dos focos. Os focos apresentaram tamanhos, em média, inferiores a três plantas até 18% de proporção de doença. Em contrapartida, o percentual de focos unitários diminuiu conforme o aumento na incidência.

---

\* Comitê Orientador: Ricardo Magela de Souza – UFLA (orientador), Edson Ampélio Pozza e Alessandra de Jesus Boari (co-orientadores) – UFLA.

## ABSTRACT

BARBOSA, Juliana Franco. **Occurrence and standard spatial pattern of atrophy in coffee branches (*Xylella fastidiosa*) in the Southern and Zona da Mata region of Minas Gerais.** 2003. 88p. Dissertation (Master Program in Phytopathology)-Federal University of Lavras.

The present work had objective to study the occurrence and obtainment of isolate *X. fastidiosa* in coffee plants in the Southern and Zona da Mata region of Minas Gerais. By visualizing the symptoms, the progress of the atrophy in coffee branches (ACB) was evaluated along with time in Lavras, MG, as well as; the current spatial pattern of the affected plants in Southern and Zona da Mata region of Minas Gerais, with an objective to characterize the dynamics of the disease in these areas. The collected samples were analyzed by PCR technique in the Laboratory of Bacteriology at the Universidade Federal de Lavras, MG, Brazil. The presence of *X. fastidiosa* was detected in the collected samples from Lavras, Ijaci, Aguanil, Cristais, Três Pontas, Campos Gerais, Varginha, Nepomuceno, Alfenas, Viçosa, Teixeiras, Coimbra, Manhuaçu, Manhumirim, Canaã, Araponga and São Miguel do Anta with symptoms of healthy plants. *X. fastidiosa* was not detected in the samples from Campo Belo. Twenty-two isolated samples were obtained from Lavras and Varginha. The spatial pattern was studied by using the following analysis: ordinary sequence, dispersion index, dynamic analysis and structure foci. After evaluating the large planting field, it was observed that the spatial pattern of ACB was aggregative. But individual evaluation in some fields showed aleatory pattern of the plant disease, which was evident in newer areas, at the beginning of the epidemic. The number of foci was reduced with the increase of the disease, as in compact index foci. The average foci sizes were inferior to three plants in proportion to 18% of disease. In compensation, the percentage of unitary foci decreases the growth in the incidence disease.

---

\* Guidance Committee: Ricardo Magela de Souza - UFLA (adviser), Edson Ampélio Pozza and Alessandra de Jesus Boari (co-advisers)- UFLA.

## **CAPÍTULO 1**

**Ocorrência e padrão espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro  
(*Xylella fastidiosa*) nas regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais.**

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

*Xylella fastidiosa* é o agente etiológico da atrofia dos ramos do cafeeiro (ARC). Desde 1995, quando pesquisadores do Instituto Agronômico de Campinas (IAC) e colaboradores descreveram a moléstia várias pesquisas foram iniciadas, dentre elas, o estudo da ocorrência e distribuição da doença no campo. O fato de ser o mesmo patógeno da clorose variegada dos citros (CVC) e da escaldadura das folhas da ameixeira enfatizou ainda mais a necessidade de pesquisas, tendo em vista o prejuízo causado a estas culturas.

No Brasil, a bactéria encontra-se disseminada nas principais regiões produtoras de café dos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Paraná e Bahia, tanto na espécie *Coffea arabica* como em *C. canephora*. Híbridos interespecíficos também apresentam a infecção pela bactéria.

No Paraná, 80% das áreas amostradas foram positivas quanto à presença da bactéria, tanto em plantas com sintomas da doença como em plantas aparentemente saudáveis. Em todos os estados amostrados, foi observada maior concentração da bactéria em plantas com idade superior a 10 anos. Entretanto, mudas com 3-4 pares de folhas foram positivas quanto à presença da bactéria, indicando que a bactéria pode ir para o campo através de mudas infectadas.

Os sintomas visuais da doença caracterizam-se: depauperamento generalizado da planta, folhas cloróticas, pequenas e deformadas e ramos com internódios curtos. Os primeiros relatos da doença caracterizam a queima de bordos das folhas como associados à ocorrência de *X. fastidiosa*, daí o nome "Requeima do cafeeiro". No entanto, tem sido observado maior relação entre a presença de internódios curtos nos ramos e a presença de *X. fastidiosa* em cafeeiro.

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, uma concentração mais elevada da bactéria foi encontrada, em maior proporção, nas partes mais novas e nas proximidades da parte do ramo com entrenós curtos (Takatsu et al., 2001).

As espécies de cigarrinhas transmissoras da bactéria para o cafeeiro alimentam-se preferencialmente de brotações novas (Ferreira, 2000). *Dilobopterus costalimai*, *Oncometopia facialis* e *Acrogonia terminalis* são descritas como os principais vetores de *Xylella fastidiosa* para o citros e também são freqüentemente encontradas em lavouras cafeeiras. Estes insetos têm como hábito alimentar a sucção da seiva do xilema, transmitindo a bactéria, estocada no aparelho bucal. Todavia, a eficiência de transmissão de *X. fastidiosa* por estas cigarrinhas em citros tem sido considerada baixa, variando de 1% a 17%, dependendo do inseto (Lopes et al., 2000). Do mesmo modo, foi observada baixa eficiência de transmissão de *X. fastidiosa* para cafeeiro pela espécie *Dilobopterus costalimai* (Marucci et al., 2001).

O comportamento desta bactéria no cafeeiro não foi caracterizado detalhadamente, tanto em relação à sua distribuição no campo, bem como à sua relação com outras estirpes de *X. fastidiosa*. Toda pesquisa até o momento girou em torno das causas relacionadas com a cultura dos citros.

Os relatos de grandes perdas em citros, não eqüivalem aos danos causados em cafeeiro, neste caso, inferiores. O fato de a bactéria colonizar plantas de cafeeiro e não expressar sintomas mostra que este organismo pode estar em associação com o cafeeiro há muito tempo e até a suposição de se tratar de um organismo endofítico.

No Brasil, apesar das epidemias catastróficas em citros, poucos estudos foram realizados em relação à epidemiologia da doença para a cultura do café. Na literatura não há referência sobre o padrão de distribuição da doença no



campo, isto é, se em reboleira (focos), regular ou casualizado. Para a CVC, Laranjeira et al. (1998) encontraram focos bem definidos da doença. Métodos de análise das características espaciais das epidemias foram desenvolvidos há poucos anos (Campbel & Madden, 1990) e atenção especial foi dada a epidemias cujas avaliações são baseadas na incidência, como aquelas causadas por vírus, fitoplasma, bactérias e fungos sistêmicos (Madden & Hughes, 1995). Embora existam várias técnicas para avaliação do padrão espacial de doenças, citam-se a análise de "ordinary runs" (Madden et al., 1982), a autocorrelação espacial (Gottwald et al., 1992) e a análise dinâmica e estrutura de focos baseada na observação dos mapas da epidemia (Nelson, 1996). Este último foi testado para duas epidemias de CVC (Nelson, 1996; Laranjeira et al., 1998). Nelson (1996) encontrou que o número de focos tendeu a aumentar até a incidência atingir 22% e, a partir daí, houve coalescência dos focos, enquanto Laranjeira et al. (1998) encontraram um valor de 30% para a mesma variável. Segundo os autores, os focos têm padrões isodiamétricos.

Deste modo, os objetivos deste trabalho foram verificar a ocorrência da atrofia dos ramos do cafeeiro, cujo agente etiológico é a bactéria *X. fastidiosa*, nas regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais, obter isolados da bactéria provenientes dessas regiões e determinar o padrão espacial das plantas doentes no campo.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Atrofia dos ramos do cafeeiro

A atrofia dos ramos do cafeeiro (ARC), também denominada requeima do cafeeiro ou amarelinho (Lima et al., 1996), foi relatada pela primeira vez na cultivar Mundo Novo (*Coffea arabica*), em 1995, por Paradela Filho et al., nas regiões de Macaúbal e São José do Rio Preto, no estado de São Paulo.

O agente etiológico da doença, é mesma bactéria da clorose variegada dos citros (CVC) ou amarelinho, *Xylella fastidiosa*. A bactéria é transmitida para o cafeeiro pelas cigarrinhas sugadoras do xilema *Dilobopterus costalimai*, *Oncometopia facialis* e *Acrogonia terminalis*, que são também vetores da CVC, (Roberto et al., 1996). Para a espécie *D. costalimai* já foi comprovada experimentalmente a transmissão de um isolado de cafeeiro para mudas de café, após um período de incubação de seis meses, porém, com uma baixa taxa de eficiência, de aproximadamente 6% (Marucci et al., 2001).

Estudos recentes constataram a presença da bactéria em algumas das principais regiões produtoras do país, como Sul de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Bahia (Ishida et al., 2001; Carvalho et al., 2000; Lima et al., 1996; Paradela Filho et al., 1995) e variedades de café *Coffea arabica*, como Mundo Novo e Catuaí bem como *C. canephora* (Santos, 1998). No entanto, ocorre diferença na porcentagem de plantas infectadas, sendo que na região Sul de Minas Gerais menos de 50% das áreas amostradas apresentaram a ocorrência da ARC (Ishida et al., 2001).

Os sintomas mais característicos relacionados com a concentração bacteriana nos tecidos vasculares do cafeeiro são o encurtamento dos entrenós, folhas pequenas, verde claras ou amareladas, com característica semelhante à

deficiência de Zn, redução no crescimento da planta e, às vezes, requeima dos bordos e ápice das folhas mais velhas (Coopercitrus, 1997).

Com o avanço das pesquisas foi observada alta correlação entre a concentração de *X. fastidiosa* no xilema e o encurtamento de internódios, apesar de se ter constatado, em alguns casos, entrenós curtos com baixa concentração ou mesmo sem a presença da bactéria. Os sintomas de amarelecimento e crestamento das folhas, observados por Lima et al. (1998) seis meses após a inoculação de mudas de café, não são freqüentes a ponto de caracterizar a doença (Takatsu et al., 2001).

Os sintomas característicos da relação hospedeiro-patógeno foram obtidos por Queiroz-Voltan, et al. (1998). Internamente, ocorre deposição de “goma” nos vasos do xilema, assim como divisões anormais no mesófilo, xilema, floema e córtex do pecíolo e do caule. Externamente, a planta revela encurtamento dos entrenós, produzindo frutos menores e agrupados e área foliar reduzida. Com o agravamento da doença ocorre a senescência foliar precoce na base dos ramos, resultando em um pequeno número de folhas no ápice.

Em cafeeiro, a bactéria tem sido encontrada no xilema de diferentes partes, como raízes, caule, ramos plagiotrópicos e ortotrópicos e folhas (Ribas et al., 1998). A presença da bactéria também foi observada em frutos e sementes de cafeeiro, entretanto, a transmissão via sementes não tem sido constatada. Contudo, mudas nos estágios de 3 a 4 pares de folhas, produzidas em condições não protegidas contra o ataque de insetos apresentaram a ocorrência da bactéria (Yorinori et al., 2000).

Segundo Nunes et al. (2001), hospedeiros assintomáticos de *X. fastidiosa*, podem ser fonte de inóculo para a alimentação de cigarrinhas e posterior transmissão para o cafeeiro. Neste trabalho, isolados de *X. fastidiosa* do cafeeiro foram inoculados em espécies invasoras de lavouras cafeeiras e analisadas pelo teste sorológico, DAS-ELISA. Foi possível identificar *X.*

*fastidiosa* nas espécies *Arachis pintoi* (amendoim-rasteiro), *Catharanthus roseus* (vinca), *Brachiaria decumbens* (capim-braquiária), *Nicotiana tabacum* – TNN (fumo), *N. turkishin*, *N. clevelandii*.

## 2.2 O fitopatógeno *Xylella fastidiosa*

*Xylella fastidiosa* foi primeiramente isolada de videira (Davis et al., 1978). Neste relato, o agente etiológico da doença de Pierce foi considerado um organismo do tipo Rickettsia, sendo mais tarde caracterizada como uma bactéria limitada ao xilema (XLB) (Hopkins, 1989)

Em 1987, Wells et al. caracterizaram a bactéria como tendo a forma de bastonete, com 0,25 a 0,35  $\mu\text{m}$  de diâmetro por 0,9 a 3,5  $\mu\text{m}$  de comprimento (forma alongada) e parede celular enrugada. É estritamente aeróbia, apresentando crescimento ótimo entre 26°C e 28°C, em pH entre 6,5 e 6,9, além de conteúdo G + C (guanina + citosina) de 51 a 53 mol%. Essas características sistemáticas levaram à exclusão da bactéria do grupo das Rickettsia e a sua inclusão no grupo das *Xanthomonas* spp., como espécie única. Entretanto, trabalhos recentes têm indicado variabilidade genética entre os isolados de *X. fastidiosa* suficiente para justificar uma separação no nível infra-subespecífico (Wells et al., 1987; Hopkins, 1989; Chen et al., 1992).

*Xylella fastidiosa* é o agente etiológico de várias doenças de importância econômica no mundo, entre elas o mal de “Pierce” em videira (Hopkins & Mollenhauer, 1973; Davis et al., 1978), a alfafa anã (Goheen et al., 1973), a escaldadura das folhas da ameixeira (Raju et al., 1982) e a “phony peach disease” em pêssego (Wells et al., 1983). No Brasil, a bactéria é responsável pela escaldadura das folhas da ameixeira (Kitajima et al., 1981), clorose variegada dos citros (CVC) (Rossetti & De Negri, 1990) e atrofia dos ramos do cafeeiro (Paradela Filho et al., 1996; Beretta et al., 1996; Lima et al., 1996).

A bactéria pode estar presente em plantas assintomáticas no campo, incluindo 28 famílias de mono e dicotiledôneas (Hopkins, 1988). Quando patogênica, pode bloquear o movimento de água e a translocação de seiva no interior do xilema (Gravena et al., 1997), porém, apresenta-se distribuída de forma irregular nesses vasos (Hill & Purcell, 1995).

De acordo com Alves et al. (2001), o fumo (*Nicotiana tabacum*) pode ser utilizado como hospedeiro alternativo para *X. fastidiosa*, pois sintomas foram observados, 30 dias após a inoculação em plantas podadas a 15 cm do substrato. Os autores descreveram a variedade Havana como a melhor indicadora para expressar sintomas característicos e com maior vigor. Entretanto, neste mesmo trabalho, foi observada a reversão dos sintomas após adubação das plantas com NPK mais sulfato de amônio.

Em relação à concentração do inóculo, verificou-se que doses acima de  $10^6$  UFC/mL são apropriadas para testes de patogenicidade de *X. fastidiosa*. A espécie *Nicotiana tabacum* expressou os sintomas mais rapidamente do que *N. clevelandii* (Lopes et al., 2002). O fumo também foi estudado como fonte de transmissão pela cigarrinha *Ferrariana trivittata* para plantas suscetíveis (Lopes & Souza, 2001). *X. fastidiosa* também pode ter outros hospedeiros naturais, como, *Catharanthus roseus*, *Hibiscus shizopetalus* e *Quercus leavis* (Teixeira et al., 2001; Kitajima et al., 2000; Baranard et al., 1998).

Mehta et al. (2000) utilizando as técnicas de RAPD e SDS-PAGE de proteínas, caracterizaram cinco grupos principais de hospedeiros de *X. fastidiosa*: videira, pereira, citros-cafeeiro e dois grupos de ameixeira. Os isolados de citros e cafeeiro foram altamente relacionados com 60% de similaridade. Em estudo realizado por Costa et al. (2000) com isolados de *X. fastidiosa* de diferentes culturas, entre elas, videira, citros, cafeeiro e ameixeira, os autores também verificaram maior similaridade entre os isolados de citros e cafeeiro.

Utilizando a técnica de RAPD, rep-PCR e PCR-RFLP foi possível distinguir os isolados pela diversidade genética entre de quatro grupos. Com base nas linhagens estudadas, as estirpes de citros e café formam um grupo natural, assim como as estirpes de videira, amêndoa e “ragweed”, e as de elmo e ameixeira. Além disso, os autores verificaram diferença entre os isolados de citros de alguns de cafeeiros após restrição do produto amplificado pelos oligonucleotídeos 272-1int e 272-2int com a enzima *CfoI* (Quin et al., 2001).

Estudo envolvendo trinta linhagens de *X. fastidiosa* isoladas de plantas de citros, cafeeiro, videira, ameixeira, amoreira, elmo e vinca pela amplificação de seqüências repetitivas presentes no genoma bacteriano, permitiu distinguir os seguintes grupos de amostras bacterianas: isolados obtidos de videira e amoreira, ameixeiras e elmo, cafeeiro e três grupos formados por amostras isoladas de plantas de citros. O sequenciamento dos “ITS” dos genes codificadores de 16-23S rRNAs distinguiu três grupos entre os isolados provenientes de videira e amoreira, citros e cafeeiro, elmo, vinca e ameixeira (Ciapina, 2001).

Carvalho et al. (2001) estudaram a caracterização genética de isolados de *X. fastidiosa* de cafeeiro de três regiões do estado do Paraná por eletroforese em campo pulsado. Verificaram a não existência de correlação entre perfil genético e origem geográfica dos isolados. No entanto, grande variabilidade genética foi verificada entre os isolados de videira, ameixeira e citros, sugerindo que haja especificidade entre a bactéria e a planta hospedeira.

De acordo com Lopes (2001), as linhagens de *X. fastidiosa* de citros e de café são distintas, apresentando diferentes mecanismos de patogenicidade em fumo e, possivelmente, em citros e café. Entretanto, Lima et al. (1998) comparando linhagens de *X. fastidiosa* dos citros e do cafeeiro, utilizando os “primers” 272-2 e CVC-1, observaram que os produtos de amplificação via PCR foram indiferentes para os isolados de cafeeiro e citros, apesar dos “primers”

serem específicos para *X. fastidiosa* dos citros, havendo a mesma amplificação nos dois grupos.

As estirpes de *X. fastidiosa* do cafeeiro apresentam certo nível de variabilidade genética entre elas nesta cultura, não é clonal (Leite et al., 2001). Esses resultados de diversidade genética, bem como a ocorrência da bactéria endemicamente, em todas as regiões cafeeiras do Brasil, sugerem que *X. fastidiosa* já se encontra presente em associação com o cafeeiro há muito tempo (Takatsu et al., 2001) antes mesmo da CVC do citros (Picchi, 2002). A detecção de fluxo gênico entre os grupos de *X. fastidiosa* de citros do Sul do Brasil e de café pode estar relacionada com a proximidade geográfica das duas culturas.

Historicamente apesar da CVC ter sido diagnosticada primeiramente (Rossetti et al., 1990), as áreas onde hoje se encontram os pomares de citros, foram no passado, ocupadas por cafeeiros. As poucas plantas de café que hoje se encontram nestas áreas estão altamente afetadas sendo que os vetores para CVC são frequentemente encontrados alimentando-se em plantas de café (Paradela Filho et al., 1997).

### **2.3 Transmissão de *X. fastidiosa* por insetos vetores**

*X. fastidiosa* é transmitida para os citros por meio de cigarrinhas sugadoras de seiva do xilema. Ao se alimentarem em plantas doentes, esses insetos adquirem a bactéria e infectam posteriormente outras plantas. Em cafeeiro, observações preliminares indicaram o mesmo sistema de transmissão da bactéria (Paradela Filho et al., 1999).

Os primeiros levantamentos de cigarrinhas em cafeeiro (Tabela 1), relatam a ocorrência das espécies *Dilobopterus costalimai*, *Oncometopia facialis* e *Acrogonia terminalis*, principais vetores da Clorose Variegada dos Citros (CVC) (Giustolin et al., 1998; Marucci et al., 2001; Santa-Cecília et al., 2000).

TABELA 1 Espécies de cigarrinhas encontradas em lavouras cafeeiras no Sul de Minas Gerais e São Paulo

Espécie	Local*
<i>Macugonalia</i> spp. <i>Ferriana triviata</i> (Signoret) <i>Diedrociphala continua</i> (Sakakibara e Cavichioli, 1982)	Varginha, MG
<i>Dilobopterus costalimai</i> (Young) <i>Bucephalogonia xanthophis</i> (Berg) <i>Parathona gratiosa</i> (Blanchard, 1840) <i>Oncometopia facialis</i> (Signoret) <i>Macugonalia leucomelas</i> (Walker) <i>Erythrogonia</i> spp.	Lavras, MG
<i>Acrogonia</i> sp. <i>Deltacephalineae</i> sp. <i>Dilobopterus costalimai</i> (Young) <i>Oncometopia facialis</i> (Signoret) <i>Bahita</i> sp.	Bebedouro, SP

\*Fonte: San Juan et al.(1999); Ferreira et al. (2000) e Giustolin et al.(1998), adaptados de Carvalho & Mendes (2001).

Estes mesmos autores também verificaram a presença de outro vetor, *Bucephalogonia xanthophis*, porém, em pequeno número no cafezal, apesar de sua importância na citricultura. Estas espécies pertencem à subordem Homoptera, famílias Cicadellidae e Cercopidae (Purcell & Hopkins, 1996). A transmissão de *X. fastidiosa* para cafeeiro por *D. costalimai* já foi relatada experimentalmente, entretanto, com baixa eficiência de transmissão ( $\cong 6\%$ ) (Marucci et al., 2001). Cigarrinhas não identificadas da família Cicadidae, coletadas em várias regiões cafeeiras do Paraná e que também se alimentam do xilema, foram positivas quanto à presença de *X. fastidiosa*, quando avaliadas por



nested PCR. *Dorisiana virides* (Homoptera) e uma Cicadidae não identificada, transmitiram *X. fastidiosa* para mudas de cafeeiro após um período de incubação de seis meses (Paião et al., 2002). Neste mesmo trabalho, as espécies *Dorisiana drewseni*, *D. virides*, *Carineta matura* e *Carineta* sp. (Homoptera) foram positivas quanto à presença de *X. fastidiosa*.

Em análise da flutuação populacional de *D. costalimai*, *O. facialis* e *A. terminalis*, foi observada uma tendência de crescimento da população destes insetos na primavera, com pico nos meses de verão e decréscimo no outono e inverno. Segundo Santa-Cecília et al. (2000), o aumento da população de cigarrinhas vetores de *X. fastidiosa* foi evidentes no período chuvoso. Foram avaliadas ainda lavouras cultivadas no limpo e outras com a presença de plantas daninhas, tendo ocorrido pouca variação entre o número de cigarrinhas em cada área avaliada. No entanto, sabe-se que plantas invasoras ou matas podem ser fontes de refúgio e/ou alimentação para estes insetos.

Ferreira et al. (2000) observaram a ocorrência de picos populacionais de quatro espécies de cigarrinhas em cafeeiro de setembro a março, meses com temperaturas médias entre 20° a 23°C, umidade relativa média entre 55% a 80% e períodos de alta precipitação para a região de Lavras, MG, condições favoráveis ao surgimento de brotações novas nos cafeeiros.

#### 2.4 Métodos para detecção de *X. fastidiosa*

Os métodos para diagnose em plantas são ferramentas importantes na identificação do patógeno e para estudos das relações planta-vetor e patógeno-planta. Vários testes vêm sendo utilizados para a detecção de *X. fastidiosa* em plantas e em vetores. Como o isolamento da bactéria é um processo laborioso, envolvendo muito tempo para obtenção de massa bacteriana, cerca de 21 dias, contaminações freqüentes e demora na expressão dos sintomas nos testes de patogenicidade, outras técnicas como microscopia ótica e eletrônica, sorologia e

biologia molecular, com a utilização de “primers” específicos para a bactéria, estão sendo usadas.

Mizubuti et al. (1994) detectaram a ocorrência de uma bactéria do tipo *X. fastidiosa* em citros na Zona da Mata de Minas Gerais, por meio de microscopia eletrônica. Lima et al. (1997) desenvolveram metodologia rápida para diagnose da CVC, por meio da observação do extrato do xilema em microscópio ótico. Para confirmação de *X. fastidiosa* como o agente etiológico da CVC, Beretta et al. (1991) utilizaram o teste DIBA com anti-soro obtido contra a bactéria do mal de “Pierce” da videira e da “periwinkle wilt” da ameixeira. Rodrigues Neto et al. (1992) caracterizaram a bactéria utilizando eletroforese para proteínas totais. Também foram utilizadas imunofluorescência (Rodrigues Neto et al., 1993) e western blot (Harakawa et al., 1994) para detecção de *X. fastidiosa* em material com CVC.

Almeida (2001), utilizando a metodologia de isolamento bacteriano descrita por Hill & Purcell (1995), constatou sua eficiência no isolamento e quantificação de *X. fastidiosa* para plantas de citros em meio de cultura. O tipo de meio de cultura é importante, pois a bactéria só pode ser cultivada em meios especiais, tais como BCYE (Uchibaba et al., 1992), PW (Davis et al., 1981, Hartung et al., 1994) e PWH (Davis et al., 1983).

A técnica de reação da polimerase em cadeia (PCR) (Mullis, 1990) consiste numa amplificação enzimática realizada por um par de oligonucleotídeos utilizados como iniciadores (“primers”), que, em poucas horas, sintetizam milhões de cópias de uma seqüência nucleotídica específica. O processo cíclico envolvido é constituído de três etapas: a) desnaturação da fita dupla de DNA; b) anelamento dos iniciadores à seqüência complementar de cada fita simples do DNA desnaturado; c) extensão dos iniciadores pela DNA polimerase ao longo de ambas as fitas em oposição, com a conseqüente

duplicação da quantidade da seqüência do DNA (Batista, 1993; De Boer et al., 1996).

O protocolo desenvolvido por Minsavage et al. (1994) para detectar de *X. fastidiosa* em tecido de plantas pela PCR foi utilizado na detecção da CVC (Lemos, et al. 1997) e da bactéria no cafeeiro (Lima et al., 1998). Este protocolo permite detectar *X. fastidiosa* em tecidos hospedeiros pelo uso de “primers” específicos para esta bactéria. Teoricamente, este método permite detecção de 10 a 100 bactérias por reação de amplificação. Minsavage et al. (1994) conseguiram detectar, por meio deste método, a presença da bactéria em extratos de tecidos de videira naturalmente infectados, assim como em amostras de tecidos inoculados artificialmente.

Recentemente, a técnica de Nested-PCR foi utilizada para diagnose de *X. fastidiosa* em cafeeiro em duas regiões do Paraná. Inicialmente foi amplificado um fragmento de DNA de 733pb, com o uso dos “primers” RST31 e RST33, sendo o produto deste PCR utilizado como molde para a segunda amplificação, utilizando os “primers” RST31 e RST33 internos à seqüência amplificada no primeiro PCR. O fragmento gerado possui aproximadamente 500pb. As regiões Norte e Norte Pioneiro do Paraná apresentaram 48,4% e 53,84%, respectivamente, de amostras com resultados positivos para a presença de *X. fastidiosa* (Casagrande et al., 2002).

Paradela Filho et al. (1996) detectaram a presença de *X. fastidiosa* em plantas de café no estado de São Paulo, através de testes serológicos, DIBA, ELISA, western blote e PCR, inclusive em regiões onde a CVC ainda não foi identificada.

*Arachis pintoi*, *Catharanthus roseus*, *Brachiaria decumbens*, *Nicotiana tabacum* – TNN, *N. turkishin* e *N. clevelandii* foram caracterizados como hospedeiros assintomáticos de *X. fastidiosa* do cafeeiro quando analisados por DAS-ELISA (Nunes et al., 2001).

Li et al. (2001), avaliando a técnica de PCR na detecção de *X. fastidiosa*, verificaram a sua inibição quando a quantidade da bactéria foi maior que 20.000 unidades por reação. A análise do DNA parece ser o método mais adequado para tipificação e para detecção específica, porque as diferenças que ocorrem com as proteínas e com alguns antígenos, como os lipopolissacarídeos, não ocorrem com o DNA de uma bactéria em função do estado ou do crescimento bacteriano. Por isso, os resultados são mais reprodutíveis e se pode selecionar genes que caracterizam cada espécie fitopatogênica (Lopez & Cambra, 1996).

Pinto & Leite (1999) otimizaram a técnica de PCR para detecção específica de *X. fastidiosa* em cafeeiro, a partir de maceração do tecido em tampão fosfato contendo 0,1 M de ácido ascórbico e PVPP insolúvel e diluição do extrato em 1:100, possibilitando a detecção específica de *X. fastidiosa* em amostras contendo menos de  $10^2$  UFC/mL.

Todas estas técnicas podem facilitar a diagnose em tecidos de plantas com sintomas ou aparentemente sadias, especialmente em pesquisa científica.

## **2.5 Estudo do padrão espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro**

O estudo da epidemiologia da atrofia dos ramos do cafeeiro encontra-se incipiente e pouco se conhece sobre este assunto. O primeiro estudo mais detalhado sobre a dinâmica espacial e temporal de *X. fastidiosa* no campo foi realizado por Laranjeira (1997), para CVC, no qual verificou-se taxas de progresso da doença são variáveis ao longo do tempo. As épocas de maior progresso corresponderam aos períodos de maior crescimento vegetativo das plantas e as de menor progresso corresponderam às épocas de ocorrência de déficit hídrico e menor desenvolvimento das plantas. Antes deste trabalho, Palazzo & Carvalho (1992) e Gottwald et al. (1992) avaliaram o progresso da CVC no tempo e a incidência anual de plantas doentes, respectivamente.

Laranjeira (1997) e Palazzo & Carvalho (1992) apontaram como épocas de maior progresso da CVC a primavera e o verão. Com essas informações os autores sugeriram que os sintomas observados seriam fruto de infecções anteriores. Desta forma, primavera e verão além de serem as épocas de maior expressão dos sintomas, também corresponderiam aos períodos de maior probabilidade de infecção. Estes resultados corroboram os de Pereira (2000), que verificou maior número de infecções bem sucedidas quando as inoculações eram realizadas na primavera e verão, ao contrário das inoculações realizadas no outono e inverno. Nunes (1999) encontrou resultados semelhantes aos de Gottwald et al. (1993), porém suas avaliações foram bimestrais. Esses autores não reportaram períodos de maior progresso em determinadas épocas do ano.

Para o estudo do padrão espacial da CVC, Laranjeira (1997) realizou as seguintes análises: seqüências ordinárias, vizinhos mais próximos, áreas isópatas, lei de Taylor modificada, índice de dispersão e análise da dinâmica e estrutura de focos.

A análise do padrão espacial da doença pode fornecer informação vital sobre a dispersão dos patógenos e também pode ser a chave sobre seus mecanismos de sobrevivência (Davis & Brown, 1996). Tais informações podem ser extraídas, sejam de caráter puramente acadêmico, sejam com grande carga de praticidade (Laranjeira, 1997).

Segundo Laranjeira (1997), a análise de seqüências ordinárias permite constatar agrupamentos dentro de linhas de plantio ou em sentido perpendicular a elas. Assim, é possível relacionar (indiretamente) o padrão espacial encontrado a práticas de manejo adotadas nos locais estudados.

Um foco de doença é um local de concentração de plantas doentes ou lesões discretas, sendo considerada uma fonte primária de infecção ou coincidindo com uma área originalmente favorável ao estabelecimento da doença e tendendo a influenciar o “padrão posterior da doença” (Nelson, 1996).

Similarmente, um “grupo” de doença pode ser definido como o número de plantas doentes agrupadas. Desse modo, os dois termos são sinônimos quando usados em relação a epidemia de planta doente. De qualquer modo, uma distinção importante é feita entre estes dois termos: a) foco da doença, que pode constituir de uma planta doente ou b) considerando um grupo doente contendo mais do que uma planta doente.

A disposição espacial da doença dentro de um campo tem conseqüências sobre a taxa de desenvolvimento e extensão da distribuição espacial da epidemia posterior, e, conseqüentemente, sobre o impacto da doença na produção (Ferrandino, 1996). O ponto inicial da maioria destas análises de estrutura espacial é a verificação de alguma medida do desvio do comportamento espacial aleatório (Ferrandino, 1998). Caracterizar o padrão espacial de uma doença é verificar se há uma distribuição aleatória ou agregada. Assim, se tivermos um conjunto ++---+-+---++++, em que + represente uma planta doente e - uma sadia, pode-se dizer que esse conjunto possui 9 seqüências ordinárias (Campbell & Madden, 1990). Pode-se considerar, para análise, que uma linha seja a continuação da anterior (Campbell & Madden, 1990) e, deste modo, calcular o número de seqüências ordinárias.

Em pomares de laranja avaliados pelo número de seqüências ordinárias foi demonstrada a pequena proporção de linhas de plantio com agregação significativa de plantas com sintomas da CVC.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, R.P.P. et al. Multiplication and movement of a citrus strain of *X. fastidiosa* within sweet orange. **Plant Disease**, v.85, n.4, p.382-386, 2001.
- ALVES, E.; PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Variedades de *Nicotiana tabacum* como hospedeiros experimentais alternativos para estudos de interações planta - *X. fastidiosa*. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, p.271, 2001. (Suplemento).
- BARNARD, E.L. et al. Distribution of *Xylella fastidiosa* in Oaks in Florida and its association with growth Decline in *Quercus laevis*. **Plant Disease**, v.82, p.569-572, 1998.
- BATISTA, M.F. Métodos moleculares para identificação de patógenos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.1, p.165-96, 1993.
- BERETTA, M.J.G. et al. Serological detection of *Xylella fastidiosa* associated with citrus variegated chlorosis disease in Brazil. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.17, p.10, 1991.
- BERETTA, M.J.G. et al. First report of *Xylella fastidiosa* in coffee. **Plant Disease**, v.80, p.821, 1996.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: J. Wiley, 1990. 532p.
- CARVALHO, F.M.S.; MENEGUIM, L. ; LEITE Jr., R.P. Levantamento da ocorrência de *Xylella fastidiosa* associada a *Coffea* spp. em regiões cafeeiras do Paraná. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1, 2000. Poços de Caldas, MG. Resumos ... Poços de Caldas, MG, Embrapa Café, 2000.v.1, p.287-290.
- CARVALHO, F.M.S. et al. Caracterização genética de isolados de *Xylella fastidiosa* de cafeeiro do estado do Paraná através de eletroforese em campo pulsado. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória-ES, Resumos... Vitória, ES: Embrapa Café, 2001. p.1063-1071.
- CARVALHO, G.; MENDES, S.M. Aspectos relacionados a transmissão da bactéria *Xylella fastidiosa* no cafeeiro. Lavras: UFLA, 2001. 55p. (Texto acadêmico).

CASAGRANDE, E.C. et al. Levantamento de *Xylella fastidiosa* em *Coffea* spp. em regiões produtoras de café do estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p.57, 2002. (Suplemento).

CHEN, J. et al. Genetic variation among *Xylella fastidiosa* strains. **Phytopathology**, v.82, p.973-977, 1992.

CIAPINA, L.P. Sequências Repetitivas e sequenciamento do espaço intergênico dos genes 16S-23S rDNA acessando a diversidade genética em *Xylella fastidiosa*. 2001. 113f. Dissertação (Doutorado). Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, SP.

COSTA, P.I. et al.. Strains of *Xylella fastidiosa* rapidly distinguished by Arbitrarily Primed-PCR. **Current Microbiology**, v.40, p.279-282, 2000.

DAVIS, M.J.; FRENCH, W.J; SCHAAD, N.W. axenic culture of the bacteria associated with phony disease of peach and plum leaf scald. **Current Microbiology**, v. 6, p. 309-14, 1981.

DAVIS, M.J.; PURCELL, A.H.; THOMPSON, S.V. Pierce's disease of grapevine: isolation of the causal bacterium. **Science**, v.199, p.75-77, 1978.

DAVIS, M.J. et al. Periwinkle wilt bacterium: axenic culture, pathogenicity, and relationships to other gram-negative, xylem-inhabiting bacteria. **Phytopathology**, v.73, p. 1510-15, 1983.

DAVIS, R.I.; BROWN, J.F. Epidemiology and management of kava dieback caused by cucumber mosaic cucumovirus. **Plant Disease**, v.80, p.917-921, 1996.

DE BOER, S.H.; CUPPELS, D.A. ; GATAITIS, R.D. Detecting latent bacterial infections. In: DE BOER, S.H. et al. **Pathogen indexing technologies**. London: Academic, 1996. p. 27-57.

FERRANDINO, F.J. Past nonrandomness and aggregation to spacial correlation: 2DCORR, a new approach for discrete data. **Phytopathology**, v.88, p.84-91, 1998.



- FERRANDINO, F.J. Two-dimensional distance class analysis of disease-incidence data: problems and possible solutions. *Phytopathology*, v.86, p.685-691, 1996.
- FERREIRA, A.C.; MORAES, J.C.; SOUZA, B. Levantamento de espécies de cigarrinhas (Cicadellidae), possíveis transmissoras do amarelinho ou requeima do cafeeiro, em Lavras – MG. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFLA, 8, 2000, Lavras-MG. *Resumos...* Lavras, MG: Editora UFLA, 2000. p.233.
- GIUSTOLIN, T.A. et al. Espécies de cigarrinhas de xilema (Hemiptera-Cicadellidae) e sua flutuação populacional em cafezal na região de Bebedouro. In: BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 24., 1998, Poços de Caldas, MG. *Resumos....* Poços de Caldas, MG, Reproarte, 1998. p.211.
- GOHEEN, A.C.; NYLAND, G.; LOWE, K. ASSOCIATION OF A RICKETTSIA-LIKE ORGANISM WITH Pierce's disease of grapevines and alfalfa dwarf and heat therapy of the disease in grapevines. *Phytopathology*, v. 63, p. 341-345, 1973.
- GOTTWALD, T.R., RICHIE S.M. ; CAMPBELL, C.L. LCOR-2 Spacial correlation analysis for the personl computer. *Plant Disease*, v.76, p.213-215, 1992.
- GRAVENA, S. et al. Manejo de cigarrinhas e CVC no pomar. In: DONADIO, L.C.; MOREIRA, C.S. (Ed.). *Clorose variegada dos citros*. Bebedouro: FUNDECITRUS, 1997. Cap.6, p.93-112.
- HARAKAVA, R. et al. Detection of *Xylella fastidiosa*, causal agent of citrus variegated chlorosis, by western blotting. *Summa Phytopathologica*, Jaboticabal, v.20, p.53, 1994.
- HARTUNG, J.S. et al. Citrus variegated chorosis bacterium: Axenic culture, pathogenicity, and e serological relationships with other strains of *X. fastidiosa*. *Phytopathology*, v.84, n.6, p.591-597, 1994.
- HILL, B.L. ; PURCELL, A.H. Multiplication and movement of *Xylella fastidiosa* within grapevine and four other plants. *Phytopathology*, v.85, p.1368-1372, 1995.
- HOPKINS, D. *Xylella fastidiosa*: Xylem limited bacterial pathogen of plant. *Annual Review of Phytopathology*, v.27.p.271-290, 1989.

HOPKINS, D.L. ; MOLLENHAUER, H.H. Rickettsia-like bacterium associated with Pierce's disease of grapes. *Science*, v.179, p.298-300, 1973.

HOPKINS, D.L. Production of diagnostic symptoms of blight in citrus inoculated with *Xylella fastidiosa*. *Plant Disease*, v.72, p.432-435, 1988.

INFORMATIVO AGROPECUÁRIO COOPERCITRUS. Bactéria da CVC causa danos em cafezais. *Bebedouro*, v.12, n.133, p.18-19, 1997.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M. ; CAVALCANTI, L.S. Levantamento da ocorrência de *Xylella fastidiosa* em cafeeiros na região Sul de Minas Gerais. *Summa Phytopathologica*, Jaboticabal, v.27,n.1, p.117, 2001.

KITAJIMA, E.W. et al. Ocorrência da escaldadura das folhas da ameixeira nos estados do Paraná e Santa Catarina, Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, v.6, p.285-92, 1981.

KITAJIMA, E.W. et al. Escaldadura das folhas em *Hibiscus schizopetalus* associada à infecção por *Xylella fastidiosa* em Brasília, DF. *Fitopatologia Brasileira*, v.25, p.323, 2000. (Suplemento).


LACAVA, P.T. **Isolamento, caracterização genética por RAPD e resistência a antibióticos em *Xylella fastidiosa***. 2000. 108p. Dissertação(Mestrado)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.

LARANJEIRA, F.F. **Dinâmica temporal e espacial da clorose variegada dos citros**. Piracicaba, 1997. 142p.Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.

LARANJEIRA, F.F.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Dinâmica e estrutura de focos da clorose variegada dos citros (CVC). *Fitopatologia Brasileira*, v.23, p.36-41, 1998.

LEITE Jr. R.P. et al. Genetic diversity of *Xylella fastidiosa* associated with citrus variegated chlorosis in Brazil. In: DE BOER, S.H. (Ed.). *Plant pathogenic bacteria*. (Ed.). Dordrecht: The Netherlands, 2001. p.135-137.

LEMONS, E.G.M. et al. Extração rápida de DNA de *Xylella fastidiosa* visando a otimização da reação da PCR para diagnóstico da CVC. *Fitopatologia Brasileira*, v.22, p. 235, 1997. (Suplemento).



LI, W.B. et al. Coffee Leaf Scorch caused by a strain of *Xylella fastidiosa* from citrus. **Plant Disease**, v.85, n.5, p.501-505, 2001.

LIMA, J.E.O. et al. Distribuição de *Xylella fastidiosa* no cafeeiro nas regiões cafeeiras, e seu isolamento in vitro. **Fitopatologia Brasileira**, v.21, p.392-393, 1996.

LIMA, J.E.O. et al. Coffee leaf scorch bacterium: axenic culture, pathogenicity, and comparison with *Xylella fastidiosa* of citrus. **Plant Disease**, v.82, n.1, p. 94-97, 1998.

LIMA, J.E.O. et al. Diagnose da clorose variegada dos citros por microscopia óptica. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, n.3, p.370-374, 1997.

LOPES, J.R.S. et al. Vector and epidemiological aspects of citrus variegated chlorosis. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 21., Foz do Iguaçu, PR, **Resumos... Foz do Iguaçu: 2000.** v.2, p.810.

LOPES, S.A. Reação diferencial de variedades de fumo à *X. fastidiosa* de citros e café. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, p.305, 2001. (Suplemento).

LOPES, S.A.; SOUZA, V. Colonização de plantas de fumo pela *X. fastidiosa* dos citros e transmissão do patógeno por cigarrinhas (*Ferrariana trivittata*). **Fitopatologia Brasileira**, v.26, p.305, 2001. (Suplemento).

LOPES, S.A. et al. Otimização de testes de patogenicidade de *Xylella fastidiosa* em plantas de tabaco. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p.62, 2002. (Suplemento).

LÓPEZ, M.M. ; CAMBRA, M. Diagnóstico y detección de bacterias fitopatogénicas. In: LLÁCER, G. et al. **Patología vegetal**. Madri: Sociedade Española de Fitopatologia, 1996. p. 587-625.

MADDEN, L.V.; HUGHES, G. Plant disease incidence: distributions, heterogeneity and temporal analysis. **Annual Review of Phytopathology**, v.33, p.529-564, 1995.

MADDEN, L.V. et al. Evaluation of tests of randomness of infected plants. **Phytopathology**, v.72, p.195-198, 1982.

MARUCCI, R.C. et al. Transmissão de *Xylella fastidiosa* para café pela cigarrinha *Dilobopterus costalimai*. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 2, 2001, Vitória-ES. Resumos... Vitória-ES: Embrapa Café, 2001. p.83.

METHA, A.; LEITE Jr., R.P.; ROSATO, Y.B. Polymorphism of *Xylella fastidiosa* strains by RAPD-PCR and SDS-PAGE of proteins. *Fitopatologia Brasileira*, v.25, n.4, p.651-656, 2000.

MINSAVAGE, G.V. et al. Development of a polymerase chain reaction protocol for detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue. *Phytopathology*, v.84, n.5, p.456-461, 1994.

MIZUBUTI, E.S.G.; MATSUOKA, K.; PARIZZI, P. Associação de bactéria do tipo *Xylella fastidiosa* em laranjeira com sintomas de clorose variegada na região da Zona da Mata de Minas Gerais. *Fitopatologia Brasileira*, v.19, p.241-244, 1994.

NELSON, S.C. A simple analysis of disease foci. *Phytopathology*, v.86, p.332-339, 1996.

NUNES, D.H et al. Estudos de hospedeiros alternativos de *Xylella fastidiosa* associada a *Coffea* spp.. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 2, 2001, Vitória-ES, Resumos... Vitória, ES: Embrapa Café, 2001. p.1158-1164.

NUNES, W.M.C. Epidemiologia da clorose variegada dos citros (CVC) avaliada por sintomas e diagnóstico serológico e molecular de *Xylella fastidiosa*. 1999. 144p. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas)-Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

PAIÃO, F.G. et al. Envolvimento de cigarrinhas (Homoptera, Cicadidae) na transmissão de *Xylella fastidiosa* em cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, v.27, p.67, 2002. (Suplemento).

PALAZZO, D.A., CARVALHO, M.L.V. Desenvolvimento e progresso da clorose variegada dos citros (CVC) em pomares de Colina, SP. *Laranja*, v.13, n.2, p.489-502, 1992.

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.

- PARADELA FILHO, O. et al. Identificação serológica da *Xylella fastidiosa*, causadora da Clorose Variegada dos Citros (CVC), em cafeeiro. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.22, n.1, p.67, 1996.
- PARADELA FILHO, O. et al. Constatação de *Xylella fastidiosa* em cafeeiro no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.23, n.1, p.46-49, 1997.
- PARADELA FILHO, O. et al. **Atrofia dos ramos do cafeeiro, causada por *Xylella fastidiosa***. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 1999. 10p. Boletim Técnico, 182).
- PEREIRA, E.F. Estudo de fatores sazonais relacionados à transmissão de *Xylella fastidiosa* em pomares de citros. 2000. 82p. Dissertação (Mestrado em Entomologia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- PICCHI, S.C. **Caracterização e análise da diversidade genética na região controladora de imigração de DNA (ICR) de isolados de *Xylella fastidiosa* utilizando RFLP**. 2002. 52f. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.
- PINTO, F.G.S ; LEITE Jr., R.P. Detecção de *Xylella fastidiosa* em *Coffea* spp. através da técnica de PCR. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, p.254, 1999. (Suplemento).
- PURCELL, A.H.; HOPKINS, D.L. Fastidious xylem-limited bacterial plant pathogen. **Annual Review of Phytopathology**, v.34, p.131-151, 1996.
- QUEIROZ-VOLTAN, R.B. et al. Aspectos estruturais de cafeeiro infectado com *Xylella fastidiosa*. **Bragantia**, v.57, n.1, p.23-33, 1998.
- QUIN, X. et al. An evolution of the genetic diversity of *Xylella fastidiosa* isolated from citrus and coffee in São Paulo, Brazil. **Phytopathology**, v.91, n.6, p.599-605, 2001.
- RAJU, B.C. et al. Plum Leaf Scald: Isolation, Culture, and Pathogenicity of the Casual Agent. **Phytopathology**, v.72, n.11, p.1460-1466, 1982.
- RIBAS, A.F.; UENO, B.; LEITE JUNIOR, R.P. Estudos sobre a presença de *Xylella fastidiosa* em cafeeiro não depauperado e depauperado. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.64, 1998.

- ROBERTO, S.R. et al. Transmissão de *Xylella fastidiosa* pelas cigarrinhas *Dilobopterus costalimai*, *Acrongonia terminalis* e *Oncometopia facialis* em citros. *Fitopatologia Brasileira*, v.21, n.4, p.517-518, 1996.
- RODRIGUES NETO, J. et al. Detecção por imunofluorescência de *Xylella fastidiosa* associada a CVC. *Summa Phytopathologica*, Jaboticabal, v.19, p.48, 1993.
- RODRIGUES NETO, J.; BERMAN, L.O.; KOMORI, N. Caracterização de isolados de *Xylella fastidiosa* de citros por eletroforese em gel de poliacrilamida. *Summa Phytopathologica*, Jaboticabal, v.18, p.46, 1992.
- ROSSETTI, V.; DE NEGRI, J.D. Clorose Variegada dos Citros – revisão. *Laranja*, Cordétopolis, v. 11, n.1, p.1-14, 1990.
- SAN JUAN, R.C.C. et al. Efeito de inseticidas sobre cigarrinhas de xilema, prováveis vetores do "amarelinho" do café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 15, 1999, Franca-SP, Resumos... Franca-SP: 1999, p.220-222.
- SANTA-CECILIA, L.V.C. et al. Levantamento e flutuação populacional de vetores de *Xylella fastidiosa* em cafeeiros no Estado de Minas Gerais. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1, 2000, Poços de Caldas, MG. Resumos ... Poços de Caldas, MG: Embrapa Café 2000. v.1, p.1193-1196.
- SANTOS, J.S. et al. Detecção da bactéria *Xylella fastidiosa* em diferentes partes e variedades de plantas de café, nos Estados de São Paulo e Rio Grande do Sul. *Summa Phytopathologica*, Jaboticabal, v.24, n.1, p.58, 1998.
- TAKATSU, A.; SANTOS, M.R.; MALUF, R.C. *Xylella fastidiosa* do caféiro no Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2, 2001, Vitória-ES. Resumos... Vitória, ES, : Embrapa Café 2001. p.1234-1241.
- TEIXEIRA, D.C. et al. *Xylella fastidiosa* da Clorose Variegada dos Citros multiplicada em cafeeiros após passagem por *Catharantus roseus*. *Summa Phytopathologica*, Jaboticabal, v.27, n.1, p.108, 2001.
- UCHIBABA, E.Y.; LEITE Jr., R.P.; LEITE, R.M.V.B.C. Avaliação de meios de cultura gerais e específicos para o cultivo de ameixeira com escaldadura da folha. *Fitopatologia Brasileira*, v.17, p.252-257, 1992.

YORINORI, M.A. et al. Presença de *Xylella fastidiosa* em sementes e mudas de cafeeiro. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1, 2000. Poços de Caldas, MG. Resumos ... Poços de Caldas, MG: Embrapa Café 2000. v.1, p.294-297.

WELLS, J.M.; RAJU, B.C.; NYLAND, G. Isolation, culture and pathogenicity of the bacterium causing phony disease of peach. *Phytopathology*, v.73, p.859-862, 1983.

WELLS et al. *Xylella fastidiosa* gen. nov., sp. nov.: gram-negative, xylem-limited, fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas* spp. *Int. J. Syst. Bacteriol*, v.37:136-143, 1987.

## **CAPÍTULO 2**

**Ocorrência de *Xylella fastidiosa* em cafeeiro nas regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais**



## 1 RESUMO

BARBOSA, Juliana Franco. Ocorrência de *Xylella fastidiosa* em cafeeiro nas regiões Sul de Minas Gerais e Zona da Mata.. In: \_\_\_\_\_. **Ocorrência e padrão espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro (*Xylella fastidiosa*) nas regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais**. 2003.p. 27-50. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universiadade Federal de Lavras, Lavras.

No Brasil, a atrofia dos ramos do cafeeiro foi relatada pela primeira vez em café em 1995, por Paradela Filho e colaboradores no estado de São Paulo. Estudos recentes constataram a presença da bactéria em lavouras de Minas Gerais, Paraná e Bahia. No entanto, levantamentos sistemáticos, com métodos exatos de diagnose não foram realizados. Assim, este trabalho teve como objetivo o levantamento da ocorrência de *X. fastidiosa* associada ao cafeeiro nas regiões Sul e Zona da Mata de Minas e a obtenção de isolados destas áreas para preservação e estudos posteriores de virulência e patogenicidade. Para o levantamento foram visitados 10 municípios da região Sul, sendo coletadas 30 amostras por município e 8 municípios da Zona da Mata sendo coletadas 23 amostras por município. As amostras coletadas foram encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal de Lavras e analisadas pela técnica de PCR. A presença de *X. fastidiosa* foi detectada em amostras coletadas nos municípios de Lavras, Ijaci, Aguanil, Cristais, Três Pontas, Campos Gerais, Varginha, Nepomuceno, Alfenas, Viçosa, Teixeira, Coimbra, Manhuaçu, Manhumirim, Canaã, Araponga e São Miguel do Anta, tanto em plantas com sintomas como em plantas aparentemente sadias. Amostras provenientes do município de Campo Belo apresentaram resultado negativo. Foram obtidos 22 isolados provenientes de Lavras e 1 isolado de Varginha MG. A ocorrência de *X. fastidiosa* em cafeeiro foi menor que 50% nas duas regiões amostradas. A maior percentagem de amostras infectadas foi detectada em cafeeiros com mais de 10 anos de idade. Com base nos resultados obtidos conclui-se que a bactéria encontra-se disseminada nos cafezais das regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais.

---

\* Comitê Orientador: Ricardo Magela de Souza – UFLA (orientador), Edson Ampélio Pozza e Alessandra de Jesus Boari (co-orientadores)– UFLA.

## 2 ABSTRACT

BARBOSA, Juliana Franco. Occurrence of *Xylella fastidiosa* in coffee plants in the Southern and Zona da Mata region of Minas Gerais. In: \_\_\_\_\_. **Occurrence and standard spatial pattern of atrophy in coffee branches (*Xylella fastidiosa*) in the Southern and Zona da Mata region of Minas Gerais.** 2003.p. 27-50. Dissertation (Master Program in Phytopathology)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

In coffee (*Coffea arabica*), *Xylella fastidiosa* was reported for the first time at São Paulo state in 1995. After this, the atrophy in coffee branches was reported in Minas Gerais, Paraná and Bahia states. This aimed to evaluate the occurrence of *Xylella fastidiosa* associated to coffee plants in the Southern and Zona da Mata region of Minas Gerais. For the survey 10 municipal districts of the South area were visited, being collected 30 samples by municipal district and 8 municipal districts of the Zona da Mata being collected 23 samples. The samples collected were analyzed by the technique of PCR in the Laboratory of Bacteriology at the Universidade Federal de Lavras, MG, Brazil. Presence of *X. fastidiosa* was detected in samples collected from Lavras, Ijaci, Aguanil, Cristais, Três Pontas, Campos Gerais, Varginha, Nepomuceno, Alfenas, Viçosa, Teixeiras, Coimbra, Manhuaçu, Manhumirim, Canaã, Araponga and São Miguel do Anta, in plants with symptoms as in plants seemingly healthy. *X. fastidiosa* was not detected in samples from Campo Belo. The occurrence of *X. fastidiosa* in coffee plants was smaller than 50% in the two areas. A larger number of infected samples was detected in coffee plants with more than 10 years. The bacteria is disseminated in coffee plantations in the Southern and Zona da Mata region of Minas Gerais.

---

\* Guidance Committee: Ricardo Magela de Souza - UFLA (adviser), Edson Ampélio Pozza and Alessandra de Jesus Boari (co-advisers) - UFLA.

### 3 INTRODUÇÃO

O primeiro relato da ocorrência de *Xylella fastidiosa* em cafeeiro data de 1995, no estado de São Paulo (Paradela Filho et al., 1995). Atualmente, a presença da bactéria em cafeeiro já foi constatada nos principais estados produtores do país: Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia, Goiás e Distrito Federal (Lima et al., 1996; Matiello & Almeida, 1998; Ueno & Uesugi., 2002).

No estado do Paraná, a ocorrência de *X. fastidiosa* em cafeeiro foi constatada em todas as regiões produtoras. Na região Norte deste estado, cerca de 80% das plantas em lavouras comerciais, com intervalo de idade das plantas de 16 a 20 anos, estão infectadas pela bactéria (Carvalho et al., 2000). De acordo com esses mesmos autores, cafeeiros com idade abaixo de 5 anos, a porcentagem de plantas infectadas é menor, cerca 36%.

Setenta por cento das amostras de plantas com mais de 10 anos de idade analisadas no Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba apresentaram resultado positivo (Takatsu et al., 2001), enquanto no Distrito Federal e Entorno foram positivas para infecção por *X. fastidiosa*. Em 95% das amostras coletadas foi detectada, por meio de microscopia ótica, a presença de um grande número de células de *X. fastidiosa* no conteúdo xilemático (Ueno & Uesugi, 2002).

A alta incidência de plantas amostradas de forma aleatória em diferentes estados (Lima et al., 1996; Carvalho et al., 2000) pode sinalizar que a presença da bactéria em cafeeiro não é recente; pelo contrário, deve ocorrer há muito tempo, sem causar danos visíveis a curto prazo. No entanto, a presença da bactéria no cafeeiro não causa perdas como no citros, mas sendo uma doença do sistema vascular, pode ser problemática em anos com estiagem prolongada (Takatsu et al., 2001).

A presença de *X. fastidiosa* já foi estudada em sete espécies e híbridos específicos de cafeeiros tendo sido constatada em *C. kapakata*, *C. stenophylla*, *C. eugenioides* e diversas cultivares de *Coffea arabica*, como Mundo Novo, Catuai Amarelo, Catuai Vermelho, Icatu, Iapar 59, Acaiá, Tupi, Caturra Bourbon (Carvalho et al., 2000) e *C. canephora*, *Colilon* e *Robusta*. Nas plantas com pouco ou nenhum sintoma, a bactéria foi detectada somente esporadicamente. A presença da bactéria não foi constatada nas espécies *C. racemosa* e *C. dewevrei*. Em relação aos híbridos interespecíficos, *C. arabica* x *C. dewevrei*, *C. arábica* x *C. eugenioides*, *C. arabica* x *C. canephora* var. *robusta*, *C. arabica* x *C. racemosa* todos apresentaram reação positiva para *X. fastidiosa* em pelo menos um dos testes relacionados (Ribas et al., 1998; Yorinori et al., 2000).

O presente trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de *X. fastidiosa* em cafeeiro em duas regiões produtoras do estado de Minas Gerais, a região Sul e a da Zona da Mata e a obtenção de isolados destas áreas para preservação e estudos de virulência e patogenicidade posteriores.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Coleta de amostras

O levantamento para se constatar a ocorrência de *X. fastidiosa* foi iniciado pela amostragem em dez municípios da região Sul e oito da Zona da Mata de Minas Gerais (Figuras 1 e 2).

O número de municípios foi escolhido de acordo com a quantidade de lavouras, extensão territorial e experiência dos técnicos da EPAMIG de Lavras, MG, que já realizaram levantamentos para estudos de outras variáveis nestas áreas.

Em cada lavoura foi realizada amostragem tendenciosa, procurando-se as plantas com sintomas, por meio de informações dos agricultores ou técnicos da região. Logo após, foi realizado caminharmento em zig-zag (Campbell & Madden, 1990), coletando-se ramos aleatoriamente de plantas com e sem sintomas. De plantas assintomáticas, foram coletados quatro ramos no terço médio da planta. Nas plantas sintomáticas foram coletados os ramos com sintomas típicos da doença, como internódios curtos, e tufos de folhas nas pontas.

Os dados referentes à lavoura, como cultivar plantada, estado nutricional, práticas culturais adotadas pelo agricultor, idade e quadro sintomatológico das plantas, bem como outros dados da propriedade, foram devidamente catalogados.

As amostras foram devidamente identificadas, acondicionadas em sacos plásticos dentro de caixas de isopor e transportadas para o Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal de Lavras, onde foi identificado o agente etiológico pela técnica da reação de PCR.

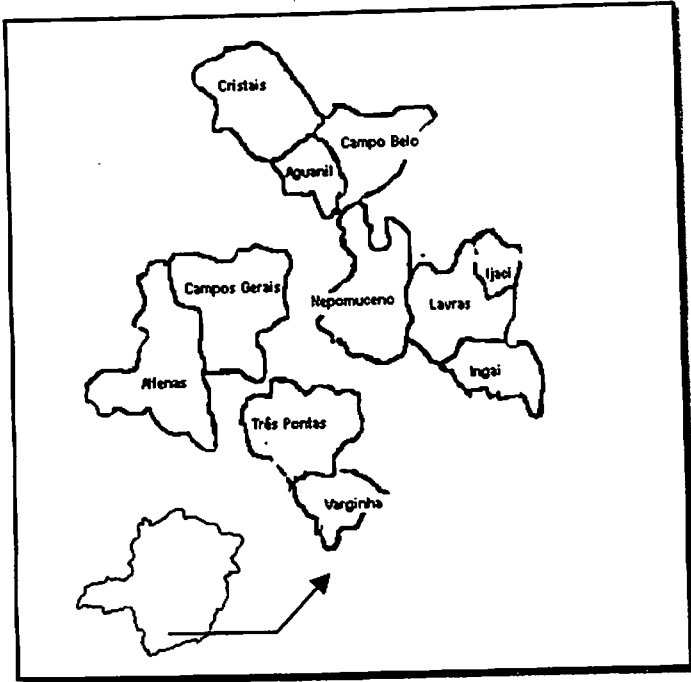


FIGURA 1 Posição relativa dos municípios amostrados na região sul de Minas Gerais

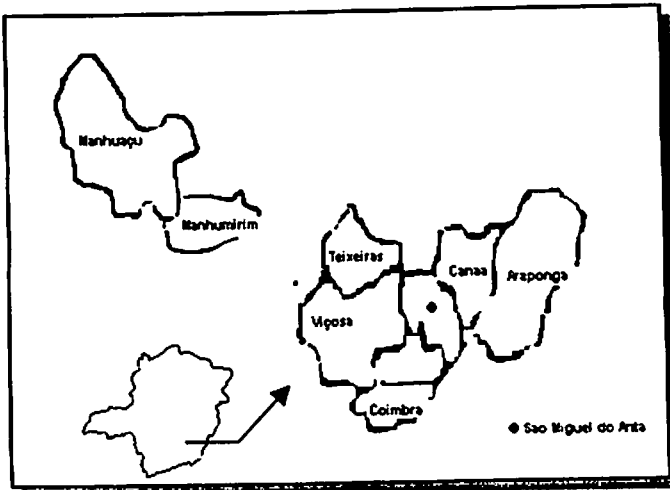


FIGURA 2 Posição relativa dos municípios amostrados na Zona da Mata de Minas Gerais

#### **4.1.2 Amostragem de folhas de cafeeiro em plantas com sintomas e sem sintomas da ARC, na região Sul de Minas Gerais**

Foram coletadas amostras nos municípios de Lavras, Ijaci, Campo Belo, Aguanil, Cristais, Três Pontas, Varginha, Nepomuceno, Alfenas e Campos Gerais. Por município, foram visitadas cinco lavouras. Em cada lavoura realizou-se a amostragem tendenciosa, em busca de plantas com sintomas, em parcelas com 2.400 plantas. Para a coleta das plantas sadias, sem sintomas, realizou-se a amostragem sistemática. Assim, na 5ª linha de plantio, contaram-se dez plantas e, entre a 11ª e 20ª planta, foi coletada uma amostra; na 9ª linha de plantio contaram-se trinta plantas e, entre a 31ª e 40ª plantas foi coletada outra amostra, na 18ª linha de plantio contaram-se setenta plantas e entre a 71ª e 80ª plantas foi coletada outra amostra. Por lavoura, coletou-se três amostras com sintomas da doença e três de plantas sadias. Cada município foi representado por trinta amostras.

#### **4.1.3 Amostragem de folhas de cafeeiro em plantas com sintomas e sem sintomas da ARC, na Zona da Mata de Minas Gerais**

Foram coletadas amostras nos municípios de Viçosa, Teixeiras, Coimbra, Manhuaçu, Manhumirim, Canaã, Araponga e São Miguel do Anta. Em cada lavoura realizou-se a amostragem tendenciosa, em busca de plantas com sintomas e a amostragem não tendenciosa de plantas aparentemente sadias (a coleta de plantas assintomáticas e sintomáticas foi realizada conforme descrito em 4.1.2). O número de amostras por propriedade variou de acordo com o tamanho do talhão amostrado. Cada município foi representado por 23 amostras.

#### **4.2 Extração do DNA genômico**

No laboratório de bacteriologia do Departamento de Fitopatologia da UFLA, os pecíolos de folhas de plantas de cafeeiro foram processados conforme

descrito por Minsavage *et al.* (1994), adaptado por Pinto e Leite, (1999) para cafeeiro. A partir do extrato diluído, o DNA total da bactéria foi extraído e purificado, de acordo com o método de Ausubel *et al.* (1987). Assim, os pecíolos das folhas amostradas foram macerados em tampão succinato-citrato-fosfato contendo 5% de PVPP e ácido ascórbico 0,1 M e diluídos na proporção de 1:100. Do homogenizado foram retirados 100 $\mu$ L e colocados em tubos de microcentrifuga com 900 $\mu$ L de água destilada autoclavada (ada). Os tubos foram centrifugados por 2 minutos a 11700 rpm. Em seguida, foi retirado o sobrenadante e adicionado 1000  $\mu$ L de ada, seguindo-se nova centrifugação. Novamente o sobrenadante foi retirado e o pellet ressuspensionado em 567  $\mu$ L de TE (tampão 10 mM Tris-HCl, pH 7,5; EDTA 1 mM, pH 8,0), adicionando-se em seguida, 30  $\mu$ L de SDS 10% e 3  $\mu$ L de proteinase K (20 mg/mL) e agitando-se vagorosamente. Os tubos foram incubados em banho-maria a 37 $^{\circ}$ C por 1 hora. Ao conteúdo dos tubos adicionaram-se 100  $\mu$ L de NaCl 5M, seguindo-se de agitação em vortex. Novamente, adicionaram-se 80  $\mu$ L de CTAB/NaCl (4,1g de NaCl e 10 g de CTAB, em 100 mL de água) seguindo-se de agitação em vortex. Os tubos foram então incubados em banho-maria a 65 $^{\circ}$ C por 10 minutos e, a seguir, à temperatura ambiente, adicionaram-se 550  $\mu$ L de clorofórmio: álcool isoamílico, 24:1, seguindo-se de agitação manual por 10 minutos e centrifugação a 14000 rpm por 5 minutos. Após este processo, a fase superior foi transferida para um novo tubo, medindo-se o volume. Nesta etapa adicionaram-se 0,6 volume de álcool isopropílico e os tubos foram levados ao ultra freezer a -80 $^{\circ}$ C, por 10 minutos. Novamente procedeu-se à centrifugação a 14.000 rpm por 20 minutos. Retirou-se o sobrenadante e o pellet foi lavado com etanol 70%, seguindo-se de centrifugação a 14.000 rpm por 10 minutos. O pellet foi ressuspensionado em 50  $\mu$ L de TE e armazenado a 4 $^{\circ}$ C.



#### 4.3 Reação de amplificação do DNA – PCR

A amplificação do DNA foi realizada com volumes de 25  $\mu\text{L}$ , sendo 2,5  $\mu\text{L}$  de Tampão 10X, 1,5  $\mu\text{L}$  de cloreto de magnésio, 1,0  $\mu\text{L}$  de dNTPs, 0,75  $\mu\text{L}$  de cada primer, 5  $\mu\text{L}$  de taq polimerase e 5  $\mu\text{L}$  do DNA da amostra, completando-se o volume com água ultrapura. Os primers utilizados foram os descritos por Minsavage et al. (1994):

RST31 (5'-GCGTTAATTTTCGAAGTGATTCGATTGC-3')

RST33 (5'CACCATTCGTATCCCGGTG-3'),

os quais permitem a amplificação de um fragmento específico de 733 pares de base. O programa utilizado no termociclador, descrito por Minsavage et al., (1994) foi adequado às condições deste experimento, sendo 1 minuto a 94°C para desnaturação, 1 minuto a 55°C para anelamento, 1 minuto e 30 segundos a 72°C para extensão, por 30 ciclos e 5 minutos a 72°C para extensão final.

#### 4.4 Corrida em gel de agarose

A visualização do produto da PCR foi feita em gel de agarose a 0,9%, diluído em tampão TBE (TBE 10 X 108g Tris 89mM, 55g ácido bórico 89 mM, e EDTA 0,5 M em pH 8,0) e corado com brometo de etídeo.

#### 4.5 Obtenção e conservação dos isolados de *Xylella fastidiosa* de cafeeiros

Os isolados foram obtidos de amostras coletadas durante o estudo da ocorrência de *X. fastidiosa* nas regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais. Todos os isolados foram obtidos de pecíolos de folhas de cafeeiro, segundo metodologia de Almeida et al. (2001). Das folhas de cafeeiro foram retirados o pecíolo e parte da nervura central. Cada amostra foi representada por um pecíolo de 0,05 a 0,10 g de tecido. Este material foi desinfestado superficialmente por meio de banhos sucessivos de dois minutos em cinco recipientes contendo, respectivamente, álcool 70%, hipoclorito de sódio 2% e água destilada

autoclavada (três vezes). Após secagem sobre papel de filtro autoclavado, estes fragmentos foram macerados em 2 mL de tampão fosfato salino (PBS). Uma alíquota de 100 µL da suspensão obtida foi diluída em 900 µL de PBS e, desta diluição, uma alíquota de 20 µL foi plaqueada em meio de cultura PW (Davis et al., 1981). As placas foram mantidas a 28<sup>o</sup>C, por 14 a 21 dias.

Todos os materiais líquidos e recipientes utilizados no procedimento foram autoclavados por 20 minutos a 121<sup>o</sup>C, para eliminação dos contaminantes. Bisturi para corte e pinça para transferência dos tecidos foram flambados para cada amostra. Todas as etapas foram executadas em câmara de fluxo laminar.

As colônias obtidas foram analisadas por PCR segundo metodologia de Ausubel et al. (1987) para confirmação da identidade dos isolados de *X. fastidiosa*. Os isolados foram armazenados em tubos de microcentrífuga contendo tampão para preservação succinato-fosfato-citrato (SPC 1g succinato, 1,5g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1g citrato, 1L água destilada) pH 7,0, mais 30% de glicerol. Uma suspensão bem concentrada das colônias bacterianas ressuspensa em PBS (200 µL) foi transferida para tubos com tampão para preservação.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Detecção de *Xylella fastidiosa* em amostras de folhas de cafeeiro provenientes de plantas com sintomas e sem sintomas da ARC, na região Sul de Minas Gerais

A presença de *X. fastidiosa* foi detectada em amostras coletadas nos municípios de Lavras, Ijaci, Cristais Três Pontas, Campos Gerais, Varginha, Nepomuceno e Alfenas, em plantas com e sem sintomas (Tabela 2). Não foi verificada a ocorrência da bactéria nas amostras provenientes do município de Campo Belo.

As cultivares amostradas no levantamento foram Mundo Novo, Catuaí Vermelho e Acaiaí. As plantas apresentaram intervalo de idade de 5 a 40 anos (Tabela 3). Das 300 amostras analisadas, 76 apresentaram resultados positivos para a presença de *X. fastidiosa* pelo teste de PCR (Tabela 2), representando 25,3% das amostras examinadas. Dessas 300 amostras, 72% apresentaram intervalo de idade entre 16 e 25 anos (Tabela 3).

Foram obtidos 22 isolados (Figura 3) do município de Lavras e 1 isolado de Varginha (Tabela 4). Os isolados foram obtidos de plantas da cultivar Catuaí Vermelho, com idade de 5 a 12 anos.

TABELA 2 Levantamento da ocorrência de *Xylella fastidiosa* em amostras de cafeeiros provenientes da região Sul de Minas Gerais e analisadas pela técnica de PCR (30 amostras por município).

Município	Amostras positivas		Propriedades	
	Amostras com sintomas	Amostras sem sintomas	Total de propriedades.	Amostras Positivas
Lavras	0	1	5	1
Ijaci	9	3	5	3
Campo Belo	0	0	5	0
Aguanil	1	0	5	1
Cristais	6	3	5	4
Três Pontas	10	2	5	4
Campos Gerais	4	1	5	1
Varginha	4	9	5	3
Nepomuceno	2	11	5	3
Alfenas	5	5	5	2

TABELA 3 Intervalo de idade de plantas positivas por PCR, nos municípios de Lavras, Ijaci, Cristais Três Pontas, Campos Gerais, Varginha, Nepomuceno e Alfenas, Minas Gerais.

Intervalo de idade (anos)	Nº de amostras	% amostras positivas por PCR
0 a 5	26	19
6 a 15	88	36
16 a 25	112	49
Mais de 25	74	64

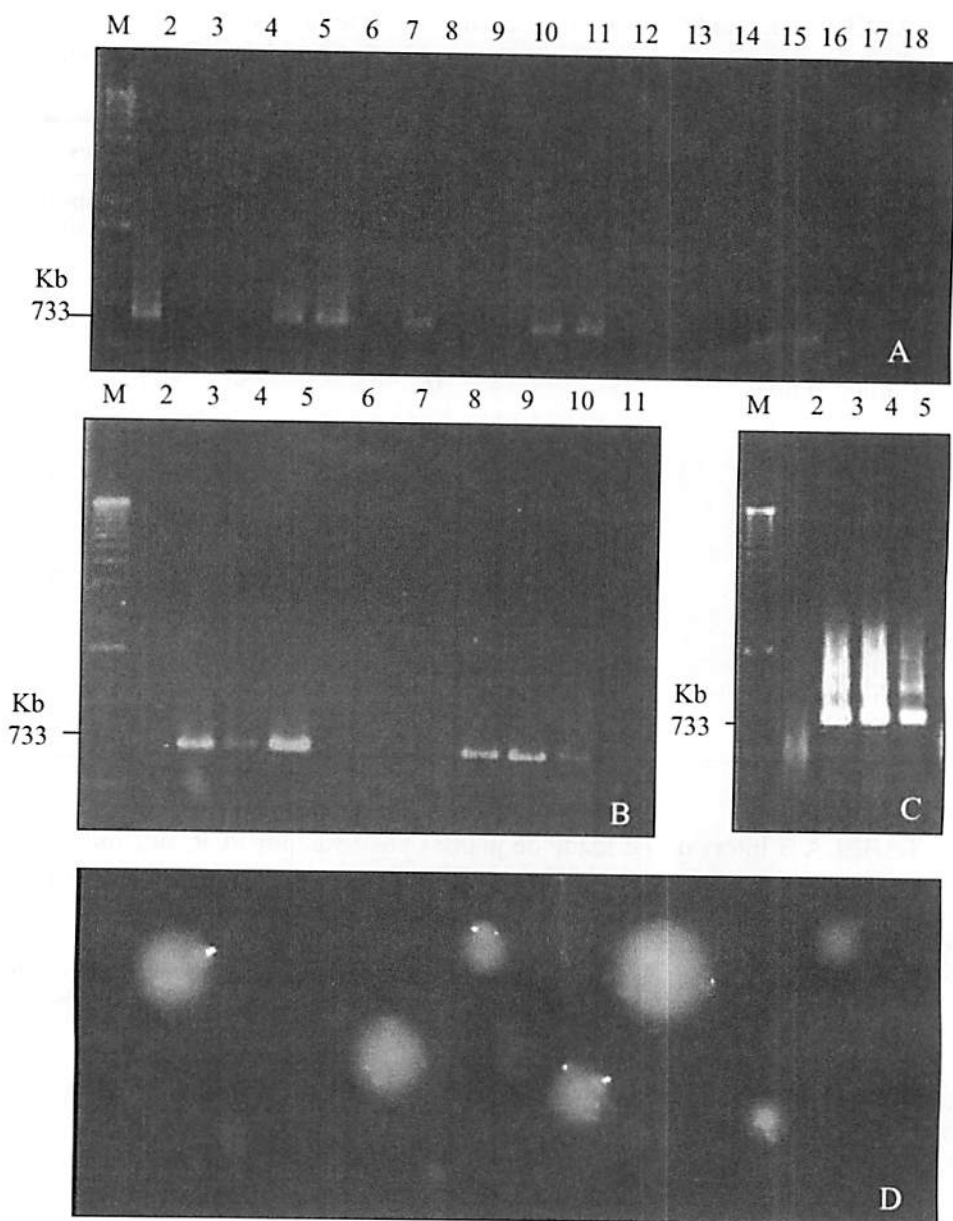


FIGURA 3 (A) Gel de agarose de produtos amplificados por PCR do DNA de *X. fastidiosa* extraído de pecíolos de folhas do cafeeiro. Amostras 2 controle positivo, 5, 6, 8, 11, 12, 16, 17, provenientes de Araponga MG. (B) Amostras 3, 4, 5, 9, 10, 11, 12, provenientes de Lavras MG. (C) Reação de PCR de colônias de *X. fastidiosa*, isolados, Ingá, VA1 5.100, E 2.5. (D) Colônias de *X. fastidiosa*, isolado VA1 5.100 em meio de cultura PW.

TABELA 4 Isolados de *X. fastidiosa* de cafeeiro com sintomas da atrofia dos ramos do cafeeiro, da região Sul de Minas Gerais.

Isolado	Município	Variedade	Idade
E 1.88	Lavras	Catuai	8
E 7.94	Lavras	Catuai	8
E 1.13	Lavras	Catuai	8
E 2.85	Lavras	Catuai	8
E 3.82	Lavras	Catuai	8
E 1.67	Lavras	Catuai	8
E 1.2	Lavras	Catuai	8
E 1.4	Lavras	Catuai	8
E 2.15	Lavras	Catuai	8
G 11.44	Lavras	Catuai	10
G 10.56	Lavras	Catuai	10
G 3.99	Lavras	Catuai	10
G 1.60	Lavras	Catuai	10
G 6.35	Lavras	Catuai	10
G 8.81	Lavras	Catuai	10
G 6.48	Lavras	Catuai	10
G 3.55	Lavras	Catuai	10
ARA 3 B	Lavras	Catuai	10
ARA 3 A	Lavras	Catuai	10
JNGÁ	Lavras	Catuai	12
M 1.10	Lavras	Catuai	5
M 4.1	Lavras	Catuai	5
VA1 5.100	Varginha	Catuai	10

**5.2 Detecção de *Xylella fastidiosa* em amostras de folhas de cafeeiro provenientes de plantas com sintomas e sem sintomas da ARC, na Zona da Mata de Minas Gerais**

Foi detectada a presença de *Xylella fastidiosa* em amostras coletadas nos municípios de Viçosa, Teixeira, Coimbra, Manhuaçu, Manhumirim, Canaã, Araponga e São Miguel do Anta, tanto em plantas com sintomas como em plantas aparentemente sadias (Tabela 5). Todas as plantas avaliadas foram da cultivar Catuaí Vermelho, com intervalos de idade diferentes (Tabela 6). Das 184 amostras analisadas nos municípios de Araponga, S.M. do Anta, Canaã, Manhuaçu e Manhumirim, 57% das amostras positivas apresentaram intervalo de idade entre 9 e 15 anos (Tabela 6).

**TABELA 5** Levantamento da ocorrência de *Xylella fastidiosa*, pela técnica de PCR, em cafeeiro de amostras provenientes da região da Zona da Mata de Minas Gerais.

Município	Amostras		Propriedades	
	Amostras com sintomas	Amostras sem sintomas	Total de propriedades	Amostras positivas
Viçosa	3	3	5	4
Manhuaçu	2	2	5	3
Manhumirim	1		7	1
Teixeiras	2	4	6	4
Coimbra	1	1	3	2
Araponga	7	2	5	5
Canaã	6	1	4	3
São Miguel do Anta	4	3	8	7

TABELA 6 Intervalo de idade de plantas positivas por PCR, nos municípios de Araponga, S.M. do Anta, Canaã, Manhuaçu e Manhimirim, Viçosa, Teixeira e Coimbra na Zona da Mata de Minas Gerais

Intervalo de idade (anos)	N <sup>o</sup> de amostras	% amostras positivas por PCR
0 a 3	10	10
4 a 8	40	15
9 a 15	86	28
16 a 25	32	25
Mais de 25	14	21


Tentativas de estabelecer culturas puras da bactéria *X. fastidiosa* a partir das plantas amostradas não foram bem sucedidas. Nenhum isolado foi obtido da região da Zona da Mata.

Em todas as amostras avaliadas tanto na região Sul como na Zona da Mata, a porcentagem de amostras positivas por PCR foi inferior a 50%. Com intervalo de idades das plantas de 8 a 25 anos. Lavouras abaixo de 5 anos representam apenas 20% das amostras positivas.

Hopkins (1989) relatou que, para algumas espécies hospedeiras de *X. fastidiosa*, a bactéria pode ser considerada um patógeno fraco ou oportunista. Talvez este fato relacione-se à baixa porcentagem de amostras positivas encontradas nas regiões Sul e na Zona da Mata de Minas Gerais. Algumas estirpes podem colonizar os vasos do xilema de plantas que não apresentaram sintomas da doença. No entanto, estas estirpes podem causar danos se a planta estiver debilitada, como, por exemplo, outras doenças e pragas em associação, em senescência, com deficiência mineral, corte de raízes durante o cultivo, superprodução e, principalmente, estresse hídrico (Paradela Filho et al., 1999).

Pereira (2000) observou tendência de aumentos populacionais de *X. fastidiosa* em plantas cítricas nos meses mais frio (outono e inverno) e com





menores taxas pluviométricas no período de março de 1999 a julho de 2000. O contrário foi observado nos meses mais quentes e chuvosos (primavera e verão). No entanto, a média populacional de *X. fastidiosa* não foi diferente estatisticamente no período de fevereiro a junho de 1999. A tendência de aumento populacional no outono-inverno e redução na primavera-verão também foi observada por Leite et al. (1997), estudando a flutuação populacional de *X. fastidiosa* em ameixeira. Esta observação foi tanto em isolamento em meio de cultura BCYE quanto em testes sorológicos de DAS-ELISA. De acordo com Leite et al. (1997), o aumento da população bacteriana nos tecidos das plantas hospedeiras, em geral, coincide, normalmente, com o aparecimento de sintomas da doença.

Após o relato, em 1995, da associação de *X. fastidiosa* com cafeeiro, no ano agrícola de 1998, em função das más condições ambientais, com períodos secos e temperaturas elevadas, sintomas de depauperamento foram observados com maior intensidade em várias lavouras e em várias regiões cafeeiras. Técnicos do MAA/SDR/PROCAFÉ, juntamente com técnicos de outras instituições, iniciaram um levantamento em várias regiões do país (Matiello & Almeida, 1998). Quatro anos após, este trabalho teve como objetivo realizar o levantamento de *X. fastidiosa* no cafeeiro nas regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais. Em função das condições climáticas nestes últimos anos ocorreu recuperação destas plantas. Este fato foi relatado pela maioria dos produtores entrevistados. A sintomatologia para coleta das amostras foi associada a plantas que em 1998 apresentaram o sintoma referido. As relações ambientais, como nutrição das plantas e períodos secos prolongados pode tornar evidentes os sintomas da ARC no campo (Takatsu, 2001), fato que não se repetiu nos anos de 1999 a 2002.

No levantamento realizado por Matiello et al. (1998) a doença foi identificada em cafeeiros no Paraná, na região Norte Velho e Novo, em São

Paulo; Minas Gerais, regiões Sul, Oeste, Triângulo, Alto Paranaíba, Zona da Mata, Jequitinhonha e Vale do Rio Doce; Espírito Santo, no Sul, Centro Serrano e na zona de café Conillon; Bahia, no extremo Sul, Planalto da Conquista e Chapada da Diamantina; Rio de Janeiro, Zona Serrana, Centro e Norte Fluminense; e Rondônia, Zona Cacoal.

Matiello et al. (1998) avaliaram 25% das propriedades que compõem a amostra de previsão de safra cafeeira nas regiões Sul/Oeste e Zona da Mata de Minas Gerais. Em 82,5% das propriedades das regiões Sul e Oeste de Minas Gerais foi constatada a presença de *X. fastidiosa* no cafeeiro, através do exame do exsudato do pecíolo foliar. Na região da Zona da Mata, em 78,9% das propriedades, foi constatada a presença de *X. fastidiosa* no cafeeiro.

No estado do Paraná, a ocorrência de *X. fastidiosa* em cafeeiro foi constatada por PCR em todas as regiões produtoras, com cerca de 80% das plantas, com intervalo de idade entre plantas de 16 e 20 anos, infectadas (Carvalho et al., 2000). Em cafeeiros com idade abaixo de 5 anos, a porcentagem de plantas infectadas foi menor, 36%. Amostras de cafeeiro com mais de 10 anos de idade, analisadas no Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, apresentaram 70% de plantas positivas (Takatsu et al., 2001).

A maceração do material vegetal utilizando almofariz e pistilos promoveu ruptura dos vasos de xilema de forma uniforme na maioria das amostras processadas, permitindo a liberação de células de *X. fastidiosa* na suspensão restante. No entanto, durante o isolamento, grande parte do experimento foi perdido em função de contaminações, provavelmente acarretadas por microorganismos endofíticos presentes nas amostras. Este fato foi relatado por Almeida (1999) e Lacava (2000), que optaram por diluições em número de 10, para reduzir a incidência de contaminantes.

O meio PW (Davis et al., 1981) foi eficiente para o isolamento de *X. fastidiosa* de tecido amostrado de cafeeiro. O meio BCYE (Leite Jr. & Leite, 1991) foi testado em ensaios preliminares, porém, sem sucesso.

Almeida (1999), em estudo comparativo de meios de cultura para isolar *X. fastidiosa*, adaptou a metodologia descrita por Hill & Purcell (1995) para o isolamento em tecidos cítricos utilizando os seguintes meios de cultura, PW, PWg, BCYE, concluindo que os três meios de cultura testados promoveram crescimento bacteriano, porém com diferenças na eficiência de isolamento, diâmetro de colônias e período de incubação. O meio BCYE promoveu crescimento mais lento, colônias menores e menor eficiência de isolamento do que o PW e PWG.

## 6 CONCLUSÕES

*Xylella fastidiosa* esta disseminada nos cafeeiros das regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais.

Há presença da bactéria em plantas com sintomas característicos da atrofia dos ramos do cafeeiro e em plantas aparentemente sadias.

A ocorrência de *X. fastidiosa* em cafeeiro foi inferior a 50 % nas duas regiões amostradas.

A maior percentagem de amostras infectadas foi detectada em cafeeiros com mais de 10 anos de idade.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, R.P.P. **Multiplicação e movimentação de *Xylella fastidiosa* em mudas de *Citrus sinensis* e sua eficiência de aquisição e inoculação por vetores.** 1999. 57p. Dissertação (Mestrado em Entomologia)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP.

ALMEIDA, R.P.P. et al. Multiplication and movement of a citrus strain of *X. fastidiosa* within sweet orange. **Plant Disease**, v.85, n.4, p.382-386, 2001.

AUSUBEL, F.M. et al. **Current protocols in molecular biology.** New York: J. Wiley, 1987.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology.** New York: John Wiley, 1990. 532p.

CARVALHO, F.M.S.; MENEGUIM, L.; LEITE Jr., R.P. Levantamento da distribuição de *Xylella fastidiosa* associada a *Coffea* spp. em regiões cafeeiras do Paraná. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000, Poços de Caldas, MG. **Resumos ...** Poços de Caldas, MG: Embrapa Café, 2000. v.1. p.287-290.

DAVIS, M.J.; FRENCH, W.J; SCHAAD, N.W. axenic culture of the bacteria associated with phony disease of peach and plum leaf scald. **Current Microbiology**, v. 6, p. 309-14, 1981.

HILL, B.L. ; PURCELL, A.H. Multiplication and movement of *Xylella fastidiosa* within grapevine and four other plants. **Phytopathology**, v.85, p.1368-1372. 1995.

HOPKINS, D. *Xylella fastidiosa*: Xylem limited bacterial pathogen of plant. **Annual Review of Phytopathology**, v.27.p.271-290, 1989.

LACAVA, P.T. **Isolamento, caracterização genética por RAPD e resistência a antibióticos em *Xylella fastidiosa*.** 2000. 108p. Dissertação(Mestrado)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.

LEITE Jr., R.P.; LEITE, R.M.V.B.C. Associação de *Xylella fastidiosa* com clorose variegada dos citros. **Summa Phytopathologica**, v.17, p.7, 1991.

LEITE, R.M.V.B.C.; LEITE Jr., R.P.; CERZINE, P.C. Flutuação populacional de *Xylella fastidiosa* em ameixas suscetíveis e resistentes à escaldadura da folha. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, p.58-63. 1997.

LIMA, J.E.O. et al. Distribuição de *Xylella fastidiosa* no cafeeiro nas regiões cafeeiras, e seu isolamento in vitro. **Fitopatologia Brasileira**, v.21, p.392-393. 1996.

MATIELLO, J.B.; ALMEIDA, S.R. Escurecimento dos vasos nas hastes e em ramos laterais e mortalidade de cafeeiros, no Sul de Minas e na Bahia, associados à presença de *Xylella fastidiosa*. In: BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 24., 1998, Poços de Caldas, MG. Resumos ...Poços de Caldas: Editora Reoproarte, 1998. p 1.

MINSAVAGE, G.V. et al. Development of a polymerase chain reaction protocol for detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue. **Phytopathology**, v.84, n.5, p.456-461, 1994.

PARADELA FILHO, O. et al. Primeira constatação em cafeeiro no Brasil da *Xylella fastidiosa*, causadora da Clorose Variegada dos Citros. **Laranja**, v.16, n.2, p.135-136, 1995.

PARADELA FILHO, O. et al. **Atrofia dos ramos do cafeeiro, causada por *Xylella fastidiosa***. Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas, 1999. 10p. (Boletim Técnico, 182).

PEREIRA, E.F. **Estudo de fatores sazonais relacionados à transmissão de *Xylella fastidiosa* em pomares de citros**. 2000. 82p. Dissertação (Mestrado em Entomologia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

PINTO, F.G.S. ; LEITE Jr., R.P. Detecção de *Xylella fastidiosa* em *Coffea* spp. através da técnica de PCR. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, p.254(S). 1999.

RIBAS, A.F.; UENO, B.; LEITE JUNIOR, R.P. Associação de *Xylella fastidiosa* com espécies e híbridos interespecíficos de cafeeiro. **Summa Phytopathologica**, v.24, n.1, p.63, 1998.

TAKATSU, A.; SANTOS, M.R.; MALUF, R.C. *Xylella fastidiosa* do cafeeiro no Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2, 2001, Vitória-ES. Resumos... Vitória, ES, : Embrapa Café 2001. p.1234-1241.

UENO, B.; UESUGI, C.H. Levantamento da ocorrência de *Xylella fastidiosa* em cafeeiro do Distrito Federal e Entorno. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, n.2, p.223. 2002.

YORINORI, M.A.; RIBAS, A.F.; LEITE Jr., R.P.; FUNADA, C.K. Associação de *Xylella fastidiosa* com espécies e híbridos interespecíficos de cafeeiro. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1, 2000. Poços de Caldas, MG. **Resumos ... Poços de Caldas, MG: Embrapa Café 2000.** v.1, p.291-293.

## **CAPÍTULO 3**

**Análise do padrão espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro nas regiões Sul  
e Zona da Mata de Minas Gerais**



## 1 RESUMO

BARBOSA, Juliana Franco. Análise do padrão espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro nas regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais. In: \_\_\_\_\_. **Ocorrência e padrão espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro (*Xylella fastidiosa*) nas regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais.** 2003. p.51-86. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

O presente trabalho objetivou estudar tanto o progresso da atrofia dos ramos do cafeeiro no tempo, como o arranjo das plantas afetadas, visando caracterizar a distribuição espacial da doença em duas regiões do estado de Minas Gerais: Sul e Zona da Mata. Por meio de avaliação de sintomas visuais, foram mapeados, de três em três meses, três talhões de café da cultivar Catuaí Vermelho em duas regiões do município de Lavras, MG. O arranjo das plantas afetadas foi avaliado em nove talhões, distribuídos nos municípios de Lavras, Varginha, Elói Mendes, Araçuaia e Canaã, MG. Para o estudo da dinâmica espacial, foram aplicadas as seguintes análises: seqüências ordinárias, índice de dispersão e análise de dinâmica e estrutura de focos. Em todos os talhões avaliados, considerando-se a área como um todo, foi observada uma tendência ao agrupamento ou formação de reboleira. Nas avaliações individuais, alguns talhões apresentaram arranjo de plantas doentes aleatório ou casualizado. A distribuição de plantas com padrão aleatório foi evidente em lavouras mais novas, no início da epidemia. O número de focos cresceu com o aumento da incidência da doença. Os focos apresentaram tamanhos, em média, inferiores a três plantas. Em contrapartida, o percentual de focos unitários diminuiu conforme o aumento na incidência.

---

\* Comitê Orientador: Ricardo Magela de Souza - UFLA (orientador), Edson Ampélio Pozza e Alessandra de Jesus Boari (co-orientadores) - UFLA.

## 2 ABSTRACT

BARBOSA, Juliana Franco. Analysis of the spatial pattern of atrophy in coffee branches in South and Zona da Mata of Minas Gerais. In: \_\_\_\_\_. **Occurrence and standard spatial pattern of atrophy in coffee branches (*Xylella fastidiosa*) in the Southern and Zona da Mata region of Minas Gerais.** 2003. p.51-86. Dissertation (Master Program in Phytopathology)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Aiming to evaluate the progress of the atrophy in coffee branches (ACB) in the time, and also the arrangement of the affected plants, and to characterize the spatial pattern of the disease in two regions in Minas Gerais: South and Zona da Mata. Progress was evaluated by means of visual symptoms, of three in three months, in three areas of coffee producing of the cultivar Catuaí Vermelho in two regions at Lavras, MG, Brazil. The actual arrangement of the affected plants was evaluated in nine regions, distributed in Lavras, Varginha, Elói Mendes, Araçuaia and Canaã, MG, Brazil. The spatial pattern was analysed by using: ordinary runs, dispersion index, dynamics analysis and structure foci. It was observed the spatial pattern of ACB as aggregated in all fields evaluated. But individual evaluation, some fields showed aleatory pattern of the plant disease. The aleatory pattern of plants disease was evident in newer areas, at the beginning of the epidemic. Foci number reduced with the increase of the incidence of the disease, well as foci compact index. Above 20%, there was coalition of foci. In compensation, the percentile of unitary foci decreases with the increase in the incidence disease.

---

\* Guidance Committee: Ricardo Magela de Souza - UFLA (adviser), Edson Ampélio Pozza and Alessandra de Jesus Boari (co-advisers)- UFLA.

### 3 INTRODUÇÃO

A cafeicultura no Brasil tem tido grande importância desde a sua introdução, no século XVIII até hoje, não só pela geração de emprego nas lavouras, armazéns e indústria, mas também pelo seu poder econômico. É uma “commodity” importante, como fonte de divisa, por meio de sua exportação e/ou comercialização interna.

A evolução da cafeicultura brasileira compreende períodos ou fases com aumentos no plantio e na produção e outros com abandonos de lavouras e redução nas safras (Matiello et al., 2002). Nesta segunda fase, as perdas de produtividade estão intimamente relacionadas com o ataque de pragas e as doenças responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento normal das plantas.

Entre as doenças da cultura, a atrofia dos ramos do cafeeiro (ARC) foi recentemente relatada. O agente etiológico é *Xylella fastidiosa*, uma bactéria fastidiosa limitada ao xilema e transmitida por cigarrinhas Hemipteras (Cicadellidae), da mesma forma como acontece com outras doenças causadas pelo mesmo patógeno (Lopes, 1999; Agrios, 1997).

A epidemiologia desta doença não é conhecida. Até o momento, quase toda pesquisa é direcionada por suposições inferidas a partir do conhecimento epidemiológico de outro patossistemas com essa bactéria, como a clorose variegada dos citros (CVC).

O primeiro estudo mais detalhado sobre a dinâmica espacial e temporal da distribuição de *X. fastidiosa* no campo foi realizado por Laranjeira (1997), para CVC, no qual verificou-se a variação das taxas de progresso da doença ao longo do tempo. A dinâmica espacial leva em consideração as características espaciais das epidemias e permitem elaborar hipóteses biológicas e ambientais, capazes de justificar as associações entre patógenos e plantas doentes (Campbell & Madden, 1990).

O ponto inicial da maioria destas análises do padrão espacial é verificar o desvio do comportamento espacial aleatório (Ferrandino, 1998).

Métodos de análise do padrão espacial das epidemias foram desenvolvidos no final do século passado (Campbell & Madden, 1990). Atenção especial foi dada a epidemias cujas avaliações são baseadas na incidência, como aquelas causadas por vírus, fitoplasmas, bactérias e fungos sistêmicos (Madden e Hughes, 1995). Embora existam várias técnicas para avaliar o padrão espacial de doenças, citam-se a análise de "ordinary runs" (Madden et al., 1982), autocorrelação espacial (Gottwald et al., 1992) e análise da dinâmica e estrutura dos focos baseada na observação dos mapas da epidemia (Nelson, 1996). Este último foi testado para duas epidemias da CVC (Nelson, 1996; Laranjeira et al., 1998). Segundo Nelson (1996), o número de focos tendeu a aumentar até a incidência atingir 22%, havendo, a partir daí, coalescência dos focos. Já Laranjeira et al. (1998) encontraram um valor de 30% para a mesma variável, em epidemias de CVC. Os focos têm padrões isodiamétricos. O aumento no número médio de plantas por foco seguiu um padrão exponencial e 83% dos focos apresentaram menos de dez plantas (Laranjeira et al., 1998).

Com base nos dados referentes à presença da bactéria no cafeeiro, é possível realizar o estudo do padrão espacial da doença que, até o momento, é incipiente e desconhecido.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi estudar o progresso da atrofia dos ramos do cafeeiro ao longo do tempo em Lavras, MG, bem como o arranjo espacial atual das plantas afetadas, visando caracterizar a dinâmica da doença em duas regiões de Minas Gerais: Sul e Zona da Mata.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Caracterização dos sintomas observados no campo**

Antes do início do levantamento das plantas com a ARC, foram acompanhados os sintomas característicos da doença no campo, pois eles podem ser confundidos com deficiência mineral e associação com outros patógenos. As plantas avaliadas eram provenientes de uma lavoura localizada no Campus da Universidade Federal de Lavras, MG, onde já havia sido relatada a ocorrência da ARC por técnicos da EPAMIG. As plantas foram avaliadas quanto à presença de ramos com internódios curtos, folhas mal formadas, amarelecimento geral, ramos com tufo de folhas nas pontas, sendo esses sintomas relatados como os mais comuns por outros pesquisadores. Para confirmar a presença da bactéria nas plantas, 30 amostras foram coletadas em cada área e analisadas por PCR.

### **4.2 Coleta dos dados**

O levantamento de plantas com ARC, pelo exame visual, foi iniciado após o treinamento e caracterização dos sintomas no campo (Item 4.1). Nas áreas localizadas no município de Lavras, as avaliações foram feitas de três em três meses, de junho a dezembro de 2002.

Para determinar o padrão atual da doença, foi realizada uma única avaliação no mês de setembro de 2002, nas regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais (Figura 4). Foram amostradas as lavouras nas cidades de Lavras, Elói Mendes e Varginha, no Sul de Minas Gerais e, na Zona da Mata, lavouras nas cidades de Araçuaia e Canaã (Tabela 7).

Buscou-se selecionar talhões homogêneos de café da variedade Catuaí Vermelho, representativos de ambas as regiões produtoras em estudo. As plantas de cada talhão apresentavam intervalos de idade diferentes. Foram coletadas as coordenadas geográficas das lavouras, em cada município, com o emprego do sistema de posicionamento geográfico GPS.

As avaliações visuais, baseadas em sintomas nos ramos e folhas, foram feitas em todas as épocas pela mesma pessoa. Para se confirmar a presença da bactéria em cafeeiro foram realizadas coletas de 30 amostras, as quais foram analisadas por PCR, seguindo-se o protocolo de Minsavage et al. (1994), modificado por Pinto & Leite Jr. (1999) para amostras de cafeeiro.

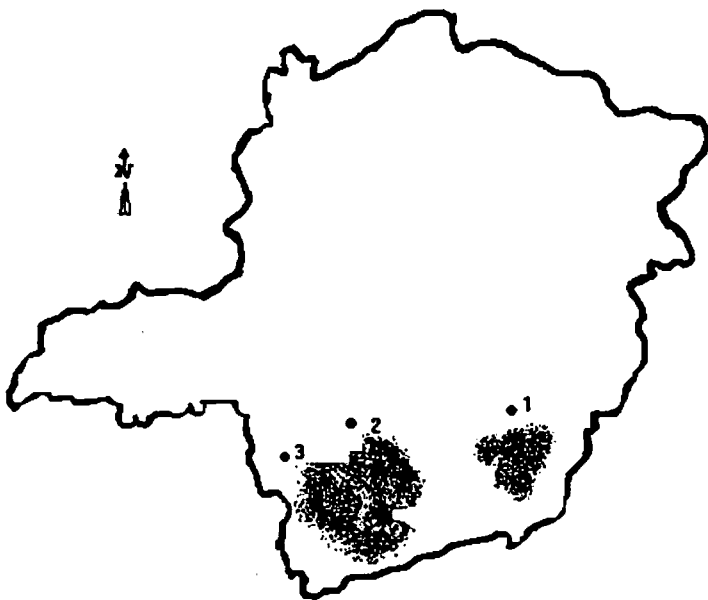


FIGURA 4 Posição relativa dos municípios (1) Canaã e Araçuaia, na Zona da Mata, e (2) Lavras e (3) Varginha e Elói Mendes, na região Sul de Minas Gerais, amostrados para análise do padrão espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro.

O mapeamento da área foi feito com base em dados binários (presença ou ausência de sintomas) anotados por cada planta. Para uma nova avaliação, as plantas sintomáticas foram adicionadas aos mapas anteriores, obtendo-se, assim, o número acumulado de plantas doentes e a sua posição. Foi considerado que uma planta sintomática numa avaliação será sempre doente nos mapas seguintes,

mesmo não apresentando sintomas em algumas das avaliações posteriores. Isso foi feito em função da natureza sistêmica do patógeno (Laranjeira, 1997).

**TABELA 7** Coordenadas geográficas dos municípios amostrados

Município	Localização		
	Altitude (m)	Latitude	Longitude
Araponga	949	20 <sup>o</sup> 39'	42 <sup>o</sup> 33'
Canaã	843	20 <sup>o</sup> 42'	42 <sup>o</sup> 34'
Elói Mendes	910	20 <sup>o</sup> 25'	45 <sup>o</sup> 29'
Lavras	934	21 <sup>o</sup> 34'	44 <sup>o</sup> 57'
Varginha	948	20 <sup>o</sup> 43'	45 <sup>o</sup> 09'

### **4.3 Áreas avaliadas**

#### **4.3.1.1 Região Sul de Minas Gerais**

##### **1) Município de Lavras**

Talhão E01 - está localizada no campus da UFLA. A área experimental conta com 1.200 plantas, dispostas em 12 linhas de plantio e 100 plantas amostradas por linha. Pertence a um talhão com cerca de 3.000 plantas da variedade Rubi MG 1192, com 8 anos de idade e espaçamento 3 x 0,8. É margeada por um talhão da variedade Mundo Novo, por um talhão da cultivar Catuaí Vermelho e uma estrada vicinal. A área apresenta deficiência de zinco e boro, de acordo com análise foliar, realizada por pesquisadores da EPAMIG.

Talhão M01 - está localizada no bairro rural Maranhão. A área experimental conta com 1.200 plantas, dispostas em 12 linhas de plantio e 100 plantas amostradas por linha. Pertence a um talhão com cerca de 25 mil plantas da

variedade Catuaí Vermelho, com 5 anos de idade e espaçamento 3 x 0,7. É margeada por dois talhões da variedade Catuaí Vermelho, com 15 anos de idade e uma estrada vicinal. Durante o ano de avaliação, os tratos fitossanitários só se fizeram necessários para o controle de plantas daninhas. As adubações foram feitas com micronutriente e uréia uma única vez no ano, durante o mês de dezembro/2002.

Talhão G01 – também está localizada no bairro rural Maranhão. A área experimental conta com 1200 plantas, dispostas em 12 linhas de plantio e 100 plantas amostradas por linha. Pertence a um talhão com cerca de 33 mil pés da variedade Catuaí Vermelho com 10 anos de idade e espaçamento 3 x 0,7. É margeada por outros talhões da variedade Catuaí Vermelho com idades superiores e uma estrada vicinal. Durante o ano de avaliação, os tratos fitossanitários só se fizeram necessários para o controle de plantas daninhas. As adubações foram feitas com micronutriente e formulação NPK uma única vez no ano, durante o mês de dezembro/2002.

## 2) Município de Elói Mendes

Talhão SR01 – a área experimental conta com 1200 plantas, dispostas em 12 linhas de plantio e 100 plantas amostradas por linha. Pertence a um talhão com cerca de 40 mil plantas da cultivar Catuaí Vermelho com 10 anos de idade e espaçamento 3 x 1. É margeada por talhões da mesma cultivar de diferentes idades e uma estrada vicinal. Nesta área já foi relatada a ocorrência da atrofia dos ramos do cafeeiro em 1998, empregando-se a técnica de observação do fluxo xilemático em microscópio ótico. Durante o ano de avaliação, os tratos fitossanitários se fizeram necessários para o controle de plantas daninhas e aplicações de fungicidas à base de cobre. As adubações foram feitas com micronutriente e formulação NPK duas vezes no ano.



Talhão SR02 – a área experimental conta com 1.200 plantas, dispostas em 12 linhas de plantio e 100 plantas amostradas por linha. Pertence a um talhão com cerca de 25 mil plantas da cultivar Catuaí Vermelho com 5 anos de idade e espaçamento 3 x 0,5. É margeada por um talhão da mesma cultivar, porém, de idade diferente, pastagem e uma estrada vicinal. Durante o ano de avaliação, os tratos fitossanitários se fizeram necessários para o controle de plantas daninhas e aplicações de fungicidas à base de cobre. As adubações foram feitas com micronutriente e formulação NPK, duas vezes no ano.

### 3) Município de Varginha

Talhão IS01 – a área experimental conta com 1.200 plantas, dispostas em 12 linhas de plantio e 100 plantas amostradas por linha. Pertence a um talhão com cerca de 25 mil plantas da cultivar Catuaí Vermelho com 12 anos de idade e espaçamento 3 x 1. É margeada por talhões da mesma cultivar, porém de diferentes idades e uma estrada vicinal. Nesta área já foi relatada a ocorrência da atrofia dos ramos do cafeeiro em 1998, empregando-se a técnica de observação do fluxo xilemático em microscópio ótico.

#### 4.3.1.2 Zona da Mata de Minas Gerais

##### 1) Município de Canaã

Talhão MA01 - a área experimental conta com 1.200 plantas, dispostas em 12 linhas de plantio e 100 plantas amostradas por linha. Pertence a um talhão com cerca de 30 mil plantas da cultivar Catuaí Vermelho com 5 anos de idade e espaçamento 2,7 x 0,7. É margeada por pastagem e uma estrada vicinal. Durante o ano de avaliação, os tratos fitossanitários se fizeram necessários para o controle de plantas daninhas e aplicações de fungicidas à base de cobre. As adubações foram feitas com micronutriente e formulação NPK quatro vezes no ano.

## 2) Município de Araponga

No município de Araponga, foram analisadas duas áreas experimentais: B01 e B02. Cada área experimental conta com 1.200 plantas, dispostas em 12 linhas de plantio e 100 plantas amostradas por linha. Pertencem a um mesmo talhão, com cerca de 100 mil plantas da cultivar Catuaí Vermelho com 16 anos de idade e espaçamento 3 x 1,5 São margeadas por pastagens e uma estrada vicinal. Durante o ano de avaliação, os tratos fitossanitários se fizeram necessários para o controle de plantas daninhas e aplicações de fungicidas à base de cobre. As adubações foram feitas com micronutriente e formulação NPK, quatro vezes no ano.

### 4.4 Análise de “ordinary runs”

O arranjo espacial das plantas doentes em cada talhão e o período de avaliação foi determinado pela análise de “ordinary runs” (Madden et al., 1982), com a qual foi investigada a existência de agregação entre plantas doentes imediatamente dentro das linhas. Um “run” ( $U$ ) é descrito como a sucessão de uma ou mais plantas doentes ou sadias. O número esperado de “run”, o desvio padrão de  $U$ , sob a hipótese de nulidade e o teste normal padrão  $Z$ , foram calculados seguindo as seguintes equações:

$$E(U) = 1 + [2m(N-m)/N]$$

$$S(U) = \{[(2m(N-m)) 2m(N-m) - N]/(N^2(N-1))\}^{0,5}$$

$$Z(U) = [U - E(U)]/S(U)$$

em que  $m$  é o número de plantas com sintomas e  $N$  é o número total de plantas por linhas combinadas. O teste normal padrão  $Z$  foi utilizado para determinar a agregação de plantas doentes. Os valores de  $Z$  inferiores a  $-1,64$  ( $P=0,05$ ) indicaram rejeição da hipótese de nulidade (arranjo aleatório), em favor da hipótese alternativa (arranjo agregado ou em reboleira). Os valores de  $E(U)$ ,  $S(U)$  e  $Z(U)$  foram calculados no programa desenvolvido por MAFFIA, L.A.,

baseado em Madden et al. (1982). Com os resultados obtidos, foram calculadas as porcentagens de linhas apresentando agregação entre plantas adjacentes dentro de cada parcela.

#### **4.5 Índice de dispersão**

Uma outra análise utilizada neste trabalho para inferir o grau de agregação espacial na população de plantas sintomáticas foi a variância média (VM) (Campbell & Madden, 1990). O índice VM foi calculado com os dados avaliados, dividindo-se a variância pela média ( $VM = \sigma^2/\mu$ ). Valores de  $VM < 1$  significam padrão espacial regular;  $VM = 1$ , padrão casualizado e  $VM > 1$  a agregação de plantas doentes.

#### **4.6 Dinâmica e estrutura dos focos da atrofia dos ramos do cafeeiro**

A análise da dinâmica e estrutura de focos foi realizada considerando-se os mapas da doença a partir das avaliações realizadas pela sintomatologia (sintomas visuais) (Nunes, 1999; Nelson, 1996). Na demarcação de um foco, uma planta doente adjacente a outra planta doente lateral ou longitudinalmente foi considerada parte de um mesmo foco (Nelson, 1996). Ainda de acordo com a metodologia de Nelson (1996), foram determinados o número de focos (NF), o número de plantas por foco (NPF), o número máximo de linhas (nl) e o número máximo de colunas (nc) ocupadas por foco. Desta forma será calculado o índice de forma de foco (IFF) e o índice de compactação por foco (ICF), seguindo-se as seguintes equações:  $ICF = NPF/(nl)(nc)$ ;  $IFF = nl/nc$ .

Para cada método foi calculado o número médio de plantas por foco (NMPF) e a distribuição de frequência de NPF.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Sintomas observados no campo

O sintoma mais evidente relacionado à *X. fastidiosa* colonizando os vasos do cafeeiro foi a presença de ramos com internódios curtos (Figura 5). Este fato foi relatado por Paradela Filho et al. (1995), sendo observada em casos severos, a presença de, no mínimo, o dobro do número de internódios nos ramos, quando comparados com os ramos normais. Ramos de cafeeiro com internódios curtos, quando analisados para a presença de *X. fastidiosa* por microscopia eletrônica e PCR, corresponderam à maior concentração da bactéria na planta Takatsu et al. (2001).

### 5.2 Padrão espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro

Segundo Campbell & Madden (1990), há duas variações na análise de seqüências ordinárias. Na primeira delas, a aleatoriedade do padrão espacial foi testada em cada linha de plantio, determinando-se a proporção de linhas com agregação significativa. Na segunda variação, a agregação foi testada considerando-se a área como um todo.

Para todos os talhões avaliados, considerando-se a área como um todo, foi observada uma tendência á agregação ou formação de reboleira. Nas avaliações individuais, alguns talhões apresentaram índices inferiores a -1,64.

#### 5.2.1 Região Sul de Minas Gerais

##### 5.2.1.1 Município de Lavras

A proporção da ARC aumentou ao longo do tempo nos talhões E01 e G01, assim como a porcentagem de agregação das plantas no campo. No talhão M01, não foi observada variação na proporção de doença e nem no padrão espacial da doença nas três avaliações (Tabela 8).



FIGURA 5 (A) Progresso dos sintomas em planta de café infectada por *Xylella fastidiosa*. (B) Sintomas nos ramos de cafeeiro infectado por *Xylella fastidiosa*, internódios curtos e queda prematura das folhas.

O padrão das plantas doentes no campo foi agregado pelo cálculo de variância média (VM). Os valores de VM foram superiores a 1 em todos os talhões nas três avaliações (Tabelas 8).

TABELA 8. Porcentagem de linhas com padrão agregado ou casualizado para a atrofia dos ramos do cafeeiro, determinada pelas análises de "ordinary runs" e índice VM, em três talhões da cultivar Catuaí Vermelho (E01, M01, G01), em três avaliações, em Lavras, MG.


Data da avaliação	Proporção de doença	Índice <sup>c</sup> VM	"Ordinary runs" <sup>b</sup>	
			Linhas com agregação (%)	Linhas com padrão casualizado (%)
E01 <sup>a</sup>				
17/06/02	49	3,5	83,3	16,7
13/09/02	52	2,7	91,7	8,3
18/12/02	52	2,7	91,7	8,3
M01				
18/06/02	15	2,77	41,7	58,3
14/09/02	15	2,77	41,7	58,3
18/12/02	15	2,77	41,7	58,3
G01				
18/06/02	11	5,45	41,7	58,3
14/09/02	13	3,26	50	50
18/12/02	13	3,26	50	50

<sup>a</sup> Talhão de 1.200 plantas, sendo 100 plantas/12 linhas

<sup>b</sup> e <sup>c</sup> Calculado conforme Madden et al. (1982)

Nas três avaliações durante o ano de 2002, foi constatada a predominância do arranjo agregado de plantas doentes no talhão E01 (Figura 6).

Nesta área, há deficiência generalizada de zinco e boro, de acordo com os técnicos da EPAMIG, responsáveis pela lavoura. Como os sintomas de deficiência são muito relacionados com a sintomatologia da ARC, tal ocorrência



pode estar intensificando os sintomas da doença. Segundo Paradela Filho et al. (1999), fatores como a presença de pragas e outras doenças, a deficiência mineral, o corte das raízes durante os tratamentos culturais, a senescência de plantas e, principalmente o estresse hídrico, predispõem o hospedeiro a expressar os sintomas da ARC.

A alta incidência de plantas sintomáticas neste talhão foi comprovada pela técnica de PCR. Na primeira avaliação, realizada em junho de 2002, 70% das amostras analisadas foram positivas quanto à presença da bactéria no cafeeiro. Neste talhão também já foi relatada a presença das cigarrinhas: *Dilobopterus costalimai*, *Bucephalagonia xanthophis*, *Parathona gratiosa*, *Oncometopia facialis*, *Macugonalia leucomelas* e *Erythrogonia* spp. (Ferreira et al., 2000).

Como a lavoura é margeada por talhões de cafeeiro de outras idades e cultivares e por uma restinga, estas plantas podem estar servindo como escape para as cigarrinhas. No início das brotações novas do cafeeiro estas cigarrinhas voltam à lavoura e disseminam a bactéria para novas plantas. O início das brotações novas coincide com o período de maior flutuação das cigarrinhas, primavera e verão (Ferreira et al., 2000; Santa Cecília et al., 2001).

Este fato é relativamente comum para a CVC nos talhões de citros em que há presença de gradientes da doença, iniciando-se a partir de outros plantios ou de locais com vegetação nativa (Laranjeira, 1997). A transmissão de *X. fastidiosa* pelas cigarrinhas foi mais eficiente quando realizadas na primavera e verão (Pereira, 2000).

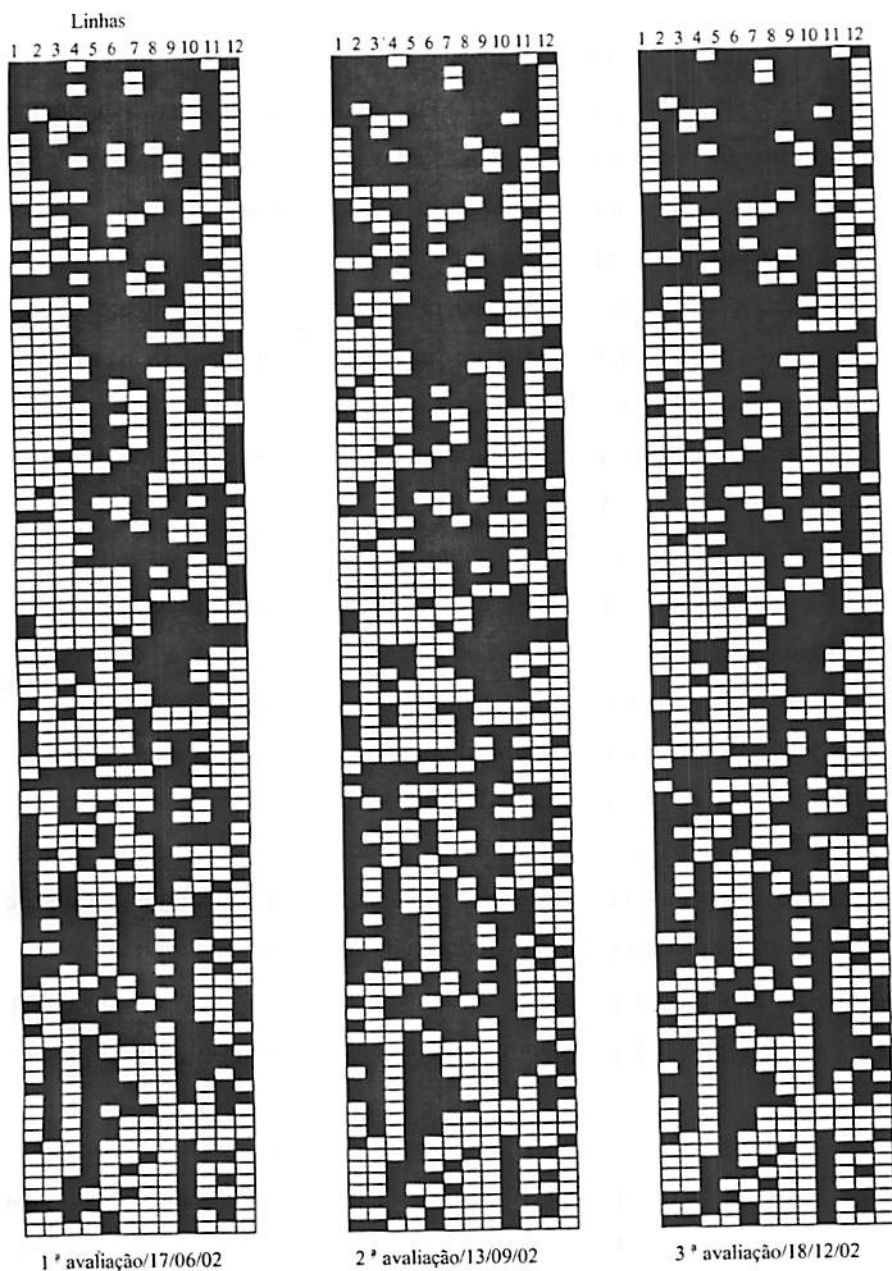


FIGURA 6 Mapas de distribuição espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro, em três épocas do ano de 2002 (junho\setembro\dezembro), no talhão E01. Cada quadrado claro representa uma planta sadia e cada quadro escuro uma planta doente: 100plantas\12linhas.

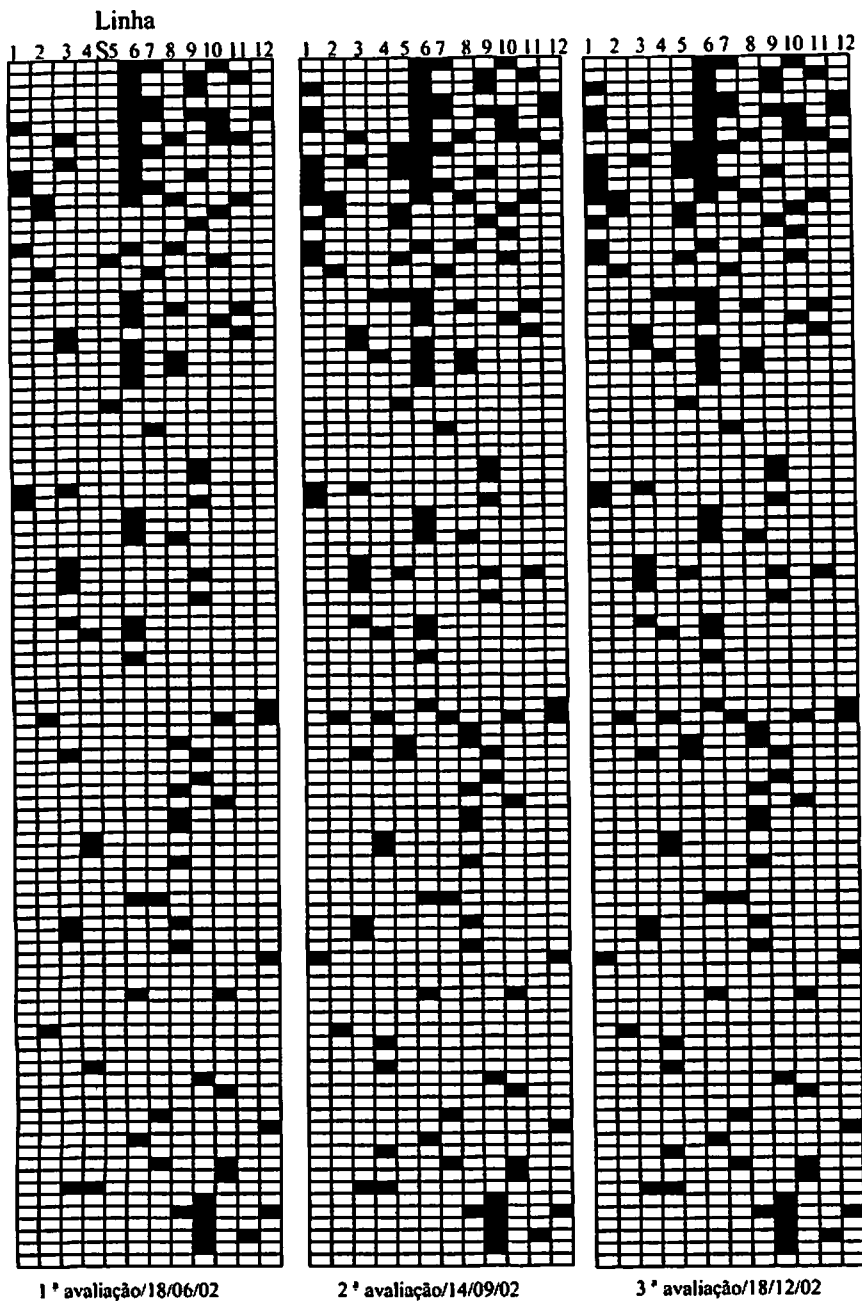


Na segunda avaliação, realizada em setembro, não foi observado aumento na severidade dos sintomas. Porém, a proporção de doença aumentou em 3% (Figura 6). Nesta época, as plantas estavam florescendo e os ramos com internódios curtos estavam com brotos bem viçosos. Na terceira avaliação, não foi observado aumento na proporção de doença.

O maior progresso da CVC na primavera e no verão sugere que os sintomas observados seriam fruto de infecções anteriores. Dessa forma, primavera e verão, além de serem as épocas de maior expressão dos sintomas, também corresponderiam aos períodos de maior probabilidade de infecção (Laranjeira, 1997; Palazzo & Carvalho, 1992).

No talhão G01, também no município de Lavras, a porcentagem de plantas distribuídas aleatoriamente e agregadas foi a mesma (Figura 7). Nesta área foram observadas reboleiras de plantas com sintoma de murcha generalizada e até plantas mortas. Um estudo simultâneo de fusariose no cafeeiro está sendo realizado com resultados ainda não publicados (Almeida, 2003). Os isolados de *X. fastidiosa*, ARA 3A e ARA 3B (Tabela 4 – capítulo 2) foram isolados de plantas com sintomas de fusariose. Destas mesmas plantas foram isoladas espécies de *Fusarium* (Almeida, 2003). A sintomatologia de murcha e morte de plantas não é característica da ARC, podendo estar ocorrendo um complexo entre esses patógenos. A patogenicidade da bactéria e do fungo em cafeeiro e o quadro sintomatológico resultante da interação ainda não está esclarecida.

Matiello & Almeida (1998) observaram o escurecimento nos vasos do cafeeiro associados à presença de *X. fastidiosa*. Deste modo, relacionaram uma possível interação com *Fusarium*, pois esse sintoma ocorre em infecções causadas por este fungo.



**FIGURA 7** Mapas de distribuição espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro em três épocas do ano de 2002 (junho\setembro\dezembro), n talhão G01. Cada quadrado claro representa uma planta sadia e cada quadro escuro uma planta doente: 100plantas\12linhas.

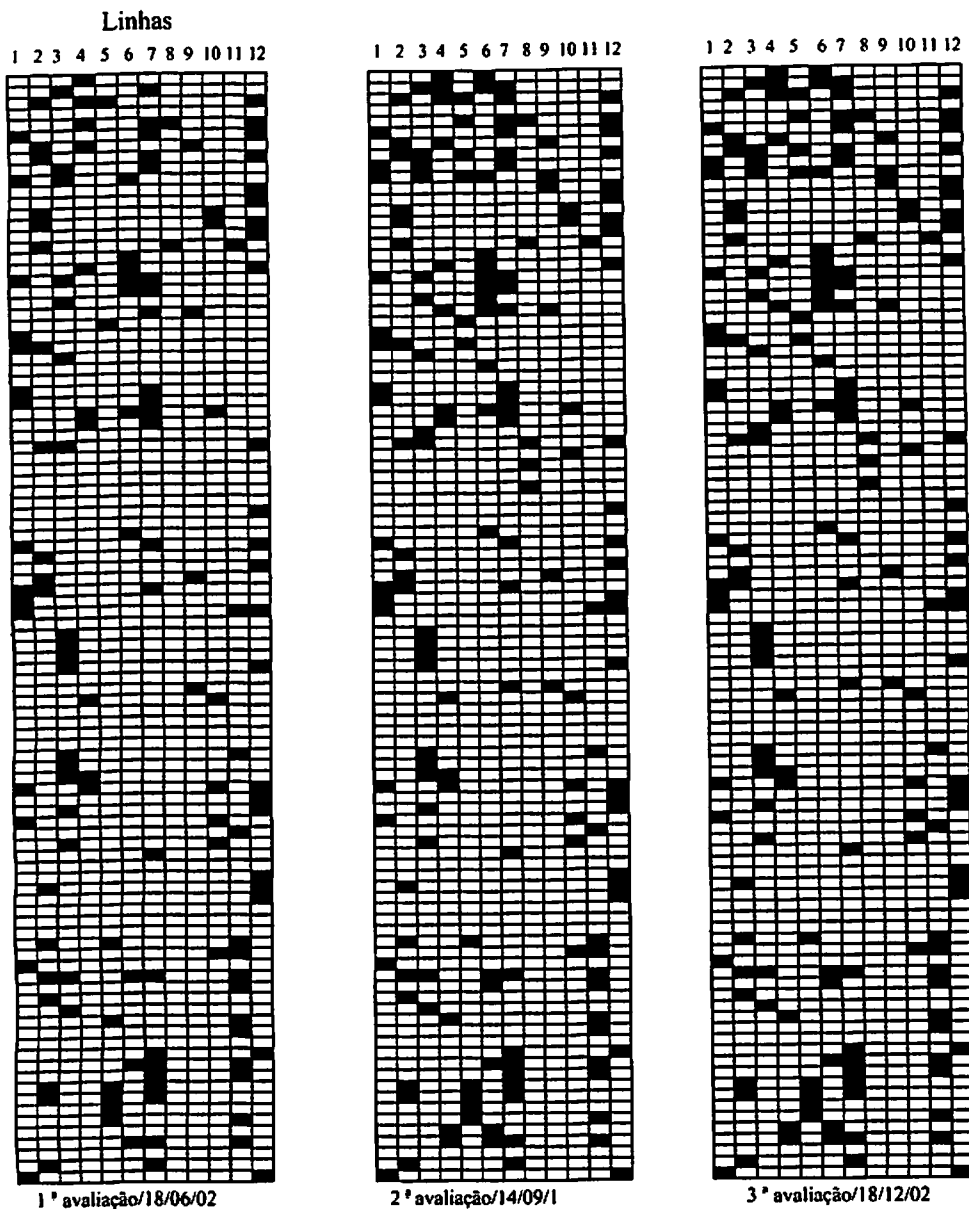
No talhão M01 (Figura 8), as plantas doentes estavam distribuídas aleatoriamente. Este fato pode estar relacionado com o início de uma epidemia. O talhão é margeado por outras lavouras de mesma idade e uma pequena restinga. Apesar dessas plantas servirem de escape para as cigarrinhas, é provável haver pouco inóculo no campo. Esta observação corrobora com a de Carvalho et al. (2000), cafeeiros com idade abaixo de 5 anos, a porcentagem de plantas infectadas é de 36% no estado do Paraná.

Na avaliação seguinte, poucas plantas sintomáticas foram acrescentadas à planilha (Tabela 8). Estas plantas muitas vezes não estavam localizadas próximo às plantas anteriormente marcadas, indicando que o patógeno não está sendo disseminado de planta a planta, mas sim em função do movimento do vetor. Para citros, Laranjeira (2002) relatou a existência de áreas com maior concentração de plantas doentes em uma gleba, porém, o aparecimento dessas plantas não se deu de maneira organizada.

#### 5.2.1.2 Município de Elói Mendes e Varginha, MG

No município de Elói Mendes, MG, nos talhões SR01 e SR02, com plantas de 10 e 5 anos de idade, predominou o arranjo das plantas doentes em reboleira (Figura 9). No talhão IS01, no município de Varginha, MG, com plantas de 12 anos, o padrão da doença foi casualizado (Tabela 9).

O padrão das plantas doentes no campo foi agregado pelo cálculo de variância média (VM). Os valores de VM foram superiores a 1 em todos os talhões avaliados (Tabelas 9).



**FIGURA 8** Mapas de distribuição espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro, em três épocas do ano de 2002 (junho\setembro\dezembro), no talhão M01. Cada quadrado claro representa uma planta sadia e cada quadro escuro uma planta doente: 100 plantas\12 linhas.

TABELA 9 Porcentagem de linhas com padrão agregado ou casualizado determinada pelas análises de “ordinary runs” e índice VM, para a atrofia dos ramos do cafeeiro, em três talhões da cultivar Catuai Vermelho (SR01, SR02, IS01), nos municípios de Elói Mendes e Varginha, MG.

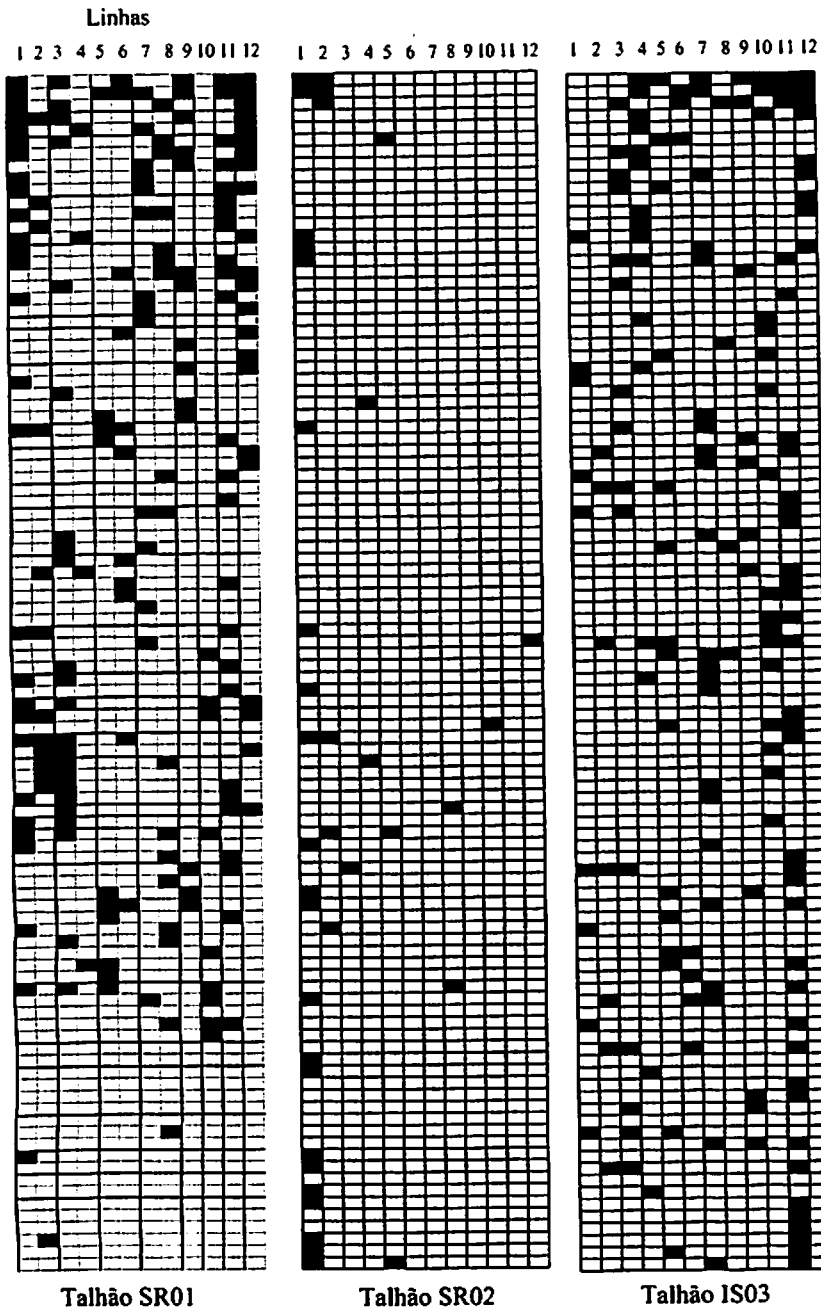
Talhão	Proporção de doença	Índice VM	“Ordinary runs” <sup>b</sup>	
			Linhas com agregação (%)	Linhas com padrão casualizado (%)
SR01 <sup>a</sup>	16	11,76	66,7	33,3
SR02	3,25	3,34	66,7	33,3
IS01	14	4,83	41,7	58,3

<sup>a</sup> Talhão de 1200 plantas, sendo 100 plantas/12 linhas

<sup>b</sup> Calculado conforme Madden et al. (1982)

Considerando-se o talhão SR02, com 3% de incidência, como sendo o início de uma epidemia, a agregação de plantas corrobora com Laranjeira (2002), em observações na cultura da laranja.

No talhão IS01, com 12 anos de idade, 58% das plantas estavam distribuídas aleatoriamente. Entretanto, vale ressaltar que nesta lavoura algumas plantas foram podadas em 2000. Desta forma, na coleta de dados para o padrão da doença, foram analisadas plantas não podadas e brotações. A poda contribui para a recuperação do cafeeiro por um período de três anos, até que a bactéria volte a colonizar as brotações (Takatsu et al., 2001). Assim, algumas plantas não podadas neste período expressaram o sintoma da ARC e as brotações ainda permaneceram sem sintomas, justificando o padrão aleatório destas plantas. As análises por PCR que apresentaram resultado negativo em relação à presença de *X. fastidiosa* nestas brotações confirmam o estudo de Takatsu et al. (2001).



**FIGURA 9** Mapas de distribuição espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro, município de Varginha, MG. Cada quadrado claro representa uma planta sadia e cada quadro escuro planta doente: 100plantas\12linhas.

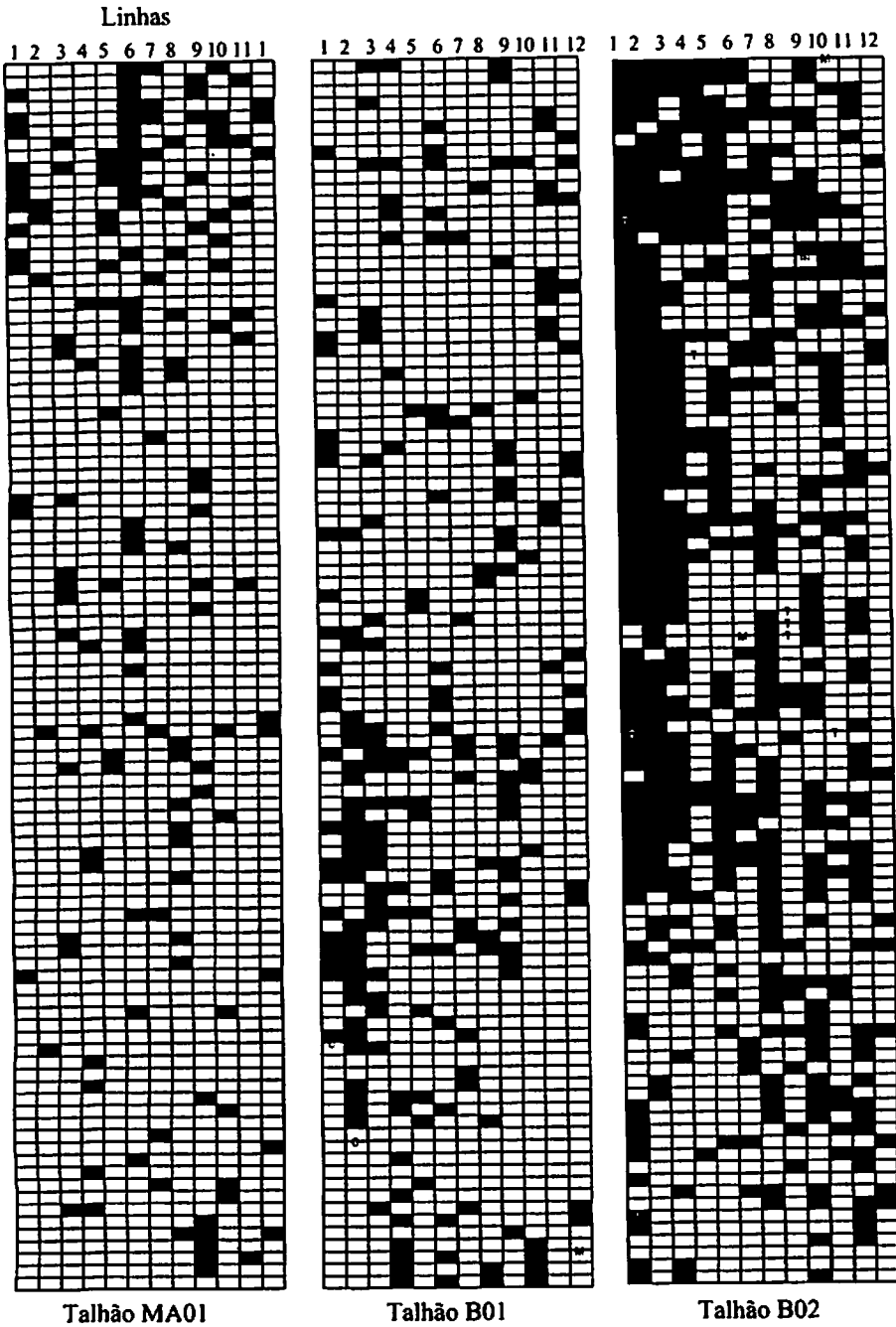
Plantas marcadas na planilha como sintomáticas também apresentaram resultados negativos por PCR. Este fato pode ser explicado pela variação sazonal da bactéria durante o ano (Pereira, 2000). Outra observação seria o fato da diluição das amostras analisadas em função dos compostos fenólicos do cafeeiro inibirem a reação de PCR. Esta diluição pode ter interferido no resultado final das amostras com número de células bacterianas no xilema muito baixo. A distribuição da bactéria na planta é irregular, conforme constatado por Coletta Filho et al. (1997) em laranjeira, e este seria outro fator da dificuldade de detecção em algumas amostras.

### **5.2.2 Região da Zona da Mata de Minas Gerais**

Para todos os talhões avaliados, considerando-se 1.200 plantas e uma fileira, ou seja, a área como um todo foi observada uma tendência ao agrupamento ou formação de reboleira. Nas avaliações individuais (100 plantas/fileira em 12 fileira), alguns talhões apresentaram padrão casualizado.

#### **5.2.2.1 Município de Araponga, MG**

Os talhões B01 e B02 (Figura 10) apresentaram padrões diferentes de 50% a 75% das plantas agregadas (Tabela 10). Com 18% de plantas doentes no talhão B01, 50% destas plantas estão distribuídas aleatoriamente no talhão e 50% estão em reboleira. Como os dois talhões avaliados pertencem à mesma lavoura, ficou claro o progresso da doença. No início da epidemia sob baixa incidência de plantas doentes, o padrão tende a ser casualizado.



**FIGURA 10** Mapas de distribuição espacial da atrofia dos ramos do cafeeiro, em três lavouras na região de Viçosa, MG. Cada quadrado claro representa uma planta sadia e cada quadro escuro planta doente: 100 plantas \ 12 linhas.



### 5.2.2.2 Município de Canaã, MG

Esta aleatoriedade de plantas doentes ocorre sob a incidência de 7,5% do talhão MA01. Passando para 45% de incidência, há agregação das plantas doentes, corroborando com os 75% observados no talhão B02.

O padrão das plantas doentes no campo foi agregado pelo índice de variância média VM. Os valores de VM foram superiores a 1 em todos os talhões avaliados (Tabela 12).

TABELA 10 Porcentagem de linhas com padrão agregado ou casualizado determinada pelas análises de “ordinary runs” e índice VM, para a atrofia dos ramos do cafeeiro, em três talhões da cultivar Catuaí Vermelho (B01, B02, MA01), na Zona da Mata de Minas Gerais

Talhão	Proporção de doença	Índice VM	“Ordinary runs” <sup>b</sup>	
			Linhas com agregação (%)	Linhas com padrão casualizado (%)
B01 <sup>a</sup>	18	2,71	50	50
B02	45	10,15	75	25
MA01	7,5	4,16	41,7	58,3

<sup>a</sup> Talhão de 1200 plantas, sendo 100 plantas/12 linhas

<sup>b</sup> Calculado conforme Madden et al. (1982)

A agregação de plantas doentes foi comprovada também para a CVC por meio da análise do índice de dispersão da doença ( $I\beta$ ). Quando a incidência da doença foi de 11%, baixa incidência da CVC, o padrão de distribuição da doença foi casualizado (Roberto et al., 2002).

Foi observada a ocorrência de *Meloidogyne* sp. nas plantas do talhão B02. A interação de *X. fastidiosa* com nematóides em cafeeiro já foi relatada por Souza et al. (1998). As amostras analisadas por PCR nestas áreas não foram positivas. Deste modo, os sintomas observados podem estar associados à

presença do nematóide, intensificando os sintomas no campo. Porém, a presença de *X. fastidiosa* na área foi confirmada em avaliações anteriores (Capítulo 2).

### 5.3 Dinâmica e estrutura dos focos da atrofia dos ramos do cafeeiro na região Sul de Minas Gerais e Zona da Mata

Na avaliação realizada nos municípios de Elói Mendes e Varginha, no Sul Minas, os focos apresentaram tamanhos, em média, inferiores a três plantas até 16% de incidência. Os focos também apresentaram tamanhos, em média, inferiores a três plantas, até 18% de incidência, nos municípios de Araponga e Canaã, na região da Zona da Mata de Minas Gerais (Tabela 11).

TABELA 11 Número de focos, número de plantas por foco e focos unitários avaliados por sintomas visuais da ARC no Sul Minas Gerais e Zona da Mata.

Talhão	Sintomas					
	Proporção de doença	NF <sup>a</sup>	Foco unitário	NMPF <sup>b</sup>	ICF <sup>c</sup>	IFF <sup>d</sup>
SR01	16	65	31	2,86	0,84	0,96
SR02	3,25	24	15	1,58	0,97	1,37
IS03	14	82	52	2,04	0,97	1,27
MA01	7,5	54	36	1,7	0,90	1,06
B01	18	69	24	3,17	0,83	1,49
B02	45	40	16	13,35	0,81	1,68

<sup>a</sup>Número de focos

<sup>b</sup>Número médio de plantas por foco

<sup>c</sup>Índice de compactação de foco

<sup>d</sup>Índice de forma de foco

No talhão SR01, com 16% de doença, foram observados 65 focos de doença e 31 focos unitários. No talhão SR02, com incidência bem inferior, 3,25%, o número de focos foi bem menor. É evidente o aumento da incidência e consequente aumento do número de focos. No entanto, como observado no talhão B02 com incidência de 45%, o número de focos é bem menor em relação ao observado no talhão B01, com 18% de incidência. A maior incidência reflete na coalescência de plantas doentes atribuída a menores tamanhos de foco.

#### **5.4 Dinâmica e estrutura dos focos da atrofia dos ramos do cafeeiro, ao longo do tempo, na região Sul de Minas Gerais**

Em todos os talhões avaliados ao longo do tempo verificou-se aumento na proporção de plantas doentes. Com o aumento da incidência também foi observada diminuição no ICF e aumento no IFF (Tabela 12).

A maior incidência, no talhão E01, caracterizou a coalescência das plantas ao longo do tempo, corroborando com o menor número de focos na segunda avaliação (Tabela 12). Com o aumento da incidência, ou seja, aumento no número de plantas por foco, ocorreu coalescência das plantas doentes, uma vez que o número de focos unitários diminuiu, assim como o número de focos.

Com o aumento do número de focos, ocorreu similar elevação no número de focos unitários em talhões com baixa incidência. Com 13% de incidência no talhão G01 na segunda avaliação, foi observado aumento no número de focos e no número de focos unitários. Dessa forma, plantas isoladas estão servindo como fonte de inóculo para as sadias. A coalescência das plantas doentes foi verificada a partir de 15% de incidência. O número de focos diminuiu e o número de focos unitários também.

Os focos apresentaram tamanhos, na média, inferiores a três plantas, nas três avaliações, com até 15% de incidência. Com metade das plantas doentes, o número de plantas por foco foi superior a 25 plantas.

Como os valores do índice de forma do foco (IFF) são superiores a 1, a doença está se disseminando ao longo da linha de plantio, em função do aumento no comprimento do foco em relação à largura. Os valores do índice de compactação dos focos (ICF) foram menores com o aumento da incidência.

Tabela 12 Número de focos e número de plantas por foco e focos unitários avaliados por sintomas visuais da ARC, em três avaliações no município de Lavras, MG.

Data da avaliação	Sintomas					
	Proporção de doença	NF <sup>a</sup>	Foco unitário	NMPF <sup>b</sup>	ICF <sup>c</sup>	IFF <sup>d</sup>
<b>E01<sup>a</sup></b>						
17/06/02	49 <sup>1</sup>	23	11	25,65	0,87	1,85
13/09/02	52	20	7	31,45	0,88	1,97
18/12/02	52	20	7	31,45	0,88	1,97
<b>M01</b>						
18/06/02	15	77	39	2,01	0,88	1,32
14/09/02	15	75	38	2,41	0,85	1,23
18/12/02	15	75	38	2,41	0,85	1,23
<b>G01</b>						
18/06/02	11	65	37	1,93	0,86	1,36
14/09/02	13	71	39	2,17	0,88	1,37
18/12/02	13	71	39	2,17	0,88	1,37

<sup>1</sup>Primeiro valor refere-se à primeira avaliação e assim, sucessivamente

<sup>2</sup>Valores médios observados nos nove talhões

<sup>a</sup>Número de focos

<sup>b</sup>Número médio de plantas por foco

<sup>c</sup>Índice de compactação de foco

<sup>d</sup>Índice de forma de foco

<sup>e</sup>ava. (avaliação)

Desse modo, a disseminação da doença não ocorre de forma homogênea ao redor de uma primeira planta afetada, observando-se o menor índice de compactação de foco no talhão E01 com maior incidência.

Os focos das plantas afetadas pela ARC são pequenos de acordo com o NMPF, nas duas regiões. A mesma observação foi relatada para a cultura da laranja (Nelson, 1996; Laranjeira, 1998). No padrão dos focos da CVC ocorreu pico de número de focos ao redor dos 25% de incidência, havendo uma diminuição progressiva até um foco por mil plantas, entre 60% e 70% (Laranjeira, 1997). Em sua grande maioria, os focos têm formato isodiamétricos. Para o índice de compactação de focos, Laranjeira et al. (1998) relataram uma diminuição acentuada nestes valores com o aumento da incidência.

Segundo Laranjeira et al. (1998), os focos da CVC apresentaram tamanhos, em média, inferiores a dez plantas até 30% de incidência. Neste mesmo trabalho, foi observado que, no início da epidemia, os focos unitários servem como fonte de inóculo. Com o progresso dos sintomas ocorre a coalescência das plantas doentes e diminuição no número de focos.

Os valores médios do índice de compactação de foco (ICF) foram praticamente iguais: 0,87 pela avaliação em todos os municípios e em três avaliações em Lavras, MG. O comprimento maior do que a largura, apresentado pelos focos, determinados por sintomas e verificado pelo do índice de forma de foco (IFF), são bastante similares aos resultados obtidos por Nelson (1996), Laranjeira (1998) e Nunes (1999). Estes autores observaram que, a partir de uma incidência de 40%, ocorreu um aumento no IFF.

Nunes (1999) observou que o IFF apresentou valores diferentes quando as plantas foram analisadas pelo DIBA em relação às avaliadas pela sintomatologia. IFF menores, ou seja, focos com largura maior, foram observados devido à detecção da bactéria em plantas assintomáticas. O número de plantas doentes no foco foi maior por sintomas. Em cafeeiro aparentemente

sadio também foi detectada a presença da bactéria (Ribas et al., 1998; Ishida et al., 2001) vale ressaltar a importância da utilização de métodos mais sensíveis para o estudo da epidemiologia da ARC, para maior eficiência na detecção da incidência no campo.

## 6 CONCLUSÕES

O sintoma mais evidente relacionado à *X. fastidiosa* colonizando os vasos do cafeeiro foi a presença de ramos com internódios curtos.

O padrão espacial das plantas doentes nas regiões avaliadas pode ser caracterizado como agregado.

Lavouras mais novas apresentaram arranjo aleatório das plantas doentes no campo.

Os valores do índice de compactação dos focos (ICF) foram menores com o aumento da incidência.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 4.ed. San Diego, Califórnia: Academic, 1997. 635p.

ALMEIDA, A.R. **Espécies de *Fusarium* associadas ao cafeeiro (*Coffea arabica*)**. 2003. 87p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: J. Wiley, 1990. 532p.

CARVALHO, F.M.S.; MENEGUIM, L.; LEITE Jr., R.P. Levantamento da distribuição de *Xylella fastidiosa* associada a *Coffea* spp. em regiões cafeeiras do Paraná. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000, Poços de Caldas, MG. **Resumos ....** Poços de Caldas, MG: Embrapa Café, 2000. v.1. p.287-290.

COLETTA FILHO, H.D.; CARLOS, E.F.; MACHADO, M.A. Distribuição da bactéria *Xylella fastidiosa* em plantas de laranja. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, p.234, 1997. (Suplemento).

FERRANDINO, F.J. Past nonrandomness and agregation to spacial cprrelation: 2DCORR, a new approach for discrete data. **Phytopathology**, v.88, p.84-91, 1998.

FERREIRA, A.C.; MORAES, J.C.; SOUZA, B. Levantamento de espécies de cigarrinhas (Cicadellidae), possíveis transmissoras do amarelinho ou requeima do cafeeiro, em Lavras – MG. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFLA, 8., 2000, Lavras, MG. **Resumos...** Lavras, MG: Editora UFLA, 2000. p.233.

GOTTWALD, T.R.; RICHIE S.M.; CAMPBELL, C.L. LCOR-2 Spacial correlation analysis for the personl computer. **Plant Disease**, v.76, p.213-215, 1992.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M. ; CAVALCANTI, L.S. Levantamento da ocorrência de *Xylella fastidiosa* em cafeeiros na região Sul de Minas Gerais. **Summa Phytopathologica**, v.27, n.1, p.117, 2001.



LARANJEIRA, F.F. **Dinâmica temporal e espacial da clorose variegada dos citros**. 1997. 142p.Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.

LARANJEIRA, F.F. **Epidemiologia da clorose variegada dos citros no Estado de São Paulo**. 2002. 158p.Dissertação (Doutorado em Fitopatologia)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" Piracicaba.

LARANJEIRA, F.F.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Dinâmica e estrutura de focos da clorose variegada dos citros (CVC)**. **Fitopatologia Brasileira**, v.23, p.36-41, 1998.

LOPES, J.R.S. Estudos com vetores de *Xylella fastidiosa* e implicações no manejo da clorose variegada dos citros. **Laranja**, v.20, n.2, p.329-344, 1999.

MADDEN, L.V. ; HUGHES, G. Plant disease incidence, distribution, heterogeneity and temporal analysis. **Annual Review of. Phytopathology**, v.33, p.529-564, 1995.

MADDEN, L.V. et al. Evolution of tests of randomness of infected plants. **Phytopathology**, v.72, p.195-198, 1982.

MATIELLO, J.B.; ALMEIDA, S.R. Escurecimento dos vasos nas hastes e em ramos laterais e mortalidade de cafeeiros, no Sul de Minas e na Bahia, associados à presença de *Xylella fastidiosa*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 24., 1998, Poços de Caldas, MG. **Resumos ...Poços de Caldas, MG: Editora Reoproarte 1998. p 1.**

MATIELLO, J.B. et al. **Cultura de café no Brasil – novo manual de recomendações**. Rio de Janeiro,RJ; Varginha,MG: Ministério da Agricultura, da Pecuária e do Abastecimento – SARC/PROCAFÉ – SPC/DECAF, 2002.387 p.

MINSAVAGE, G.V. et al. Development of a polymerase chain reaction protocol for detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue. **Phytopathology**, v.84, n.5, p.456-461, 1994.

NELSON, S.C. A simple analysis of disease foci. **Phytopathology**, v.86, p.332-339, 1996.

NUNES, W.M.C. **Epidemiologia da clorose variegada dos citros (CVC) avaliada por sintomas e diagnóstico serológico e molecular de *Xylella fastidiosa***. 1999. 144p. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas)-Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

PALAZZO, D.A., CARVALHO, M.L.V. Desenvolvimento e progresso da clorose variegada dos citros (CVC) em pomares de Colina, SP. **Laranja**, v.13, n.2, p.489-502, 1992.

PARADELA FILHO, O. et al. Primeira constatação em cafeeiro no Brasil da *Xylella fastidiosa*, causadora da Clorose Variegada dos Citros. **Laranja**, v.16, n.2, p.135-136, 1995.

PARADELA FILHO, O. et al. **Atrofia dos ramos do cafeeiro, causada por *Xylella fastidiosa***. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 1999. 10p. (Boletim Técnico, 182)

PEREIRA, E.F. **Estudo de fatores sazonais relacionados à transmissão de *Xylella fastidiosa* em pomares de citros**. 2000. 82p. Dissertação (Mestrado em Entomologia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba

PINTO, F.G.S ; LEITE Jr., R.P. Detecção de *Xylella fastidiosa* em *Coffea* spp. através da técnica de PCR. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, p.254(S), 1999.

RIBAS, A.F.; UENO, B.; LEITE JUNIOR, R.P. Estudos sobre a presença de *Xylella fastidiosa* em cafeeiro não depauperado e depauperado. **Summa Phytopathologica**, v.24, n.1, p.64, 1998.

ROBERTO, S.R.; FARIAS, P.R.S.; BERGAMIN FILHO, A. Geostatistical analysis of spatial dynamics of Citrus Variegated Chlorosis. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p. 599-604, 2002.

SANTA-CECÍLIA, L.V.C. et al. Levantamento e flutuação populacional de vetores de *Xylella fastidiosa* em cafeeiros no Estado de Minas Gerais. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1, 2000, Poços de Caldas, MG. **Resumos ... Poços de Caldas, MG: Embrapa Café 2000**. v.1, p.1193-1196.

SOUZA, S.E. et al. Detecção de *Xylella fastidiosa* e *Meloidogyne* sp. associados a cafeeiro no Planalto de Vitória da Conquista, BA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 24., 1998, Poços de Caldas, MG. **Resumos... Poços de Caldas: Editora Reproarte, 1998**. p.165.

TAKATSU, A.; SANTOS, M.R.; MALUF, R.C. *Xylella fastidiosa* do cafeeiro no Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2, 2001, Vitória-ES. Resumos... Vitória, ES, : Embrapa Café 2001. p.1234-1241.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O primeiro relato de *Xylella fastidiosa* em cafeeiro foi feito em 1995, no estado de São Paulo por Paradella Filho e colaboradores. Desde então, estudos preliminares têm evidenciado a distribuição dessa bactéria por vários estados produtores. Entretanto, estudos mais aprofundados sobre a associação e distribuição do patógeno nas lavouras, evidenciando a real dimensão do problema, ainda não tinham sido feitos.

Os resultados obtidos no presente estudo permitiram concluir que *X. fastidiosa* está disseminada nos cafeeiros das regiões Sul e Zona da Mata de Minas Gerais, tanto em plantas com sintomas característicos da atrofia dos ramos do cafeeiro quanto em plantas aparentemente saudias. Os sintomas típicos observados foram a presença de internódios curtos nos ramos, folhas cloróticas e a formação de um tufo de folhas no ápice dos ramos. A avaliação visual dessas plantas requer treinamento de acurácia e precisão do avaliador porque os sintomas podem ser confundidos com a deficiência mineral, freqüentemente observada nas lavouras. Neste sentido, as técnicas moleculares são ferramentas usuais e importantes para auxiliar a diagnose.

A proporção de plantas com a presença da bactéria foi inferior a 50%, sendo relativamente menor ao que já foi publicado para outros estados.

A maior percentagem de amostras infectadas foi detectada em cafeeiros com mais de 10 anos de idade.

A presença da bactéria em plantas aparentemente saudias sugere que a bactéria, assim como constatado para algumas espécies fúngicas, poderia ser um organismo endofítico no cafeeiro. Em condições de estresse ambiental, como hídrico, nutricional e de temperatura, esse organismo agiria na fisiologia da planta e os sintomas seriam expressos.

O padrão espacial das plantas doentes nas regiões avaliadas foi caracterizado como agregado, ou seja, formação de reboleiras, exceto para as lavouras novas que apresentaram arranjo aleatório das plantas doentes no campo. Este fato poderá corroborar com as práticas de manejo das lavouras, intensificando-se os tratos culturais apenas nas áreas afetadas, diminuindo-se assim os gastos do produtor.

Os objetivos desse trabalho foram criar subsídios para a adoção no campo de medidas eficientes de manejo da lavoura e responder às principais dúvidas dos produtores quanto à atrofia dos ramos do cafeeiro. Dessa maneira, há a necessidade de se continuar esses estudos. A pesquisa realizada foi básica e portanto alguns detalhes precisam ainda ser esclarecidos. Assim, o acompanhamento das lavouras analisadas é primordial por causa do lento desenvolvimento da bactéria e por ser o café uma cultura perene.

A cultura cafeeira é responsável pela geração de empregos nas lavouras, armazéns e indústria. É uma “*commodity*” importante, como fonte de divisa, por meio de sua exportação e/ou comercialização interna. O fato de ser *Xylella fastidiosa* o mesmo patógeno da clorose variegada dos citros (CVC) e da escaldadura das folhas da ameixeira enfatiza ainda mais a necessidade de pesquisas, tendo em vista o grande prejuízo causado nestas culturas.

