

Resposta diferencial de espécies e de híbridos de citros à leprose

Juliana Freitas-Astúa⁽¹⁾, André Luiz Fadel⁽²⁾, Marinês Bastianel⁽²⁾, Valdenice Moreira Novelli⁽²⁾,
Renata Antonioli-Luizon⁽²⁾ e Marcos Antônio Machado⁽²⁾

⁽¹⁾Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, s/nº, CEP 44380-000 Cruz das Almas, BA. E-mail: juliana@cnpmf.embrapa.br

⁽²⁾Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Centro APTA Citros Sylvio Moreira, Caixa Postal 04, CEP 13490-970 Cordeirópolis, SP. E-mail: tujufadel@ig.com.br, mbastianel@centrodecitricultura.br, valdenice@centrodecitricultura.br, renataal@centrodecitricultura.br, marcos@centrodecitricultura.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi buscar novas fontes de resistência à leprose-dos-citros, no Banco Ativo de Germoplasma do Centro APTA Citros Sylvio Moreira, Instituto Agrônômico, em Cordeirópolis, SP. Foram utilizadas plantas obtidas por sementes de 26 acessos, infectadas com o vírus da leprose-dos-citros (*Citrus leprosis virus* – CiLV), por meio do seu vetor *Brevipalpus phoenicis*. O aparecimento de lesões, a partir de 21 dias após a inoculação, foi observado em 11 dos genótipos testados (42,3%). Quinze espécies, entre elas *Citrus pennivesiculata* e *C. celebica*, comportaram-se como altamente resistentes, enquanto outras, como *C. keraji*, foram mais suscetíveis que o padrão *C. sinensis*. Os dados mostraram grande variação de respostas de *Citrus* spp. à leprose, com elevado número de espécies resistentes, que podem ser utilizadas como fonte de resistência à doença em programas de melhoramento.

Termos para indexação: *Brevipalpus phoenicis*, *Citrus* spp., CiLV, melhoramento genético, resistência genética.

Differential response of citrus species and hybrids to leprosis

Abstract – The objective of this work was to prospect for new sources of resistance to leprosis in the Citrus Germplasm Bank of Centro APTA Citros Sylvio Moreira, Instituto Agrônômico, in Cordeirópolis, SP, Brazil. Plants obtained through seeds from 26 citrus accessions were mite-infected with Citrus leprosis virus (CiLV). Typical lesions started to appear in 11 genotypes (42.3% of the tested accessions) 21 days after inoculation. Fifteen species, among them *Citrus pennivesiculata* and *C. celebica*, behaved as highly resistant, while other genotypes, as *C. keraji*, were more susceptible than the standard *C. sinensis*. The data showed a wide variation in the response of *Citrus* spp. to leprosis, with a large number of resistant species, which can be used as source of resistance to this disease, in breeding programs.

Index terms: *Brevipalpus phoenicis*, *Citrus* spp., CiLV, genetic improvement, genetic resistance.

Introdução

A leprose, causada pelo vírus da leprose-dos-citros (*Citrus leprosis virus* – CiLV), é considerada uma das viroses de maior importância econômica para a citricultura brasileira (Muller et al., 2005). A doença tornou-se ainda mais preocupante, por sua crescente disseminação para outros países das Américas do Sul e Central (Rodrigues et al., 2003; Bastianel et al., 2006a).

São conhecidas duas formas do vírus da leprose, uma associada ao núcleo da célula, referida como nuclear (CiLV-N), de rara ocorrência, e outra associada ao citoplasma, referida como tipo citoplasmática (CiLV-C) e prevalente (Rodrigues et al., 2003). Em razão da morfologia das partículas virais e por apresentar as formas nuclear e citoplasmática, o CiLV foi tido por muitos

anos como um membro tentativo da família *Rhabdoviridae* (Kitajima et al., 1972; Rodrigues et al., 2003).

Entretanto, o seqüenciamento completo de seu genoma (Locali-Fabris et al., 2006; Pascon et al., 2006) indicou se tratar de um vírus totalmente diferente daqueles seqüenciados até então e resultou na proposta de se criar um novo gênero de vírus, *Cilevirus*, tendo o CiLV como membro-tipo (Locali-Fabris et al., 2006). Um teste molecular confiável e sensível para a diagnose da doença (Locali et al., 2003) indica que as duas formas do CiLV apresentam genomas totalmente distintos (Freitas-Astúa et al., 2005).

O vírus, transmitido de forma persistente por ácaros do gênero *Brevipalpus*, induz o aparecimento apenas de sintomas locais nas plantas (Kitajima et al., 1972;

Colariccio et al., 1995; Marques et al., 2007). As lesões necróticas, geralmente com morfologia característica (Bitancourt, 1955), ocorrem em folhas, ramos e frutos. Entretanto, observa-se a existência de pequenas variações no tipo de sintoma, relacionadas com a espécie hospedeira, a fase de desenvolvimento do órgão afetado no momento da infecção, o patógeno (CiLV-N ou CiLV-C) e o tempo de infestação das plantas pelos ácaros transmissores (Rossetti, 1995; Kitajima et al., 2004; Bastianel et al., 2006a).

Uma das alternativas para o manejo integrado da doença no campo, e a conseqüente redução no uso de pesticidas para o controle do vetor, é a utilização de resistência varietal. Neste aspecto, apesar de as laranjas-doces, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, serem altamente suscetíveis ao vírus, existem fontes de resistência à leprose dentro do gênero *Citrus* (Bastianel et al., 2006b). Assim, limas ácidas e limões, algumas tangerinas e seus híbridos, como o tangor 'Murcott', apresentam elevado grau de resistência (Rodrigues et al., 2003; Bastianel et al., 2006b, 2008). A gama de hospedeiros experimentais do vírus tem aumentado significativamente nos últimos anos. Colariccio et al. (1995) foram os primeiros a transmitir, mecanicamente, o CiLV para *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa* e *Gomphrena globosa*. Nos últimos anos, vários estudos têm mostrado, por meio de inoculação pelo vetor, que o vírus é capaz de infectar hospedeiras de diversas famílias botânicas (Rodrigues et al., 2005; Groot et al., 2006; Nunes, 2007). Demonstrou-se, ainda, que plantas de citros assintomáticas podem hospedar o vírus, informação esta de grande relevância para a epidemiologia da doença e estudos de resistência ao vírus em citros (Bastianel et al., 2004).

Essas informações, aliadas ao fato de que *Brevipalpus* é polífago (Childers et al., 2003), indicam a possibilidade de que outras espécies de rutáceas podem ser suscetíveis ao CiLV. No entanto, poucos estudos foram realizados para avaliar a resistência de citros ao vírus da leprose, cuja maior parte foi conduzida com laranjas-doces e algumas tangerinas (Bastianel et al., 2006b, 2008).

O Banco Ativo de Germoplasma de Citros (BAG-Citros) do Centro APTA Citros Sylvio Moreira, Instituto Agrônomo, é uma das mais importantes coleções do mundo e contém cerca de 2.000 acessos de *Citrus* e gêneros correlatos, que têm sido explorados para estudos genéticos e programas de melhoramento, inclusive estudos de herança genética e mapeamento

(Bastianel et al., 2006b; Oliveira et al., 2007). Assim, o conhecimento da resistência genética de genótipos desse BAG, para a leprose-dos-citros, é essencial para o estabelecimento de programas de melhoramento e desenvolvimento de novas cultivares resistentes à doença. Além disso, a ampliação do conhecimento do número de espécies hospedeiras do vírus da leprose pode desempenhar papel relevante na epidemiologia e no conseqüente manejo integrado da doença no campo.

O objetivo deste trabalho foi buscar novas fontes de resistência à leprose-dos-citros, no BAG-Citros do Centro APTA Citros Sylvio Moreira, Instituto Agrônomo.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em vasos de 2 kg, em casa de vegetação, com plantas de 26 acessos obtidas por sementes, incluindo espécies ou híbridos de *Citrus*, com três repetições por acesso da mesma idade (Tabela 1). Todos os genótipos foram obtidos do BAG-Citros do Centro APTA Citros Sylvio Moreira, Instituto Agrônomo, em Cordeirópolis, SP.

Foram realizados três eventos de infestação com ácaros virulíferos, em intervalos de um mês entre eles. Em cada evento, uma folha intermediária, previamente preparada com uma mistura de farinha de trigo: areia fina peneirada: gesso (1:2:1) e água, foi infestada. Folhas vizinhas, ainda que não infestadas, também receberam a mistura acima descrita, a fim de proporcionar uma melhor colonização pelo ácaro *Brevipalpus phoenicis*.

Como fonte de inóculo, foi utilizado um isolado do CiLV proveniente de Cordeirópolis, SP, mantido em laranja 'Pêra'. A população de *B. phoenicis*, utilizada nesse estudo, era altamente eficiente na transmissão do vírus (Arrivabem et al., 2005). Ácaros não virulíferos foram transferidos para as fontes de inóculo com lesões recentes de leprose, onde permaneceram para aquisição do vírus por 72 horas. Essa metodologia tem garantido 100% de eficiência de inoculação do CiLV (Bastianel et al., 2004). Após esse período, 30 ácaros virulíferos foram transferidos para cada uma das três repetições dos 26 acessos testados, onde permaneceram para a inoculação do vírus e avaliação de sua capacidade de colonização.

Aos 21 dias após a infestação (DAI), apareceram os primeiros sintomas da doença e, a partir de então, as plantas foram avaliadas diariamente quanto ao aparecimento de sintomas característicos de leprose.

Semanalmente foi realizada a contagem do número de lesões. As avaliações prosseguiram por até 110 DAI, e a presença de ácaros foi avaliada em todas as fases de desenvolvimento biológico (do ovo ao adulto), aos dois meses da infestação. Uma vez que não foi possível contar o número exato de ácaros de maneira inequívoca, optou-se por realizar uma avaliação da densidade populacional, na folha inicialmente infestada, pela utilização de uma escala de notas de presença de ácaros, em que: 0, ausência de ácaros; 1, de 1 a 10 ácaros; 2, de 11 a 50 ácaros; 3, de 50 a 100 ácaros; e 4, mais de 100 ácaros.

Por ocasião da última avaliação, a presença de CiLV em plantas assintomáticas foi avaliada via RT-PCR, tendo-se utilizado iniciadores específicos (Local et al., 2003).

Resultados e Discussão

Após 11 avaliações, em 110 dias, observou-se que 15 genótipos não apresentaram nenhuma lesão ou sintoma característico de leprose, enquanto 11 acessos foram claramente suscetíveis (Tabela 1). A laranja 'Pêra', altamente suscetível ao CiLV-C (Rodrigues et al., 2003) e utilizada como espécie controle neste experimento, apresentou sintomas em todas as repetições, o que

comprova a eficiência da transmissão do vírus pelo vetor. A ausência do CiLV, em plantas assintomáticas, foi confirmada por meio de teste molecular (RT-PCR), enquanto a presença de sintomas típicos foi considerada suficiente para o diagnóstico da doença nos acessos suscetíveis.

Por se tratar de um patossistema complexo, de lesões locais, em que a inoculação do patógeno é dependente da eficiência na aquisição e inoculação por um vetor, podem ocorrer variações na resposta da planta e no aparecimento de sintomas (Bastianel et al., 2006b). De fato, entre os genótipos sintomáticos, foi observada variação do número de plantas com sintomas e, em alguns casos, duas ou uma planta apenas, do total de três infestadas, foram sintomáticas (Tabela 1).

Todas as tangerinas avaliadas neste trabalho apresentaram lesões de leprose (Tabela 1). Embora as tangerinas sejam consideradas mais resistentes que as laranjas-doces, por comumente apresentarem menos sintomas em campo (Rodrigues et al., 2003; Bastianel et al., 2006b, 2008), o presente trabalho mostra que elas não são, de forma alguma, imunes ao vírus. Recentemente, Bastianel et al. (2008) observaram que algumas tangerinas, como *C. clementina* Hort. ex Tanaka e *C. deliciosa* Tenore, apresentam mais sintomas

Tabela 1. Relação de acessos avaliados e suas respostas à leprose-dos-citros e à colonização pelo vetor *Brevipalpus phoenicis*.

Nome científico ⁽¹⁾	Seção	Nome vulgar	Nº de plantas sintomáticas/total	Código BAG	Média de notas – infestação por ácaros ⁽²⁾
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Aurantium	Laranja 'Pêra'	6/6	Matriz	1
<i>C. keraji</i> Hort. ex Tanaka	Acumen	nd ⁽³⁾	3/3	CV461	3
<i>C. clementina</i> Hort. ex Tanaka	Acumen	Tangerina Clementina	3/3	CV175	3
<i>C. paradisi</i> Macfad.	Cephalocitrus	Pomelo Triumph	3/3	CV318	3
<i>C. deliciosa</i> Tenore	Acumen	Mexerica do Rio	3/3	CN194	2
<i>Poncirus trifoliata</i> (L.) Raf. x <i>C. sinensis</i>	-	Citrance 150-917	2/3	CV386	2
<i>C. lycopersiciformis</i> (Lush.) Hort. ex Tanaka	Acumen	Tangerina Heen Naran	2/3	CV559	2
<i>C. unshiu</i> Marcow.	Acumen	Tangerina Kara	2/3	CV178	1
<i>C. macrophylla</i> Wester	Limonellus	nd	1/3	RG38/879	1
<i>C. depressa</i> Hayata ⁽⁴⁾	Acumen	Tangerina pectinifera	3/3	CN383	1
<i>C. temple</i> Hort. ex Yu. Tanaka	Aurantium	Tangor Temple	2/3	CV214	2
<i>C. aurantifolia</i> (Christm.) Swingle	Limonellus	Lima da Pérsia	0/3	CN318	1
<i>C. hystrix</i> DC.	Papeda	nd	0/3	CV384	2
<i>C. pennivesiculata</i> (Lush.) Tanaka	Limonellus	nd	0/3	RG38/880	1
<i>C. ichangensis</i> Swingle	Osmocitrus	nd	0/3	CV385	3
<i>C. celebica</i> Koord.	Papeda	nd	0/3	CV378	3
<i>C. ujukitsu</i> Tanaka	Aurantium	nd	0/3	CV459	2
<i>C. pseudoparadisi</i> Hort. ex Yu. Tanaka	Cephalocitrus	nd	0/3	CV458	1
<i>C. yatsushiro</i> Hort. ex Tanaka	Acumen	nd	0/3	CV457	1
<i>C. tachibana</i> (Makino) Tanaka	Acumen	nd	0/3	CN708	1
<i>C. natsudaidai</i> Hayata	Aurantium	nd	0/3	CV460	1
<i>C. karna</i> Raf.	Citrophorum	nd	0/3	RG38/877	1
<i>C. natsudaidai</i> Hayata	Aurantium	nd	0/3	CN704	1
<i>C. taiwanica</i> Tanaka & Y. Shimada	Aurantium	nd	0/3	CV379	1
<i>C. macroptera</i> Montr. x <i>C. grandis</i> (L.) Osb. ⁽⁴⁾	-	nd	0/3	CV375	2
<i>C. kokhai</i> ⁽⁴⁾	-	nd	0/3	CN700	1

⁽¹⁾Classificação de acordo com Germplasm Resources Information Network – GRIN. ⁽²⁾Escala de notas de 1 a 4. ⁽³⁾Não disponível. ⁽⁴⁾Classificação de acordo com Tanaka (1961), citado por Swingle & Reece (1967).

em campo do que outras, como *C. reticulata* Blanco. De maneira análoga, enquanto alguns híbridos de tangerina e laranja-doce, como o tangor 'Murcott', são assintomáticos e altamente resistentes à leprose (Bastianel et al., 2004), outros, como o tangor 'Temple' que, embora classificado por Tanaka como uma espécie (*C. temple*) possivelmente seja um híbrido de tangerina e laranja-doce (Swingle & Reece, 1967), mostraram-se suscetíveis ao vírus (Tabela 1). Dados recentes de campo corroboram os aqui apresentados e evidenciam que nem todos os tangores são resistentes à leprose, uma vez que o tangor 'Ortanique' é altamente suscetível (Bastianel et al., 2008).

Dois meses após a infestação, foram encontrados ácaros nas diferentes fases de desenvolvimento biológico (ovo a adulto) em todos os genótipos testados (Tabela 1). Esta aparente eficiência na colonização, independentemente do aparecimento de sintomas, indica que não houve resistência de nenhum genótipo à presença do ácaro vetor e, conseqüentemente, as plantas assintomáticas foram de fato resistentes ao CiLV. Esse aspecto já havia sido analisado e discutido em Bastianel et al. (2006b), que trabalharam com 143 híbridos de tangor 'Murcott' (resistente) e laranja 'Pêra' (suscetível) e obtiveram amplo espectro de respostas à doença, mas nenhuma variação significativa na suscetibilidade ao ácaro. Estes autores também observaram variação no número de ácaros em cada uma das plantas avaliadas, mesmo entre repetições do mesmo genótipo, e falta de correlação entre número de ácaros e de lesões. Resultados semelhantes foram encontrados por Bassanezi & Laranjeira (2007), em estudos epidemiológicos de campo, em que observaram não haver correlação espacial entre plantas infestadas por ácaros e sintomáticas para leprose.

Embora alguns genótipos tenham sido mais bem colonizados pelo ácaro, como, por exemplo, *C. keraji*, que exibiu, em ao menos uma das plantas-teste, mais de 170 ácaros por folha, e apresentou um grande número de lesões coalescentes de leprose, que englobavam quase todo o limbo foliar (Figura 1), aparentemente não há correlação direta entre sintomas e população do vetor (Tabela 1), o que está de acordo com as observações de Bastianel et al. (2006b) e Bassanezi & Laranjeira (2007). No entanto, para se confirmar uma resposta diferencial entre genótipos, quanto à colonização e ao estabelecimento do vetor, bem como uma possível correlação com o aparecimento e quantidade de sintomas, são necessários maior tempo de avaliação e maior número de amostras.

Há ampla variedade de plantas hospedeiras do ácaro *B. phoenicis*, já tendo sido relacionadas mais de 480 espécies vegetais, e apenas 18 delas eram espécies ou híbridos de *Citrus* (Childers et al., 2003). Os resultados aqui apresentados evidenciam que esse número de plantas hospedeiras deve ser significativamente maior do que o descrito até o momento, uma vez que, das 26 espécies ou híbridos estudados neste trabalho, que são colonizados pelo ácaro, apenas cinco [*C. sinensis*, *C. paradisi* Macfad., *C. unshiu* Marcow., *C. aurantiifolia* Swingle e *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. x *C. sinensis*] encontram-se relacionados na lista de Childers et al. (2003).

Apesar de relativamente poucos acessos do BAG-Citros terem sido avaliados (26), eles abrangeram sete seções e dois híbridos. *Citrus keraji* destacou-se como um candidato a ser utilizado como fonte de multiplicação de ácaros e, também, de inóculo do vírus para trabalhos experimentais com o patossistema, uma vez que outros genótipos, que também apresentaram elevada colonização pelo ácaro e foram suscetíveis ao vírus – como tangerina 'Clementina' e pomelo 'Triumph' – exibiram um número bem menor de lesões de leprose. Por sua vez, dos 15 genótipos resistentes à leprose, dois apresentaram intensa colonização pelo *B. phoenicis* (nota 3), três apresentaram colonização intermediária (nota 2) e dez apresentaram baixa colonização pelo ácaro (nota 1), e estes são provavelmente, os mais interessantes para utilização nos programas de melhoramento genético de citros e nos trabalhos sobre genética da resistência à leprose.



Figura 1. Lesões de leprose em folha de *Citrus keraji* (Hort. ex Tanaka).

Conclusões

1. A resposta diferencial à leprose, já relatada entre *Citrus* spp., também ocorre entre híbridos do gênero.
2. Existe grande número de espécies de citros resistentes à leprose que podem ser utilizadas em programas de melhoramento genético da cultura.
3. A espécie *Citrus keraji* é mais suscetível que o padrão *C. sinensis*, tanto à infestação pelo ácaro quanto à colonização pelo vírus, e pode ser utilizada em estudos de transmissão do vírus da leprose-dos-citros (CiLV).
4. Nenhum dos genótipos avaliados apresentou resistência a *Brevipalpus phoenicis*, apesar de haver preferência do ácaro por determinados genótipos.

Agradecimentos

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo apoio financeiro.

Referências

- ARRIVABEM, F.; RODRIGUES, V.; FREITAS-ASTÚA, J.; BASTIANEL, M.; LOCALI, E.C.; ANTONIOLI-LUIZON, R.; NOVELLI, V.M.; NAKAGAWA, E.K.; MACHADO, M.A. Transmissão diferencial do vírus da leprose-dos-citros por populações de *Brevipalpus phoenicis*. **Summa Phytopathologica**, v.31, p.64, 2005. (Suplemento).
- BASSANEZI, R.B.; LARANJEIRA, F.F. Spatial patterns of leprosis and its mite vector in commercial citrus groves in Brazil. **Plant Pathology**, v.56, p.97-106, 2007.
- BASTIANEL, M.; FREITAS-ASTÚA, J.; KITAJIMA, E.W.; MACHADO, M.A. The citrus leprosis pathosystem. **Summa Phytopathologica**, v.32, p.211-220, 2006a.
- BASTIANEL, M.; FREITAS-ASTÚA, J.; NICOLINI, F.; SEGATTI, N.; NOVELLI, V.M.; RODRIGUES, V.; MEDINA, C.L.; MACHADO, M.A. Response of mandarin cultivars and hybrids to Citrus leprosis virus. **Journal of Plant Pathology**, v.90, p.305-310, 2008.
- BASTIANEL, M.; FREITAS-ASTÚA, J.; RODRIGUES, V.; ARRIVABEM, F.; ANTONIOLI-LUIZON, R.; MACHADO, M.A. Resposta do tanger 'Murcott' à inoculação do vírus da leprose-dos-citros a campo e em casa de vegetação. **Laranja**, v.25, p.337-348, 2004.
- BASTIANEL, M.; OLIVEIRA, A.C.; CRISTOFANI, M.; GUERREIRO FILHO, O.; FREITAS-ASTÚA, J.; RODRIGUES, V.; ASTÚA-MONGE, G.; MACHADO, M.A. Inheritance and heritability of resistance to citrus leprosis. **Phytopathology**, v.96, p.1092-1096, 2006b.
- BITANCOURT, A.A. Estudos sobre a leprose-dos-citros. I. Distribuição geográfica e sintomatologia. II. Transmissão natural às folhas. III. Transmissão natural às frutas. IV. Experiências de tratamento. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.22, p.161-231, 1955.
- CHILDERS, C.C.; RODRIGUES, J.C.V.; WELBOURN, W.C. Host plants of *Brevipalpus californicus*, *B. obovatus*, and *B. phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) and their potential involvement in the spread of viral diseases vectored by these mites. **Experimental and Applied Acarology**, v.30, p.29-105, 2003.
- COLARICCIO, A.; LOVISOLO, O.; CHAGAS, C.M.; GALLETI, S.R.; ROSSETTI, V.; KITAJIMA, E.W. Mechanical transmission and ultrastructural aspects of Citrus leprosis virus. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p.208-213, 1995.
- FREITAS-ASTÚA, J.; KITAJIMA, E.W.; LOCALI, E.C.; ANTONIOLI-LUIZON, R.; BASTIANEL, M.; MACHADO, M.A. Further evidence to support that Citrus leprosis virus-cytoplasmic and nuclear types are different viruses. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY, 45., 2005, Caribbean Division. **Anais**. San Jose: APS, 2005. p.93.
- GROOT, T.V.M.; FREITAS-ASTÚA, J.; KITAJIMA, E.W. *Brevipalpus phoenicis* transmits Citrus leprosis virus, cytoplasmic type (CiLV-C) to common bean (*Phaseolus vulgaris*) under experimental conditions. **Virus Reviews and Research**, v.11, p.67-68, 2006.
- KITAJIMA, E.W.; FERREIRA, P.T.O.; FREITAS-ASTÚA, J.; MACHADO, M.A. Ocorrência da leprose-dos-citros, tipo nuclear (CiLV-N) nos municípios paulistas de Monte Alegre do Sul e Amparo. **Summa Phytopathologica**, v.30, p.68, 2004.
- KITAJIMA, E.W.; MÜLLER, G.W.; COSTA, A.S.; YUKI, W. Short, rod-like particles associated with citrus leprosis. **Virology**, v.50, p.254-258, 1972.
- LOCALI, E.C.; FREITAS-ASTÚA, J.; SOUZA, A.A.; TAKITA, M.A.; ASTÚA-MONGE, G.; ANTONIOLI-LUIZON, R.; KITAJIMA, E.W.; MACHADO, M.A. Development of a molecular tool for the diagnosis of leprosis, a major threat to the citrus production in the Americas. **Plant Disease**, v.87, p.1317-1321, 2003.
- LOCALI-FABRIS, E.C.; FREITAS-ASTÚA, J.; SOUZA, A.A.; TAKITA, M.A.; ASTÚA-MONGE, G.; ANTONIOLI-LUIZON, R.; RODRIGUES, V.; TARGON, M.L.P.N.; MACHADO, M.A. Complete nucleotide sequence, genomic organization and phylogenetic analysis of Citrus leprosis virus cytoplasmic type (CiLV-C). **Journal of General Virology**, v.87, p.2721-2729, 2006.
- MARQUES, J.P.R.; FREITAS-ASTÚA, J.; KITAJIMA, E.W.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Lesões foliares e de ramos de laranja-doce causadas pela leprose-dos-citros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.1531-1536, 2007.
- MÜLLER, G.W.; TARGON, M.L.P.N.; CARVALHO, S.A.; SOUZA, A.A.; RODRIGUES, J.C.V. Doenças de citros causadas por vírus e viróides. In: MATTOS JÚNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JÚNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: IAC, 2005. p.567-604.
- NUNES, A. **Transmissão do vírus da leprose-dos-citros por *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) para plantas associadas a pomares cítricos**. 2007. 68p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

- OLIVEIRA, A.C.; BASTIANEL, M.; CRISTOFANI-YALY, M.; AMARAL, A.M.; MACHADO, M.A. Development of genetic maps of the citrus varieties Murcott tangor and Pêra sweet orange by using fluorescent AFLP markers. **Journal of Applied Genetics**, v.48, p.219-231, 2007.
- PASCON, R.C.; KITAJIMA, J.P.; BRETON, M.C.; ASSUMPÇÃO, L.; GREGGIO, C.; ZANCA, A.S.; OKURA, V.K.; ALEGRIA, M.C.; CAMARGO, M.E.; SILVA, G.G.; CARDOZO, J.C.; VALLIM, M.A.; FRANCO, S.F.; SILVA, V.H.; JORDÃO JÚNIOR, H.; OLIVEIRA, F.; GIACHETTO, P.F.; FERRARI, F.; AGUILAR-VILDOSO, C.I.; FRANCHISCINI, F.J.B.; SILVA, J.M.F.; ARRUDA, P.; FERRO, J.A.; REINACH, F.; SILVA, A.C.R. The complete nucleotide sequence and genomic organization of *Citrus leprosis* associated virus, cytoplasmatic type (CiLV-C). **Virus Genes**, v.32, p.289-298, 2006.
- RODRIGUES, J.C.V.; KITAJIMA, E.W.; CHILDERS, C.C.; CHAGAS, C.M. Citrus leprosis virus vectored by *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) on citrus in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v.30, p.161-179, 2003.
- RODRIGUES, J.C.V.; LOCALI, E.C.; FREITAS-ASTÚA, J.; KITAJIMA, E.W. Transmissibility of Citrus leprosis virus by *Brevipalpus phoenicis* to *Solanum violaeifolium*. **Plant Disease**, v.89, p.911, 2005.
- ROSSETTI, V. A leprose-dos-citros no Brasil. In: OLIVEIRA, C.A.L.; DONADIO, L.C. (Ed.). **Leprose-dos-citros**. Jaboticabal: Funep, 1995. p.1-12.
- SWINGLE, W.T.; REECE, P.C. The botany of citrus and its wild relatives. In: REUTHER, W.; BATCHELOR, L.D.; WEBBER, H.J. (Ed.). **The citrus industry**. Berkeley: University of California Press, 1967. v.1. p.190-430.

Recebido em 2 de abril de 2008 e aprovado em 13 de junho de 2008