

HISTOLOGIA DE RAMOS DO CAFEIEIRO (*Coffea arabica* L.) COM MANCHA MANTEIGOSA CAUSADA POR *Colletotrichum* spp.

Igor S. PEREIRA¹ (igoreloi@yahoo.com.br), Mario S. ABREU², Josimar B. FERREIRA¹, Eduardo ALVES³.

¹ Doutorando, ²Professor titular, ³Professor adjunto. (Departamento de Fitopatologia – Universidade Federal de Lavras, CP. 37, 37200-000, Lavras, MG/Projeto financiado pelo CBP&D-Café)

Resumo:

Em cafeeiros que apresentam sintomas da mancha manteigosa, a seca prematura dos ponteiros destaca-se como um dos mais importantes sintomas desta enfermidade. Ataques intensos são observados em ramos novos em plantas adultas, durante a fase de maior vegetação, principalmente nos meses de outubro a fevereiro. Esta doença, cujo agente etiológico é o *Colletotrichum gloeosporioides*, ainda é pouco estudada, principalmente no que se refere aos processos de infecção e colonização. Através de estudos histopatológicos, é possível incrementar o conhecimento sobre este patossistema. Este trabalho foi realizado no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-estrutural (LME) da Universidade Federal de Lavras, MG, com o objetivo de se observar a colonização de ramos de cafeeiro com mancha manteigosa por *C. gloeosporioides* através da microscopia eletrônica de varredura. Nos ramos podem-se observar uma intensa colonização dos vasos do xilema, floema, células do parênquima do xilema e tecido cortical. Estes resultados confirmam que *C. gloeosporioides* é capaz de colonizar vários tecidos dos ramos e isto pode ser uma das causas da murcha de ramos que ocorre em cafeeiros com mancha manteigosa.

Palavras-chave: *Coffea arabica* L., *Glomerella cingulata*, microscopia eletrônica de varredura.

HISTOLOGICAL ASPECTS OF BRANCHES OF COFFEE TREE (*Coffea arabica* L.) WITH BLISTER SPOT CAUSED BY *Colletotrichum* spp.

Abstract:

Coffee trees with blister spots show symptoms of wilting of younger leaves and dieback of branches. Severe attacks are observed in new branches in adult plants, during intense vegetative growth of trees, particularly from October to February. This disease, caused by *Colletotrichum gloeosporioides*, is still poorly studied. Through histopathological studies, is possible to improve the knowledge of this pathosystem. This work was carry out in Electron Microscopy and Ultra-structural Analysis Laboratory (LME) of the Federal University of Lavras, Lavras, MG, Brazil. The objective was to observe through the scanning electron microscopy the colonization of coffee trees branches with blister spot by *C. gloeosporioides*. In the branches, it was observed an intense colonization of the vessels of the xylem, phloem, cells of the parenchyma of the xylem and cortical tissues. This colonization is one of the responsible for the wilt of branches that occurs in coffee trees with blister spot.

Key words: *Coffea arabica* L., *Glomerella cingulata*, scanning electron microscopy.

Introdução

A cultura do café está sujeita ao ataque de várias doenças, cuja intensidade e os prejuízos causados variam de região para região ou mesmo dentro de uma mesma região. Dentre as doenças que ocorrem no cafeeiro, as ocasionadas por *Colletotrichum* são muito importantes e pouco estudadas. Três espécies são reconhecidas afetando o cafeeiro, *C. acutatum*, *C. gloeosporioides* e *C. kahawae*, sendo esta última espécie restrita ao continente africano (Orozco *et al.*, 2003).

As doenças ocasionadas por *Colletotrichum* spp. no Brasil é a antracnose em folhas, frutos e ramos (queima-castanha); seca de ponteiros e a mancha manteigosa (Orozco, 2003). Dentre estas doenças, a mancha manteigosa tem despertado grande preocupação, uma vez que os cafeeiros doentes têm sua produção reduzida (Costa *et al.*, 2003; Ferreira *et al.*, 2005).

Os sintomas desta enfermidade são manchas de coloração verde-claro em folhas novas, de aspecto oleoso e menos brilhante que o limbo foliar. No estágio mais avançado, as manchas apresentam-se deprimidas, necróticas, cor marrom-claro e bordas irregulares. Estas folhas caem prematuramente, e os ramos infectados apresentam intensa murcha descendente levando à sua seca. Nos frutos estas lesões são circulares e deprimidas, ocorrendo sua queda prematura. Os ataques mais intensos da doença ocorrem nas folhas e ramos novos em plantas adultas durante a fase de maior vegetação (Bitancourt, 1958). Com o decorrer dos anos, as plantas doentes têm perda dos ramos plagiotrópicos medianos causando cinturamento e levando à perda de sua capacidade produtiva (Ferreira *et al.*, 2005).

Os processos de infecção e colonização das espécies de *Colletotrichum* em cafeeiro são pouco entendidos sendo de extrema importância para o desenvolvimento de estratégias efetivas de controle (Bailey, 1992).

Neste gênero, o processo de infecção envolve uma sequência comum de eventos composto por: adesão do conídio, germinação, elongação do tubo germinativo, formação do apressório, desenvolvimento de *peg* de infecção, penetração de células epidérmicas, crescimento das hifas intracelularmente, necrose celular e desenvolvimento de lesões (Jeffries *et al.*,

1990). Para se compreender tais processos, a microscopia eletrônica de varredura (MEV) pode proporcionar inestimáveis contribuições, uma vez que o poder de resolução desta ferramenta é elevado, chegando a 1 nm, além da relativa facilidade que há no preparo das amostras biológicas (Alves, 2004).

Até o presente trabalho, estudos histopatológicos visando a observação interna de ramos com seca descendente provenientes de cafeeiros com mancha manteigosa envolvendo a MEV não haviam sido feitos.

Objetivou-se neste trabalho examinar através de MEV a colonização de *Colletotrichum* spp. em ramos seca descendente e necrose provenientes de cafeeiros (*C. arabica* L.) com mancha manteigosa.

Material e Métodos

O preparo e observação das amostras em MEV foram realizados no Laboratório de Microscopia e Análise Ultra-Estrutural no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Utilizaram-se ramos de café da cultivar Catucaí Vermelho em seleção os quais apresentavam sintomas da enfermidade mancha manteigosa e com murcha e necrose local. Fez-se cortes de fragmentos do ramo medindo até 3 cm de comprimento selecionando-se pedaços da zona de transição entre a região murcha e sem murcha detectável, posteriormente foram imersos em fixador karnovsky's modificado até seu completo preparo.

Posteriormente à imersão em solução fixativa por um período de no mínimo 24 h, cinco ou mais fragmentos de cada tratamento foram transferidos para uma solução de glicerol a 30% por 30 minutos e colocados em nitrogênio líquido onde se fez as fraturas. Essas fraturas eram tanto no sentido longitudinal quanto transversal dos ramos.

Esses fragmentos foram imediatamente imersos em solução tampão de caccodilato (0,05M) e lavados neste três vezes durante 10 minutos. Em seguida foram transferidos para uma solução de tetróxido de ósmio 1% em água por 2 horas, lavados em água destilada por três vezes, desidratadas em uma série acetônica e imediatamente submetidas ao aparelho de Ponto Crítico Balzers CPD 030. Posteriormente foram montadas sobre *stubs*, cobertos com ouro no evaporador Balzers SCD 050 e examinados com o microscópio eletrônico de varredura LEO EVO 40.

Resultados e Discussão

A partir do material examinado pode-se observar a colonização dos tecidos de ramos do cafeeiro. A metodologia na qual se utilizou glicerol 30% por 30 minutos como crioprotetor foi adequada para realização dos cortes e posterior observação em MEV.

A partir de cortes transversais foi possível diferenciar os tecidos afetados (com a presença de micélio) daqueles sem a presença do fungo.

Nos tecidos doentes houve uma intensa colonização dos vasos do xilema e floema, nas células do parênquima do xilema e tecido cortical. Nestas regiões pode-se observar um intenso crescimento de hifas sendo estas então, umas dos responsáveis pela murcha apresentada. A colonização de *Colletotrichum* spp. associado ao cafeeiro ocorre sistemicamente, onde a partir de um ponto de entrada transloca-se tanto de modo descendente quanto ascendente, havendo entretanto uma maior colonização deste segundo modo (Orozco *et al.*, 2002; Pereira *et al.*, 2004; Ferreira, 2004). Na figura 1-A e 2-A pode-se observar esta alta colonização nos tecidos do xilema e floema e na figura 1-B observa-se um tecido sadio onde hifas do patógeno estão ausentes.

Nos cortes longitudinais do tecido cortical pode-se observar uma alta colonização do patógeno a partir de hifas (Figura 2-B).

A seca de ponteiros ou morte descendente de ramos são problemas graves no cafeeiro. Esta é considerada resultante de um complexo de tensões da própria planta e do ambiente sendo atribuída a diversas causas tais como o esgotamento de carboidratos na planta em decorrência de superprodução; tensões hídricas prolongadas; deficiência severa de certos minerais; alta luminosidade e temperatura elevadas que podem agravar a desordem (Rena & Maestri, 1985). Entretanto, a seca de ponteiros de natureza fitopatológica é comumente relatada e atribuída ao *Colletotrichum* spp. (Paradela Filho *et al.*, 2001; Ferreira *et al.*, 2005), havendo portanto confusão na etiologia desta enfermidade.

Em plantas com mancha manteigosa, os sintomas de morte descendente de ramos são na maioria das vezes drásticas causando graves prejuízos, piores que morte de flores, queda e mumificação de frutos (Ferreira *et al.*, 2005). A partir das observações realizadas em MEV, estudos anteriores envolvendo este patossistema no Laboratório de Diagnóstico e Controle de Enfermidades de Plantas (DFP-UFLA) e observação das plantas doentes em campo, com o monitoramento das adubações, pode-se confirmar a origem da doença seca de ponteiros ou morte de ramos nas plantas com mancha manteigosa como sendo atribuída a *C. gloeosporioides*.

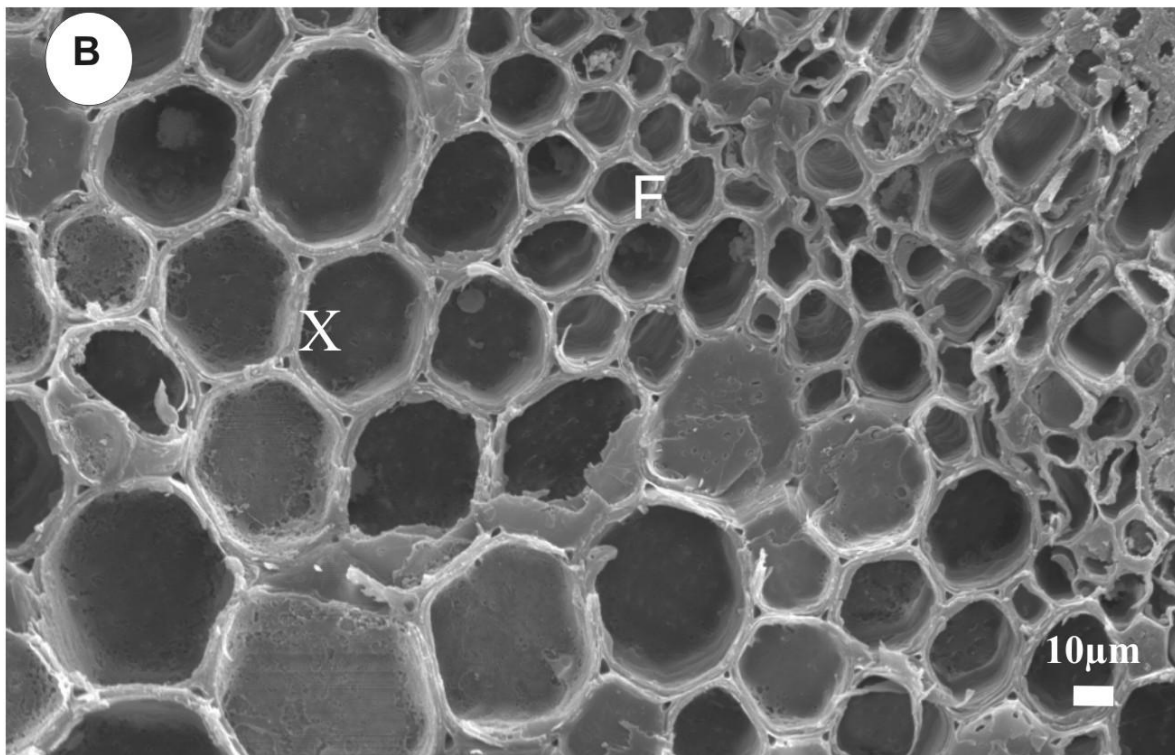
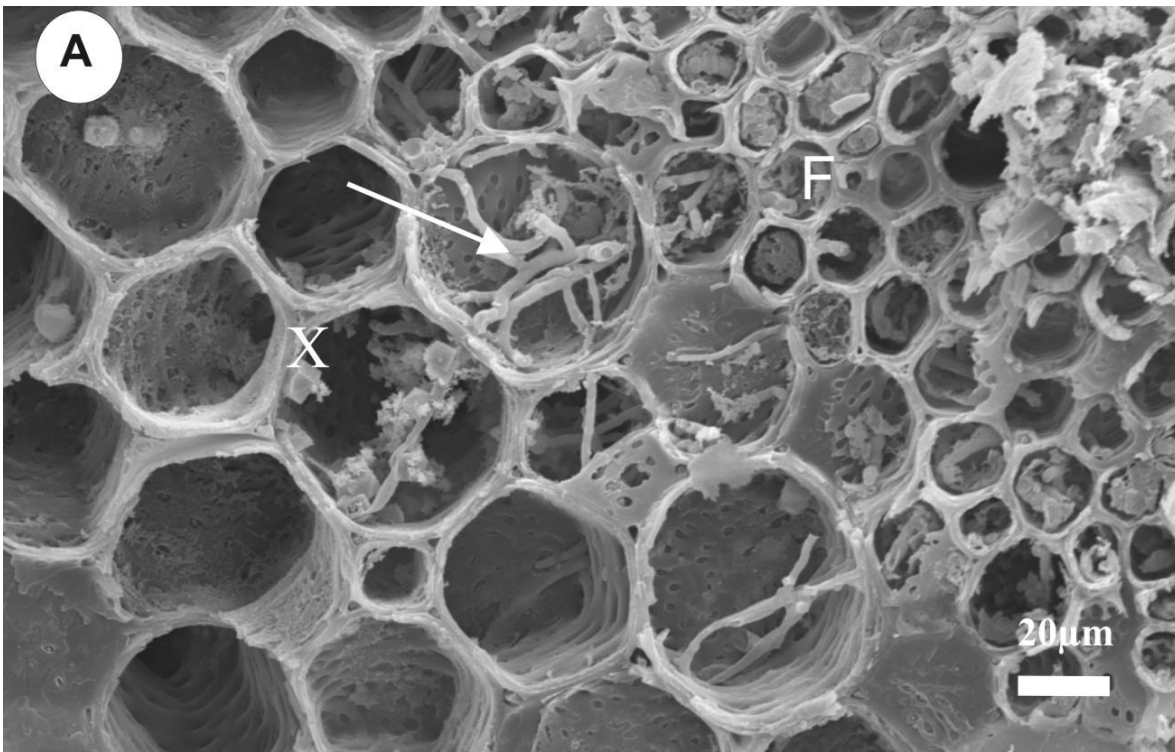


FIGURA 1 – Eletromicrografia de varredura de ramos de cafeeiro com mancha manteigosa apresentando seca de ponteiros e necrose local (Corte transversal). A - Vasos do xilema (X), floema (F) e células do parênquima do xilema colonizadas por hifas (seta). B – Vasos do xilema (X) e floema (F) sadios.

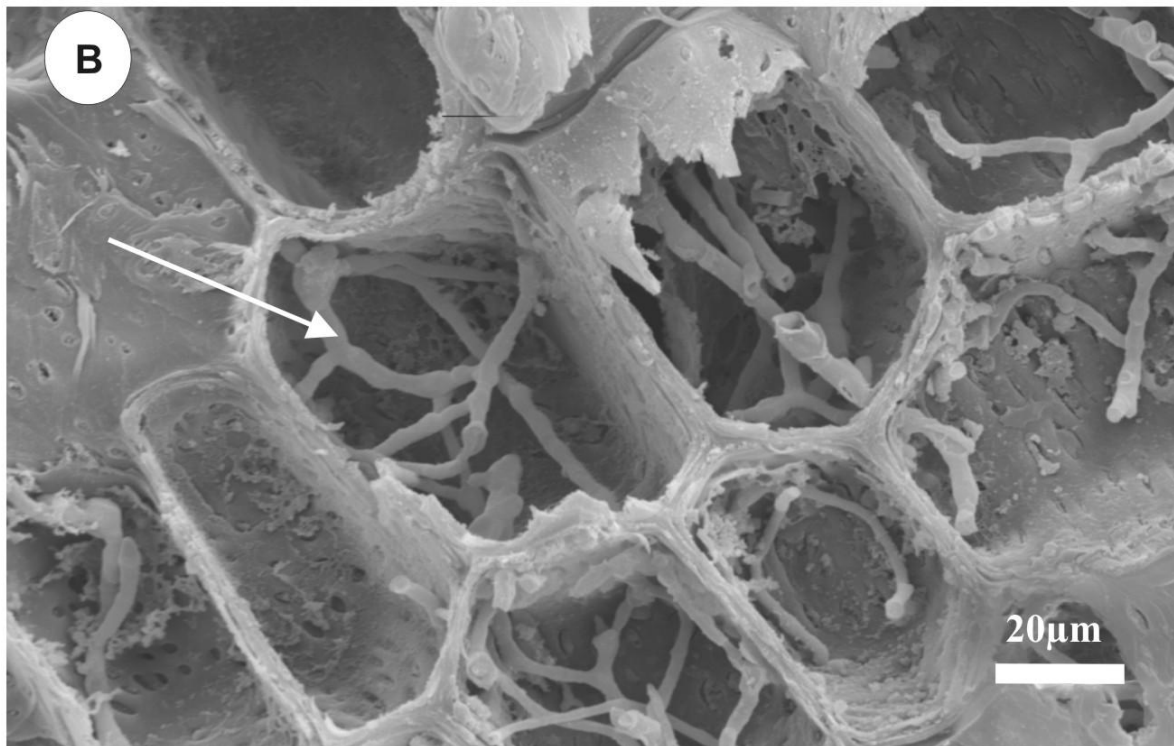
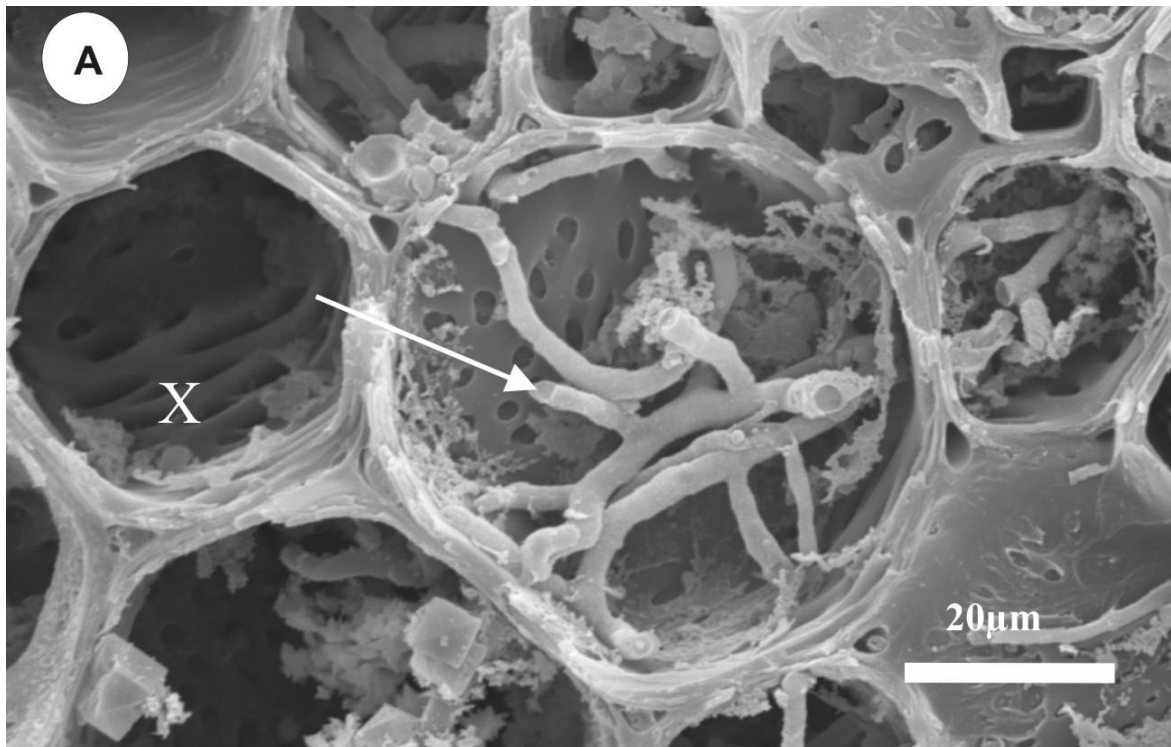


FIGURA 2 – Eletromicrografia de varredura de ramos de cafeeiro com mancha manteigosa apresentando seca de ponteiros e necrose local. A – Detalhe da Figura 1 - A mostrando células do parênquima do xilema colonizado por hifas (seta). B – Tecido cortical colonizado por hifas (corte longitudinal).

Referências Bibliográficas

ALVES, E. INTRODUÇÃO À MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA. Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2004. Ufla: Faepe, 43p.

- BITANCOURT, A.A. As manchas da folha do cafeeiro. O Biológico, São Paulo, v.24, n.4, p.191-201, 1958.
- BAILEY, J.A.; O'CONNEL, R.J.; PRING, R.J.; NASCH, C. 1992. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: Bailey, J.A. & Jeger, M.J. (Eds.) COLLETOTRICHUM: BIOLOGY, PATHOLOGY AND CONTROL. England, CAB International Wallingford, p.88-120.
- COSTA, H.; VENTURA, J.A.; FERRÃO, M.A.G. Mancha manteigosa em café arábica na região serrana do estado do Espírito Santo. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2003, Porto Seguro-BA. Anais... Porto Seguro: Embrapa Café, 2003, p.206.
- FERREIRA, J.B. Flutuação sazonal e associação de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. a diferentes órgãos e tecidos de cafeeiros (*Coffea arabica* L.). 2004. 90p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, 2004.
- FERREIRA, J.B.; PEREIRA, I.S.; SILVA, E.H.; E.F. OROZCO MIRANDA; ABREU, M.S. Aspectos epidemiológicos e sintomatológicos da mancha manteigosa em cafeeiros (*Coffea arabica* L.). Summa Phytopathologica, v.31, p.25-25, 2005, Suplemento.
- JEFFRIES, P.; DODD, J.C.; JEGER, M.J.; PLUMBLEY, R.A. The biology and control of *Colletotrichum* sp. on tropical fruit crops. Plant Pathology, v.39, p.343-366, 1990.
- OROZCO MIRANDA, E.F.; FREITAS, M.; PIGOZZO, P.; ABREU, M.S. Transmissão de *Colletotrichum* spp. por semente de café arábica (*Coffea arabica* L.). In: SIMPOSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas- MG. Anais... Sete Lagoas, 2002. p.93.
- OROZCO MIRANDA, E. F. Caracterização morfológica, molecular, bioquímica e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. associados ao cafeeiro em Minas Gerais e Comparação com *Colletotrichum kahawae*. 2003. 147p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, 2003.
- OROZCO MIRANDA, E. F.; JULIATTI, F. C.; FERREIRA, J.B.; ABREU, M.S. Características morfológicas de isolados de *Colletotrichum* sp. obtidos de cafeeiro no estado de Minas Gerais e sua comparação com *Colletotrichum kahawae*. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.28, 2003, Suplemento.
- PARADELA FILHO, O.; PARADELA, A.L.; THOMAZIELLO, R.A.; RIBEIRO, I.J.A.; SUGIMORI, M.H.; FAZUOLI, L.C. O complexo *Colletotrichum* do cafeeiro. Instituto Agrônomo de Campinas, Boletim Técnico IAC, n.191, 11p., 2001.
- PEREIRA, I.S.; FERREIRA, J.B.; ABREU, M.S. Progresso da colonização de *Colletotrichum gloeosporioides* em plântulas de café (*Coffea arabica* L.). Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.29, p.136-136, 2004. Suplemento...
- RENA, A.B. & MAESTRI, M. 1985. Fisiologia do cafeeiro. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, Ano 11, n.126, p.26-40.