

DETECÇÃO POR RT-PCR DO VÍRUS DA LEPROSE DOS CITROS EM CERCAS-VIVAS E PLANTA INVASORA INFECTADOS ATRAVÉS DE *Brevipalpus phoenicis* (ACARI: TENUIPALPIDAE). Márcio Leite de Oliveira¹, Carlos Amadeu Leite de Oliveira¹, Maria Andréia Nunes¹, Ana Maria Guidelli Thuler², Manoel Victor Franco Lemos². Inter-áreas – Ciências Biológicas - Departamento de Fitossanidade – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal.

A leprose dos citros é uma doença virótica causada pelo CiLV (Citrus Leprosis Virus) tendo sido, recentemente, obtido sua seqüência genômica (LOCALI et al., 2005 e 2006; PASCON et al., 2006).

É importante ressaltar que o vírus da leprose tem sido associado a dois tipos morfológicos distintos, com sintomas indistigíveis: o tipo citoplasmático, mas comum, encontrado na América do Sul e Central (KITAJIMA et al., 1972; DOMINGUEZ et al., 2001; ARRAYA GONZÁLES, 2000) caracterizado por partículas baciliformes providas de membrana envoltória presentes no lúmen do retículo endoplasmático e de viroplasma denso e vacuolado no citoplasma, e o tipo nuclear, encontrado em uma amostra em Campinas-SP (KITAJIMA et al., 1972) e também no norte do Panamá (DOMINGUEZ et al., 2001), no qual as partículas em forma de bastonetes nus ocorrem no núcleo e citoplasma, e a presença de um viroplasma electron-denso no núcleo. Todavia, Freitas-Astua et al. (2005) em ensaios de RT-PCR, constataram que usando “primers” para CiLC-C não obtem-se amplificações a partir de extratos de folhas de laranjeira com lesões do CiLV-N (confirmados por microscopia eletrônica), confirmando os dados morfológicos de que tratam-se de vírus distintos.

Por ser um vírus de ação localizada, o ácaro transmissor *Brevipalpus phoenicis* tem uma função primordial na epidemiologia da doença na cultura dos citros. A espécie transmissora da leprose é polífaga e cosmopolita, motivo pelo qual o estudo de seu comportamento é de suma importância para o controle da leprose, pois essa doença diminui a vida útil da planta, resseca os ramos, causa queda prematura das folhas e frutos, acarretando grandes prejuízos à citricultura.

O sistema de manejo integrado de pragas (MIP) visa minimizar os gastos com acaricidas, racionalizando seu uso e determinando práticas naturais de controle de pragas. Dentre essas, o uso de cercas-vivas e um manejo adequado das plantas invasoras podem interferir na dinâmica da doença por constituírem-se em plantas hospedeiras para o ácaro e vírus, razão pela qual se propôs nesse trabalho, investigar a possibilidade das plantas hospedeiras do ácaro serem também hospedeiras do CiLV.

O ensaio foi realizado em casa de vegetação, na qual foram registradas as condições de temperatura e umidade relativa do ar. De uma criação-estoque de ácaros, realizada sobre frutos de laranja “Pêra” com sintomas de leprose, foram transferidos ácaros para folhas isoladas, por barreira adesiva, em cada uma das plantas a serem testadas: malvavisco (*Malvaviscus arboreus*), urucum (*Bixa orellana*), trapoeraba (*Commelina benghalensis*) e citros (*Citrus sinensis*) “variedade Pêra”.

Cinco mudas das diferentes espécies vegetais foram formadas no Horto Florestal da FCAV/UNESP e transplantadas para vasos com capacidade de cinco litros, empregando-se as práticas usuais de cultivo. Uma vez podadas, a fim de reduzir suas áreas foliares, as mudas foram desinfestadas de possíveis insetos e ácaros. No pecíolo de cada folha para a qual seriam transferidos os ácaros, foi aplicado “Tanglefoot” com o intuito de evitar a fuga dos ácaros e impedir a entrada de predadores.

Uma vez processada a transferência dos ácaros, as mudas foram mantidas em casa de vegetação por um período de 90 dias, tempo suficiente para a morte destes e obtenção de uma progênie de ácaros. Nesse período, os ácaros tiveram a oportunidade de se infectarem caso as plantas fossem hospedeiras do vírus, constituindo-se assim uma população de ácaros virulíferos e avirulíferos caso não hospede o vírus. Decorrido esse período, 50 ácaros de cada população, separadamente, foram transferidos para 10 mudas de citros, as quais, 60 dias após, foram avaliadas quanto à presença de lesões típicas de leprose.

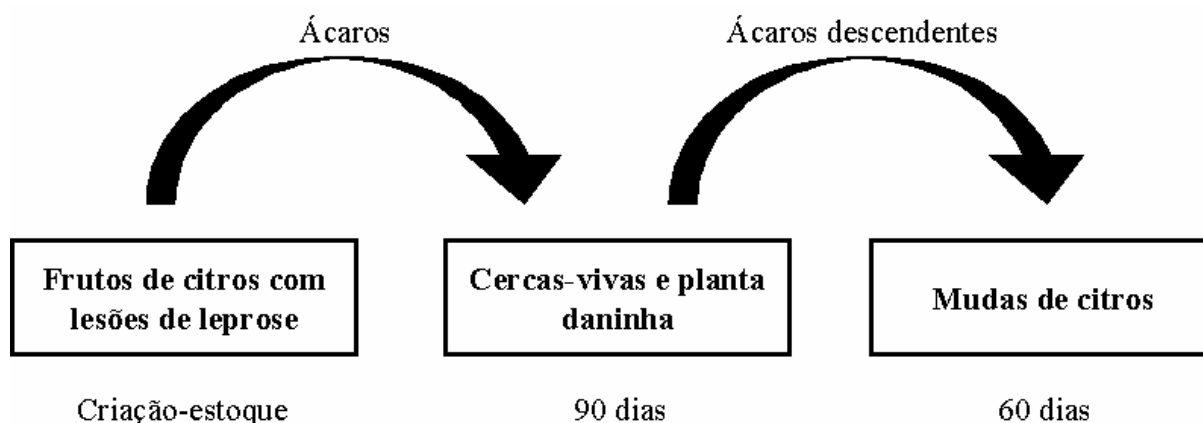


Figura 1. Esquema de transferência de *B. phoenicis* de frutos de citros para cercas-vivas e planta daninha e destes para mudas de citros.

No grupo de plantas-controle, foram utilizados ácaros avirulíferos, que não tiveram acesso alimentar em tecido infectado. Amostras de tecidos foliares das plantas, submetidas à alimentação de ácaros virulíferos e avirulíferos, foram examinadas em laboratório pela técnica de RT-PCR com “primers” específicos para o gene da proteína de movimento (PM) do CiLV.

Os resultados mostraram que as plantas cítricas infestadas com ácaros virulíferos procedentes de malvavisco, urucum, trapoeraba e citros, utilizado como controle, apresentaram uma banda de cDNA em gel de agarose, indicando que as plantas analisadas são hospedeiras do CiLV. Esses resultados ressaltam o risco que essas cercas-vivas e planta invasora representam para a cultura do citros.

Dada a comprovação que essas plantas, além de serem hospedeiras do ácaro, são também hospedeiras do vírus da leprose, devem ser evitadas em pomares de laranjeira-doce para que a doença não se instale no pomar, pois uma vez presente acarreta grandes perdas de produtividade e onera seu custo de produção.

Bibliografia

LOCALI, E. C.; FREITAS-ASTUA, J.; SOUZA, A. A. de; et al. Sequenciamento completo do genoma do vírus da leprose dos citros (CiLV-C). **Fitopatol. Bras.** 30 (supl.): S 191. 2005.

LOCALI, E. C.; FREITAS-ASTUA, J.; SOUZA, A. A. de; et al. Complete nucleotide sequence, genomic organization and phylogenetic analysis of Citrus leprosis virus cytoplasmic type (CiLV-C). **Journal of General Virology** (aceito). 2006.

PASCON, R. C.; KITAJIMA, J. P.; BRETON, M. C.; et al. The complete nucleotide sequence and genomic organization of Citrus Leprosis associated Virus, cytoplasmatic type (CiLV-C). **Virus Genes**, 32(3) :289-298, 2006.

KITAJIMA, E. W.; MULLER, G. W.; COSTA, A. S.; YUKI, W. Short, rod-like particles associated with citrus leprosis. **Virology**, Duluth, 50:254-258, 1972.

DOMINGUEZ, F. S.; BERNAL, A.; CHILDERS, C. C.; et al. First report of the citrus leprosis virus in panama. **Plant Disease**, St. Paul, 85(2): p. 228, 2001

ARRAYA GOMZÁLES, J. **Informe sobre la prospección de la “leprosis de los cítricos” en la zona fronteriza sur (Costa Rica – Panamá).** Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2000. 5p.

FREITAS-ASTUA, J.; KITAJIMA, E. W.; LOCALI, E. C. et al. Further evidence to support that citrus leprosis virus-cytoplasmatic and nuclear types are different viruses. Abst. Ann. Meet. APS, Carib. Div., S. Jose, C. Rica, p. 93. 2005