

Mancha Anular do Cafeeiro (*Coffee ringspot virus* – CoRSV)



ISSN 1983-0513

Fevereiro, 2011

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 369

Mancha Anular do Cafeeiro (*Coffee ringspot virus – CoRSV*)

Alessandra de Jesus Boari

Embrapa Amazônia Oriental
Belém, PA
2011

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Oriental

Tv. Dr. Enéas Pinheiro, s/n.
Caixa Postal 48. CEP 66095-100 – Belém, PA.
Fone: (91) 3204-1000
Fax: (91) 3276-9845
<http://www.cpatu.embrapa.br>
sac@cpatu.embrapa.br

Comitê Local de Editoração

Presidente: *Moacyr Bernardino Dias-Filho*
Secretário-Executivo: *Walkymário de Paulo Lemos*
Membros: *Ana Carolina Martins de Queiroz, Célia Regina Tremacoldi, Luciane Chedid Melo Borges*

Revisão Técnica: *Elliot Watanabe Kitajima* – Esalq/USP

Supervisão editorial: *Luciane Chedid Melo Borges*
Revisão de texto: *Narjara de Fátima Galiza da Silva Pastana*
Normalização bibliográfica: *Andréa Liliane Pereira da Silva*
Editoração eletrônica: *Euclides Pereira dos Santos Filho*
Foto da capa: *Alessandra de Jesus Boari*

1ª edição

Versão eletrônica (2011)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Amazônia Oriental

Boari, Alessandra de Jesus

Mancha anular do cafeeiro (*Coffe ringspot virus* – CoRSV) / Alessandra de Jesus Boari. - Belém, PA : Embrapa Amazônia Oriental, 2011.

43 p. : il. ; 21 cm. - (Documentos / Embrapa Amazônia Oriental, ISSN 1983-0513 ; 369).

1. Café. 2. Doença. 3. Vírus. I. Título. II. Série.

CDD 633.73

© Embrapa 2011

Autores

Alessandra de Jesus Boari

Engenheira-agrônoma, Doutora em Fitopatologia, Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

ajboari@cpatu.embrapa.br

Apresentação

O cafeeiro (*Coffea arabica* L.) é uma das principais plantas cultivadas no Brasil. A cafeicultura, economicamente, é uma das principais commodities do país, pois gera divisas pela exportação e socialmente a cultura demanda grande contingente de mão de obra.

Entretanto, a cultura pode ser atacada por fungos, bactérias, nematoides e vírus. O *Coffee ringspot virus* foi relatado pela primeira vez causando a mancha anular em 1936, mas somente a partir de 1995 a doença foi observada em altas incidências causando perdas na produção, principalmente, no Estado de Minas Gerais.

A alta incidência dessa doença, disseminada pelo ácaro *Brevipalpus phoenicis*, gerou certa preocupação porque o controle é difícil ou mesmo impossível, após o estabelecimento do vírus na planta.

Este documento tem como objetivo revisar os principais trabalhos de pesquisas sobre a mancha anular do cafeeiro no Brasil.

Claudio José Reis de Carvalho
Chefe-Geral da Embrapa Amazônia Oriental

Sumário

Mancha Anular do Cafeeiro (<i>Coffee ringspot virus</i> – CoRSV)	9
Introdução	9
Importância do café	10
Mancha anular do cafeeiro	12
Local de descrição	12
Distribuição	12
Sintomas	13
Etiologia	16
Transmissão	18
Propriedades físicas	19
Taxonomia.....	19
Diagnose.....	21
Estudos citopáticos.....	21
Gama de hospedeiros	23
Purificação do CoRSV	24
Produção de antissoro e relacionamento sorológico	26
RNA do CoRSV	27
Preservação do vírus	27
Vetor – <i>Brevipalpus phoenicis</i>	28
Epidemiologia.....	29
Danos e perdas.....	31
Efeito do CoRSV no peso de grãos de café.....	32
Controle.....	33
Referências	35

Mancha Anular do Cafeeiro (*Coffee ringspot virus* – CoRSV)

Alessandra de Jesus Boari

Introdução

O cafeeiro (*Coffea arabica* L.) é uma das principais plantas cultivadas no Brasil. A cafeicultura, economicamente, é uma das principais *commodities* do país, pois gera divisas pela exportação e socialmente a cultura demanda grande contingente de mão de obra.

No Brasil, havia previsão para a produção nacional de aproximadamente 47,5 milhões de sacas (60 kg) de café beneficiado, no ano de 2010, somando as produções de café arábica e robusta. A produtividade média do Brasil é de dez sacas beneficiadas por hectare, podendo ser influenciada por diversos fatores, dentre eles a ocorrência de pragas e doenças (ABIC, 2010).

A cultura pode ser atacada por fungos, bactérias, nematoides e vírus. Este último grupo de patógeno foi relatado pela primeira vez causando a mancha anular em 1936, mas somente em 1995 foi observada em altas incidências em lavouras na região do Alto Paranaíba e no Triângulo Mineiro, no Estado de Minas Gerais (FIGUEIRA et al., 1995; JULIATTI et al., 1995).

A mancha anular do cafeeiro foi primeiramente descrita em 1938 por Bitancourt, que a encontrou em plantas isoladas em cafezais localizados no Município de Caçapava, SP, e quando então foi sugerida a etiologia viral. Kitajima e Costa (1972) foram os primeiros a observar as presumíveis partículas desse vírus (*Coffee ringspot virus* – CoRSV) em forma de bastonetes curtos, ao microscópio eletrônico com dimensões de 35–40 nm x 100–110 nm.

A alta incidência dessa doença, disseminada pelo ácaro *Brevipalpus phoenixis*, gerou certa preocupação porque o controle é difícil ou mesmo impossível, após o estabelecimento do vírus na planta (CHAGAS, 1978; FIGUEIRA et al., 1996).

Este documento tem como objetivo revisar os principais trabalhos de pesquisas sobre a mancha anular do cafeeiro no Brasil.

Importância do café

O cafeeiro *Coffea arabica* L., pertencente à família Rubiaceae, é originário do continente africano, das regiões altas da Etiópia (Cafa e Enária), podendo ser a região de Cafa responsável pela origem do nome café. É uma cultura de clima tropical de altitude, adaptado a clima úmido e temperaturas amenas (GRANER; GODOY JUNIOR, 1967). *C. arabica* é uma das espécies mais cultivadas no Brasil.

Os maiores produtores mundiais de café arábica são: Brasil, Colômbia, Etiópia, México, Guatemala e Peru. Em relação ao café robusta (*C. canephora*), os países da Ásia vêm aumentando a produção em ritmo acelerado, sendo o Vietnã o maior produtor mundial, seguido pelo Brasil, Indonésia e Índia. O Brasil se destaca como o maior produtor (40%) e exportador mundial, com área cultivada de 2,30 milhões de hectares, dos quais 2,14 milhões estão em produção e 169 mil em formação (CONAB, 2008).

No Brasil, a produção de café na safra de 2007/2008 foi de cerca de 46 milhões sacas beneficiadas, das quais 69,04% foram de café arábica e 30,96% de café robusta (CONAB, 2008).

A cultura do café destaca-se historicamente no desenvolvimento do país. As riquezas geradas possibilitaram o desenvolvimento e industrialização de muitas regiões no Brasil. Como exemplos citam-se a criação de rede ferroviária, o asfaltamento de estradas, a expansão de energia elétrica e da industrialização nos estados de São Paulo e Paraná (GUIMARÃES et al., 2002).

O Sudeste é a principal região cafeeira do Brasil sendo que os estados de Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo, Bahia e Paraná são responsáveis por 92% da produção nacional de café. Minas Gerais destaca-se no cenário da cafeicultura nacional pela amplitude de suas regiões produtoras e condições climáticas favoráveis ao cultivo do cafeeiro, com consequente produção de café de boa qualidade, contribuindo com 45% da produção nacional. As maiores regiões produtoras de Minas Gerais são Jequitinhonha, Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba e Zona da Mata (CONAB, 2008).

O consumo nacional anual é de cerca de 16,9 milhões de sacas de café, o que torna o Brasil o maior consumidor mundial de café. No Brasil, o café tem sido um dos principais produtos de exportação brasileira, gerando empregos e renda nacional. Estima-se que existam cerca de 370 mil propriedades de café em 2 mil municípios de 18 estados onde o café é a principal fonte de renda e que mais de 4 milhões de pessoas dependam diretamente da cafeicultura.

Diversas doenças causadas por diferentes patógenos podem afetar o cafeeiro no Brasil e no mundo. Dentre elas destacam-se o amarelinho (*Xylella fastidiosa*), a ferrugem (*Hemileia vastatrix*), a cercosporiose (*Cercospora coffeicola*), a mancha de *Phoma* (*Phoma* sp.), a mancha aureolada do cafeeiro (*Pseudomonas syringae* pv. *garcae*) e as meloidogíneses (*Meloidogyne coffeicola*, *M. incognita* e *M. javanica*) (GODOY et al., 1997; ZAMBOLIM et al., 1997). A partir de 1995, a virose passou a ser considerada potencialmente importante para a cafeicultura, em razão das altas incidências de plantas infectadas pelo CoRSV em várias lavouras de importância econômica em Minas Gerais (BOARI et al., 2004, 2006; FIGUEIRA et al., 1996, 1998; JULLIAT et al., 1995).

No mundo, só foram relatados dois vírus, o *Coffee ringspot virus* (CoRSV), tentativamente classificado como pertencente à família *Rhabdoviridae* (BITANCOURT, 1938; CHAGAS, 1978); e o *Coffee chlorotic ringspot Caulimovirus* (CoCRSV) (MARTINEZ, 2003; OCAMPO et al., 2003). O CoCRSV que foi relatado na Colômbia é transmitido por enxertia, inoculação mecânica e pulgão *Toxoptera aurantii* Boyer. CoCRSV é constituído de partículas isométricas de 50–60 nm de diâmetro, com uma gama de hospedeiro limitada.

Mancha anular do cafeeiro

Local de descrição

A doença foi pela primeira vez descrita no Brasil no cafeeiro em Caçapava, SP (BITANCOURT, 1938).

Distribuição

No mundo, a mancha anular foi relatada no Brasil e Costa Rica (RODRIGUES et al., 2002). Em Filipinas foi relatada uma doença semelhante (REYES, 1959, 1961), mas não existem informações sobre sua relação com CoRSV.

No Brasil, a mancha anular já foi relatada nos estados de São Paulo (BITANCOURT, 1938), Minas Gerais (FIGUEIRA et al., 1995; JULIATTI et al., 1995), Paraná (RODRIGUES; NOGUEIRA, 2001), Bahia (KITAJIMA; CHAGAS, 2009), Espírito Santo (conforme comunicado por Hércio Costa¹) e no Distrito Federal (BRANQUINHO et al., 1988).

Em Minas Gerais, a doença foi constatada em vários cafezais localizados nas regiões do Triângulo Mineiro: Araguari (JULIATTI et al., 1995); Alto Paranaíba: Coromandel, Paracatu e Patos de Minas (FIGUEIRA et al., 1995, 1996); Zona da Mata: Teixeira (conforme observado por Boari²); e Sul de Minas: Varginha, Três Pontas, Lavras, Ijaci, Boa Esperança, Alfenas e Nepomuceno (BOARI et al., 1999, 2004).

¹ Entrevista concedida pelo Dr. Hércio Costa, da Encaper-ES, Salvador (Ba), à Dra. Alessandra de Jesus Boari, bolsista Prodoc do CNPq, em 08.08.98.

² Observação de campo feita pela Dra. Alessandra Boari, pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, em 06.09.1998.

No Estado do Paraná, a doença foi relatada nos municípios de Maringá, Uraí e Palotina (RODRIGUES; NOGUEIRA, 2001).

Em São Paulo, observou-se a doença em Caçapava (BITANCOURT, 1938), Campinas (KITAJIMA et al., 2007a), Taubaté e Piracicaba (CHAGAS, 1978).

Em 1978, Chagas considerou o estudo do CoRSV importante porque, com a crescente expansão da cultura do café em áreas de cerrado, as novas técnicas de manejo adotadas poderiam contribuir para um desequilíbrio ecológico, favorecendo o desaparecimento do inimigo natural do ácaro vetor, seu aumento populacional nos campos produtores de café e, conseqüentemente, a disseminação do CoRSV (CHAGAS, 1978).

Sintomas

Essa doença afeta os cafeeiros em qualquer idade do seu desenvolvimento (CHAGAS, 1978). Os sintomas provocados por esse vírus se caracterizam por manchas cloróticas nas folhas (Figura 1a, b), geralmente em forma de anéis concêntricos, e nos frutos manchas amareladas em forma de anéis ou irregulares e deprimidas (Figura 2) (BITANCOURT, 1938; CHAGAS, 1973, 1978; SILBERSCHMIDT, 1941). Quando as folhas entram em senescência os anéis verdes ficam mais evidenciados com a folha amarelada. Nos frutos da cultivar Catuaí Amarelo também há a maturação irregular, ficando a área infectada esverdeada e a restante amarelada. O tamanho das manchas varia com a fase de desenvolvimento em que o órgão foi infectado, ou seja, quanto mais novo o tecido maiores serão as manchas. Além disso, as manchas podem se coalescer. O CoRSV pode também provocar queda severa de folhas e frutos nas plantas infectadas (FIGUEIRA et al., 1996, 1998; RODRIGUES et al., 2002). Boari et al. (2001a) relataram a ocorrência de manchas arredondadas ou elípticas na porção verde dos ramos (Figura 3), onde foram constatadas presenças de partículas virais por meio da microscopia eletrônica. No cafeeiro, não foram observadas partículas virais fora dessas manchas amareladas, indicando assim a infecção localizada e não sistêmica como ocorre na maioria das viroses de plantas. Observam-

-se também necroses no centro das manchas cloróticas (Figura 1c), que coincidem com os pontos de inoculação pelo ácaro e provavelmente são causadas pelo ácaro e não pelo vírus.

Recentemente, Chagas et al. (2007) relataram a ocorrência de um isolado distinto em plantas de café de um parque público na cidade de São Paulo, que causava lesões foliares mais avermelhadas (Figura 1d), e se referiram a este como CoRSV-SP.

Matiello et al. (1995) relataram que plantas infectadas pelo CoRSV ficam bastante desfolhadas, de dentro para fora, ficando ocas na copa.

Os sintomas persistem nas plantas quando os ácaros virulíferos estão presentes (CHAGAS, 1978).

Fotos 1a, 1b e 1c: Alessandra de J. Boari e Foto 1d: Elliot W. Kitajima

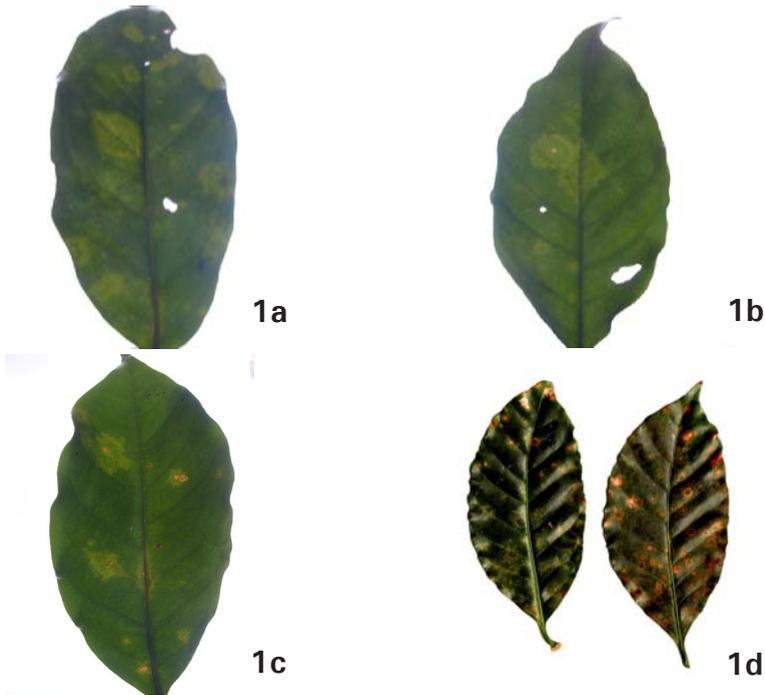


Figura 1. (a, b) Folhas de café exibindo sintomas de mancha anelar; (c) necrose da nervura e pontos necróticos de inoculação pelo ácaro *B. phoenicis*; (d) lesões foliares mais avermelhadas causadas pelo CoRSV-SP.

Fotos: Alessandra de J. Boari



Figura 2. (a) Frutos de café sadio e (b,c,d) exibindo sintomas de mancha anelar, depressão na casca e maturação irregular.

Foto: Alessandra de J. Boari



Figura 3. Ramo de café com sintomas de mancha causada pelo CoRSV.

Etiologia

A mancha anular é causada pelo vírus da mancha anular do cafeeiro (*Coffee ringspot virus* – CoRSV), cujas partículas têm forma de bastonetes (35-40 nm x 100-110 nm) (Figura 4), são encontradas no núcleo e também no citoplasma, comumente associadas com uma massa de baixa densidade aos elétrons, referida como viroplasma (Figura 5). Também podem estar associadas perpendicularmente às membranas do invólucro nuclear e do retículo endoplasmático, das células epidérmicas e parenquimatosas das lesões das folhas e dos frutos, mas não têm sido detectadas em região vascular (KITAJIMA; COSTA, 1972). Segundo Kitajima e Chagas (2009), as partículas podem ser detectadas ocasionalmente pela microscopia eletrônica utilizando a contrastação negativa do extrato de plantas infectadas.

Em preparação purificada de CoRSV (Figura 6), observaram-se partículas com diâmetro de 40 nm, canal axial de 22 nm e estriações transversais espaçadas de 4 nm (BOARI et al., 2004).

Foto: Elliot Watanabe Kitajima

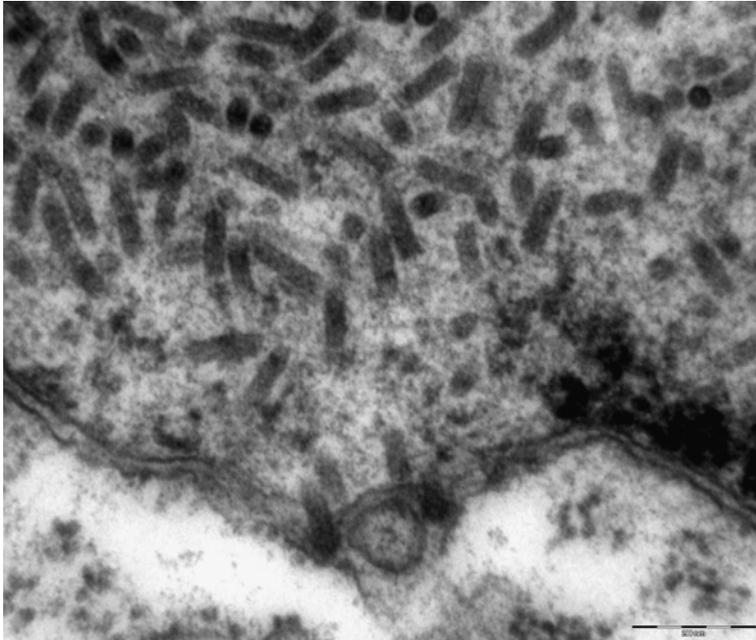


Figura 4. Partículas baciliformes de CoRSV dentro do núcleo.

Foto: Elliot Watanabe Kitajima

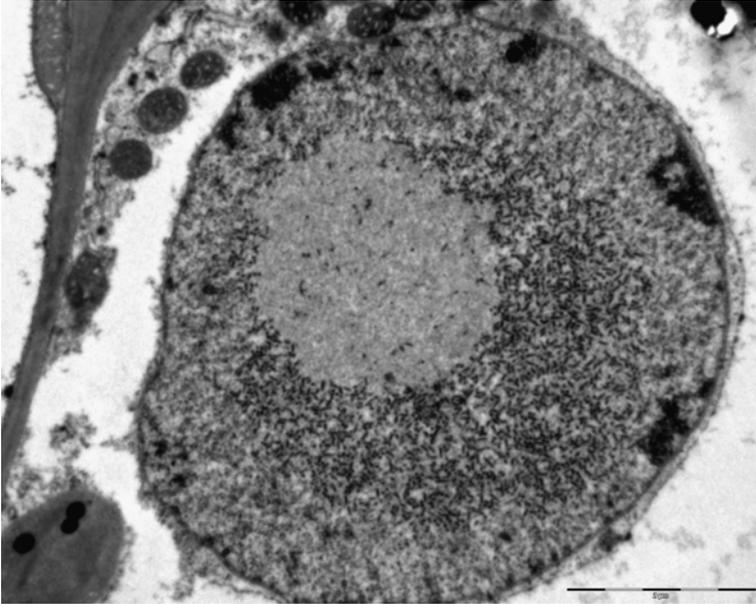


Figura 5. Viroplasma induzido pelo CoRSV dentro do núcleo.

Foto: Elliot Watanabe Kitajima

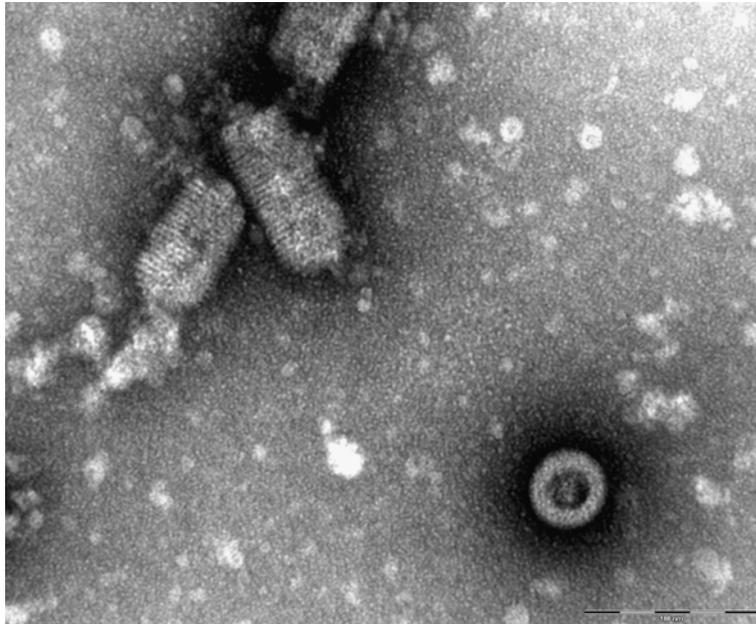


Figura 6. Preparado parcialmente purificado de CoRSV.

Em tecidos infectados pelo isolado CoRSV-SP, as partículas virais são baciliformes curtas, com membranas (Figura 7), e ocorrem arranjadas individualmente e longitudinalmente dentro de cisternas do retículo endoplasmático. Raramente são visualizados os viroplasmias (Kitajima et al. 2007a).

Transmissão

Chagas (1978) relatou que o CoRSV era transmitido pelo ácaro plano *Brevipalpus phoenicis* Geijskes (Figura 8). Das fases ovo, larva, ninfa e adulto coletadas de plantas sintomáticas, Costa et al. (2009) verificaram por meio da RT-PCR a presença do CoRSV apenas na ninfa e adulto.

Chagas (1978) testou vários hospedeiros, por meio da inoculação mecânica, utilizando tecidos provenientes de lesões de folhas e frutos de cafeeiros infectados, e conseguiu a transmissão mecânica do vírus em plantas de *Chenopodium quinoa* e *C. amaranticolor*, nas quais causou lesões locais cloróticas arredondadas com o centro necrótico.

Foto: César M. Chagas

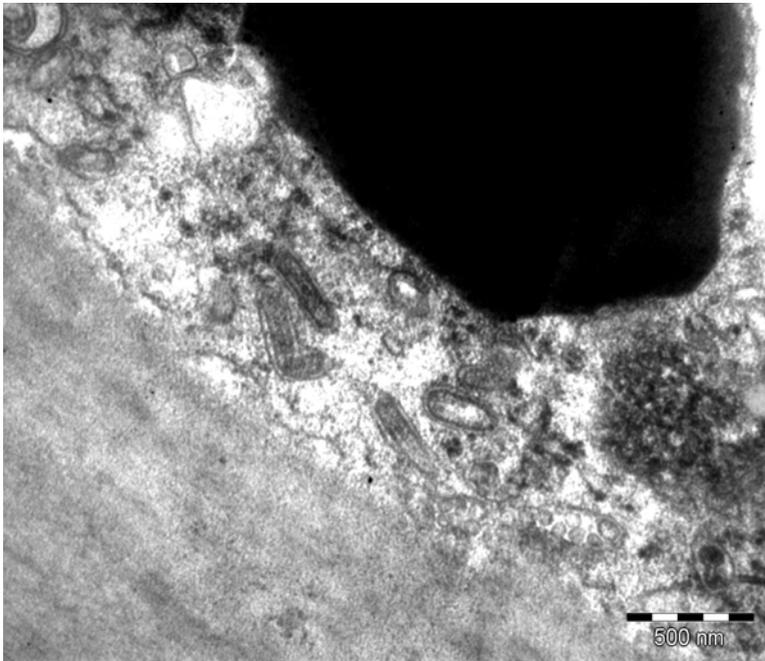


Figura 7. Partículas virais do CoRSV-SP baciliformes curtas, com membranas arranjadas individualmente.

Foto: Elliot Watanabe Kitajima



Figura 8. Ácaro *Brevipalpus phoenicis* Geijskes (Acari: Tenuipalpida).

Propriedades físicas

Chagas (1978) determinou a estabilidade *in vitro* do CoRSV, e relatou que o ponto de inativação térmica (TIP) do vírus era de 70 °C – 75 °C, o ponto final de diluição de 10^{-4} e que o vírus começava a inativar-se (LIV) a partir do 19º dia após a preparação do suco do tecido manchado de folhas de café.

Taxonomia

Baseado na forma e tamanho das partículas *Orchid fleck virus* (OFV), *Citrus leprosis virus* (CiLV) e CoRSV foram tentativamente colocados como vírus não classificados da família Rhabdoviridae na sexta reunião do ICTV (WUNNER et al., 1995). Contudo, estudos ao microscópio ele-

trônico de transmissão têm mostrado que há dois tipos de vírus transmitidos por ácaros *Brevipalpus* (VTB), respectivamente o nuclear e citoplasmático. O nuclear (VTB-N), que é representado pelo *Orchid fleck virus* (OFV), tem partículas em forma de bastonetes curtos presentes no núcleo e no citoplasma e produz um viroplasma nuclear. O genoma do OFV é conhecido, constituindo-se de dois fragmentos (ca. 6 kb) de ssRNA senso negativo e sua organização é similar a dos rhabdovirus, tendo sido proposto um novo gênero *Dichorhabdovirus* para OFV (KONDO et al., 2006). O citoplasmático (VTB-C) tem partículas baciliformes curtas que se acumulam no retículo endoplasmático e causam um viroplasma denso e vacuolado no citoplasma. Esse grupo é representado pelo vírus da leprose do citros, tipo citoplasmático (*Citrus leprosis virus cytoplasmic type* - CiLV-C). Seu genoma é constituído por dois segmentos de ssRNA (5 e 9 kb), senso positivo (PASCON et al., 2006), e sua organização é distinta dos demais vírus conhecidos, tendo sido proposto um novo gênero *Cilevirus* para este vírus (LOCALI-FABRIS et al., 2006).

O CoRSV tem muitas características em comum com OFV: (a) sintomas em formas de lesões localizadas; (b) transmissão por ácaros *Brevipalpus* (CoRSV é transmitido por *B. phoenicis* e o OFV por *B. californicus*); (c) têm algumas hospedeiras experimentais em comum as quais têm infecção sistêmica quando mantidas a alta temperatura; (d) víriões e efeitos citopático similares (KITAJIMA et al., 2003); (e) embora apenas parte do genoma do CoRSV seja conhecida, esta guarda similaridades com o do OFV (LOCALI-FABRIS et al., 2005); (f) *primers* específicos para CoRSV e OFV não promovem amplificação cruzada em ensaios de RT-PCR; (g) ensaios sorológicos usando anticorpos recíprocos indicam que, embora sejam distintos, OFV e CoRSV teriam alguns epítomos comuns (BOARI et al., 2004). Esses dados em conjunto sugerem fortemente que CoRSV seja distinto de OFV, mas pertenceria ao mesmo gênero *Dichorhabdovirus* (LOCALI-FABRIS et al., 2006).

Diagnose

Os sintomas causados pelo CoRSV são bastante característicos, podendo a diagnose ser realizada por meio da sintomatologia. Entretanto, a virose pode ser identificada por meio de indicadores de vírus, sorologia - ELISA e MET associado à sorologia (BOARI et al., 2004). Recentemente, após a realização do sequenciamento nucleotídico parcial do genoma, Locali-Fabris et al. (2005) desenvolveram um par de *primer* específico para a diagnose do CoRSV por meio da RT-PCR. Entretanto, esse *primer* específico não permitiu a amplificação do isolado CoRSV-SP pelo RT-PCR, indicando uma variabilidade gênica (KITAJIMA; CHAGAS, 2009).

Estudos citopáticos

As partículas de CoRSV são encontradas apenas em lesões encontradas em folhas, frutos (CHAGAS, 1978; CHAGAS et al., 2003; KITAJIMA; COSTA, 1972; RODRIGUES et al., 2002) e ramos (BOARI et al., 2003a). Kitajima e Costa (1972) constataram, por meio da microscopia eletrônica, a presença de partículas em forma de bastonetes, medindo de 35 nm a 40 nm de diâmetro por 100 nm a 110 nm de comprimento, nas células dos tecidos foliares infectados de cafeeiro (Figura 4). Outra característica marcante é a presença de uma massa electron-transparente no núcleo, referido como viroplasma (Figura 5). No caso do OFV, demonstrou-se que esse viroplasma contém proteínas virais, como demonstradas por ensaios de imunolocalização (KITAJIMA et al., 2001). As partículas podem ocorrer no núcleo, dispersas ou agregadas (Figura 9), no nucleoplasma e/ou no viroplasma e também no citoplasma, em geral associadas perpendicularmente às membranas do retículo endoplasmático. Essa associação ocasionalmente gera imagens em secções de partículas dispostas radialmente e circundado por membrana dupla, figura conhecida como “roda de carroça” (*spokewheel*) (Figura 10), descrita para OFV (LESE-MANN; BEGTRUP, 1971). Em raras ocasiões, as partículas em forma de bastonete, envoltas por membrana, podem ser encontradas dispostas longitudinalmente no lúmen do retículo endoplasmático (CHAGAS et al., 2003; KITAJIMA; CHAGAS, 2009).

Fotos: Elliot Watanabe Kitajima

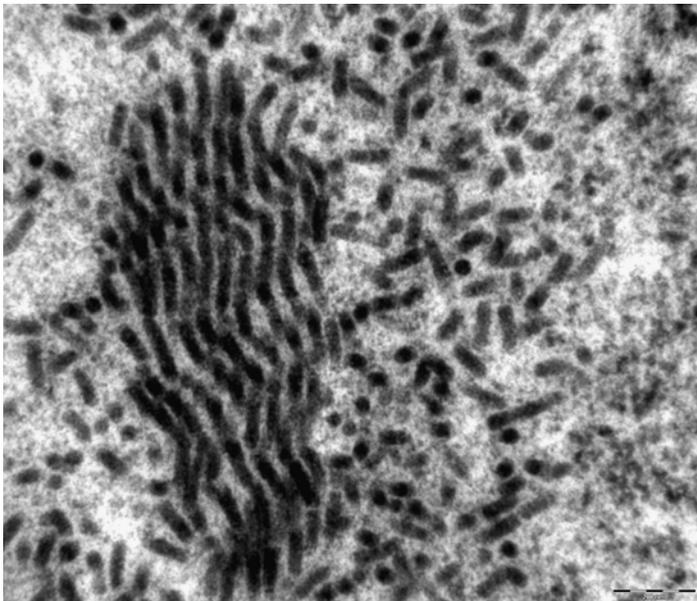


Figura 9. Partículas do CoRSV agregadas no núcleo.

Fotos: Elliot Watanabe Kitajima

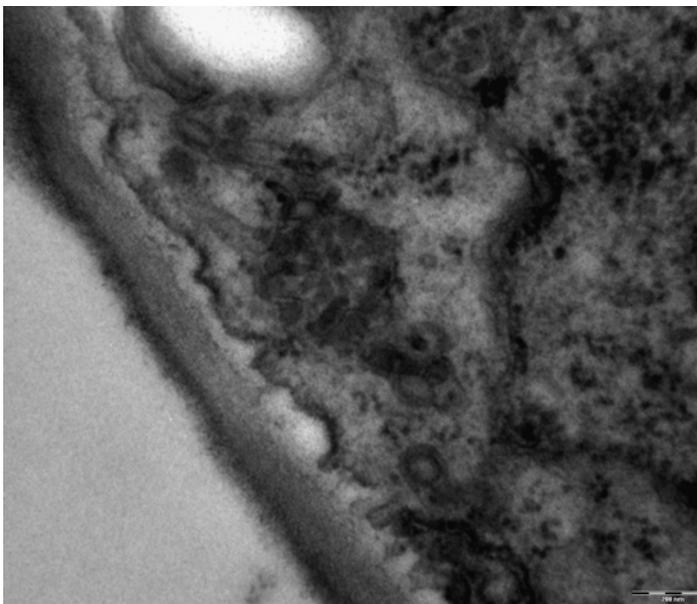


Figura 10. Estruturas do tipo *spokewheel* (roda de carroça) formadas por partículas de CoRSV associadas à membrana.

Recentemente, encontrou-se na cidade de São Paulo cafeeiros plantados em parques públicos ostentando sintomas de mancha anular, mas distinto das convencionais. As manchas têm coloração avermelhada, ferruginosa. São também transmissíveis por ácaros *B. phoenicis*, mas estudos citopáticos revelaram que raramente induzem viroplasma nuclear, e as partículas, não muito abundantes, ocorrem consistentemente no lúmen do retículo endoplasmático. *Primers* específicos para CoRSV não amplificaram por RT-PCR genoma deste isolado (CHAGAS et al., 2007). O eventual relacionamento e a posição taxonômica dessa forma distinta da mancha anular estão sob investigação.

Gama de hospedeiros

Chagas (1978) inoculou isolados de CoRSV provenientes de lavouras de café do Estado de São Paulo em diversas plantas indicadoras de vírus, mas obteve infecção local em apenas *C. quinoa* e *C. amaranticolor* (Chenopodiaceae). Boari et al. (2002, 2004) observaram que sintomas sistêmicos podem ser induzidos quando plantas de *Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor* e *Tetragonia expansa* (Figura 11), inoculadas mecanicamente com CoRSV, são mantidas a altas temperaturas (28–30 °C) por 10–14 dias. Na ausência da temperatura alta, essas espécies reagem somente com lesões locais cloróticas. Efeitos citopáticos idênticos aos observados em lesões locais foram notados em tecidos infetados sistemicamente (NOGUEIRA et al., 2000). Em 1998, Carvalho e Figueira relataram a infecção sistêmica de *C. quinoa*, mas não conseguiram reproduzi-la.

Além de *C. amaranticolor*, *C. quinoa* e *T. expansa*, o CoRSV infetou experimentalmente várias plantas como *Alternanthera tenella*, *N. tabacum* ‘White Burley’, *C. murale*, *Gomphrena globosa*, todas elas respondendo com lesão local (Figura 11) (BOARI et al., 2003b, 2004). Erva de Santa Maria (*Chenopodium ambrosioides*) e o caruru (*Amaranthus deflexus*) também foram infetadas experimentalmente (ALMEIDA et al., 2006, 2008).

Recentemente, Kitajima et al. (2007c) relataram a ocorrência de CoRSV no banco de germoplasma de *Coffea* e rubiáceas afins, mantidas no Centro Apta Café do Instituto Agrônomo (IAC) em Campinas, SP. Por

meio de microscopia eletrônica e RT-PCR, verificaram que *C. kapakata*, *C. dewevrei* cv. Excelsa, *C. arabica* x *C. dewevrei*, *C. canephora* cv. Robusta e os híbridos Timor (*C. arabica* e *C. racemosa*) e *C. arabica* x *C. dewevrei* se encontravam naturalmente infectadas pelo CoRSV. Neste levantamento, constatou-se o primeiro caso de uma espécie rubiácea não *Coffea*, *Psylanthus ebracteolatus*, naturalmente infetada pelo CoRSV. Novelli et al. (2009) constataram um caso de infecção natural da ornamental *Spatiphyllum wallisi* pelo CoRSV, resultando em manchas cloróticas. Há um caso de infecção experimental de maracujazeiro (*Passiflora edulis* f. flavicarpa) pelo CoRSV, mas não para citros (MASCARENHAS et al., 2009). Em todos esses casos, a confirmação da infecção pelo CoRSV foi feita por microscopia eletrônica e RT-PCR. Em comunicação pessoal, Hércio Costa³ do Encaper relatou que a mancha anular ocorre em café canéfora (*Coffea canephora* Perre & Froenher) no Estado do Espírito Santo, mas este caso requer confirmação por outros ensaios, já que diagnose por sintomatologia apenas não é confiável.

O isolado CoRSV-SP não pode ser transmitido mecanicamente tanto para mudas de café como para outras plantas hospedeiras (CHAGAS et al., 2007).

Purificação do CoRSV

O CoRSV pode ser purificado (BOARI et al., 2004) utilizando os protocolos de Chang et al. (1976) modificados.

Inicialmente, plantas de *C. quinoa* com dez dias de pós-transplântio são inoculadas mecanicamente e mantidas por uma a duas semanas em câmaras de crescimento a 28 °C e acondicionadas em telado para desenvolvimento dos sintomas por mais dez dias.

Cem gramas de folhas de *C. quinoa* com sintomas de mosaico são trituradas com 150 mL de tampão fosfato 0,1M, pH 7,0, contendo 0,01M de Na-DIECA, 0,1% de ácido ascórbico e 5% de Triton X-100. Após

³ Entrevista concedida pelo Dr. Hércio Costa, da Encaper-ES, Salvador (Ba), à Dra. Alessandra de Jesus Boari, bolsista Prodoc do CNPq, em 08.08.98.

Fotos: Alessandra de J. Boari

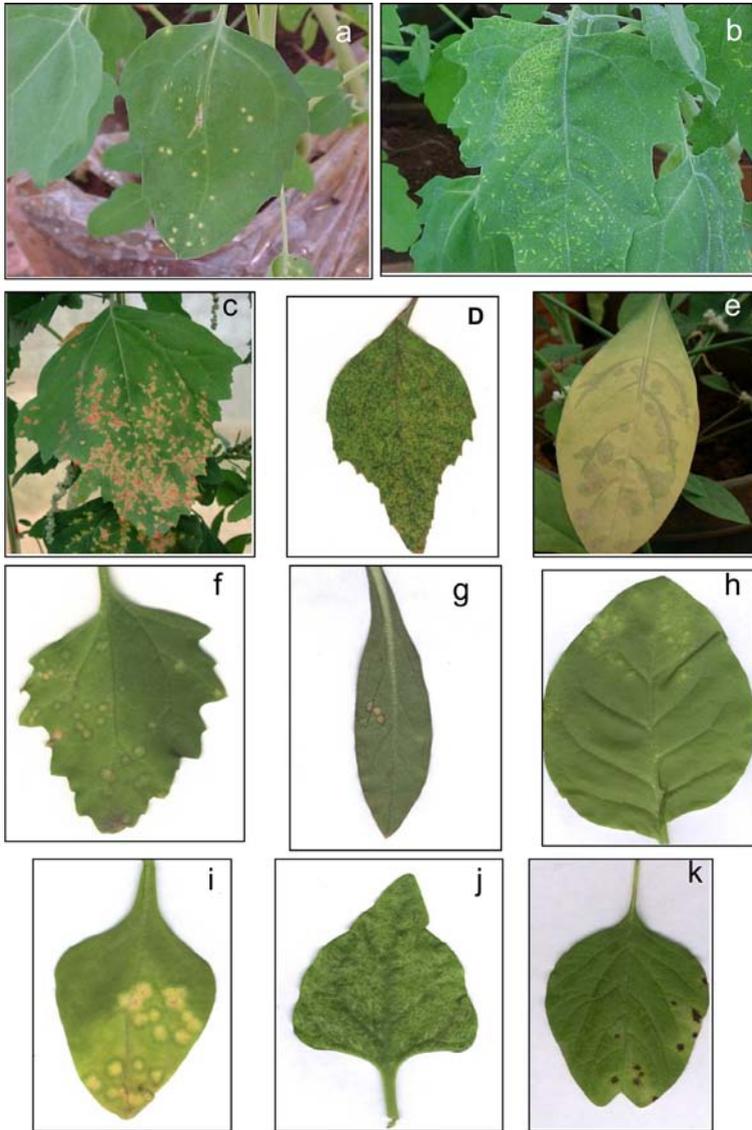


Figura 11. Folhas de *C. quinoa* (a,b), *C. amaranticolor* (c,d), *A. tenella* (e), *C. murale* (f), *G. globosa* (g), fumo cv. Samsum (h), *T. expansa* (i,j) e *A. deflexus* (k) mostrando sintomas causados pelo CoRSV após inoculação mecânica. As figuras a, c, e, f, g, h, i e k mostram folhas com lesões locais. As figuras b, d e j mostram folhas com infecção sistêmica.

a centrifugação do homogeneizado a 5 mil rpm por 15 minutos, faz-se a centrifugação do sobrenadante em colchão de sacarose (20%) a 29.500 rpm (rotor 30) por 150 minutos. Em seguida, faz-se outro ciclo de centrifugação diferencial e, posteriormente, a centrifugação (90 minutos) em gradiente de sacarose (10% – 40%). Frações do gradiente são coletadas e é lida a absorbância. A fração de maior pico de absorbância foi centrifugada a 29.500 rpm por 150 minutos.

Após ressuspensão do *pellet* com tampão fosfato 0,02M, pH 7,2 e baixa centrifugação, faz-se a observação deste em microscopia eletrônica de transmissão (MET), utilizando contrastação negativa com acetato de uranila (1%) para verificar a qualidade do purificado.

Após o processo de purificação, as partículas se mantiveram infectivas, pois as plantas de *C. quinoa* reagiram com sintomas de lesão local.

As partículas se apresentaram quebradas (Figura 6) provavelmente em razão da ação dos reagentes utilizados no processo da purificação.

Produção de antissoro e relacionamento sorológico

Boari et al. (2004) produziram antissoro a partir das partículas de CoRSV purificadas por meio da injeção destas no coelho branco da raça Nova Zelândia e um mês após coletaram o sangue para extração do antissoro.

O antissoro foi testado utilizando o ELISA-PTA contra extrato de folha de café sadio e infectado pelo CoRSV, folhas de *C. quinoa* sadias e infectadas, e espinafre sadio e infectado pelo OFV.

Após adsorção do antissoro com extrato de *C. quinoa* sadio, realizaram o teste Elisa-PTA e verificaram a eficiência deste na detecção do CoRSV, na diluição de 1:500, nas amostras de *C. quinoa* e café infectadas pelo CoRSV. Ensaios sorológicos comparativos, em ELISA indireto, usando antissoro contra CoRSV e OFV, previamente adsorvidos, demonstraram que houve forte reação cruzada, evidenciando epítipo(s) em comum. Em experimentos de imunomarcção *in situ*, houve marcação significativa sobre o viroplasma nuclear em células infectadas pelo CoRSV ou OFV em reações homólogas, e uma leve marcação nas reações heterólogas usando antissoros antiCoRSV e antiOFV.

RNA do CoRSV

Boari et al. (2004) fizeram a extração do RNA viral misturando 100 µl da preparação viral purificada, 300 µl com adição de 100 µl de tampão de extração de RNA (0,2 M glicina, 0,2 M NaCl, 0,02 M EDTA, pH 9,5), 40 µl de SDS (20%) e 5,4 µl de proteinase K (20 mg/mL). Após a incubação dessa mistura a 37 °C por 1 hora, o RNA viral foi extraído com um volume igual de fenol/clorofórmio (1:1) e precipitado em 2,5 volumes de etanol absoluto e 1/20 do volume, com 3M acetato de sódio pH 5,5. Em seguida, o pellet foi lavado com álcool 70% e ressuscitado em 50 µl de água tratada com DEPC. O RNA extraído foi observado por meio da eletroforese em gel de agarose (0,8%). Após a extração de RNA a partir deste purificado, observou-se por meio da eletroforese a presença de duas bandas de RNA com cerca de 6.000 nts e 6.400 nts, evidenciando a sua semelhança com outros vírus tentativamente classificados como *Rhabdovirus* (*Citrus leprosis virus*-CiLV e *Orchid fleck virus*).

Locali (2002), comparando o RNA de fita dupla (forma replicativa – dsRNA) do CiLV com CoRSV, verificou que o vírus possuía dois genomas de cerca de 6.000 pb e 7.000 pb.

Parte do genoma do CoRSV pode ser obtido a partir do dsRNA e sequenciado, gerando pares de *primers* que permitiram a detecção específica do CoRSV por meio de ensaios de RT-PCR (LOCALI-FABRIS et al., 2005).

Preservação do vírus

O vírus pode ser mantido *in vivo* em plantas de *C. quinoa*, *C. amaranticolor* e *T. expansa* inoculadas e expostas por sete dias a 28 °C constante e posteriormente mantida em estufa telada.

Também pode ser preservado *in vitro* por meio da dessecação dos cortes das folhas de *C. quinoa*, *C. amaranticolor* e *T. expansa* infectadas sistemicamente pelo vírus, utilizando dessecador contendo sílica gel mantidos a 10 °C. Após sete dias, os dessecados são embalados em envelopes de papel manteiga, dentro de vidros fechados hermeticamente contendo

sílica gel, e armazenados a -20 °C. O vírus se manteve infectivo por mais de 3 anos, quando foi realizada a última inoculação.

As folhas infectadas também podem ser preservadas em nitrogênio líquido por tempo indeterminado.

Vetor – *Brevipalpus phoenicis*

No Brasil, esse ácaro também foi identificado como vetor da leprose do citros, causada pelo CitLV-C (MUSUMECI; ROSSETTI, 1963); da mancha verde do maracujá, causada pelo vírus da mancha verde do maracujá (*Passion fruit Green spot virus* – PFGSV) (KITAJIMA et al., 1997) e de outras doenças (KITAJIMA et al., 2010).

Em 1973, Chagas observou que o vírus da mancha anular do cafeeiro era transmitido por populações do ácaro *B. phoenicis* (Acari: Tenuipalpida). Segundo Chagas et al. (2003), a eficiência da transmissão do vírus pelas fêmeas adultas foi de 24%, e a transmissão transovariana não ocorreu.

A fim de melhor compreender as relações vírus/vetor, Kitajima et al. (2007b) estudaram secções ultrafinas de ácaros *B. phoenicis* coletados em cafeeiros, provenientes de Lavras, MG, e Campinas, SP, exibindo manchas cloróticas, nas quais o CoRSV foi detectado em exames histológicos. Efeitos citopáticos essencialmente similares aos observados nas células parenquimatosas (viroplasmas e partículas arranjadas em forma de roda de carroça) das lesões em folhas e frutos de cafeeiro foram observados em algumas células das glândulas prosomais de ácaros procedentes de plantas infectadas, mas não de plantas sadias. Segundo os autores, essa constatação sugere que CoRSV replica-se nos tecidos do ácaro e, portanto, a relação vírus/vetor seria do tipo circulativo propagativo. Costa et al. (2009) verificaram a presença do CoRSV em diferentes fases de desenvolvimento do ácaro através de ensaios de RT-PCR.

O isolado CoRSV-SP também é transmitido pelo *B. phoenicis* para mudas de café que reproduziram os sintomas de anéis avermelhados. Segundo Kitajima e Chagas (2009), os estágios larvas, ninfas e adultos foram capazes de transmitir esse isolado após alimentação por um período de 18 a 24 horas.

No Brasil, esse ácaro tem sido relatado vivendo em cafeeiros (*Coffea* spp.) pelo menos desde 1950 (AMARAL, 1951), quando foi relatado no Estado de São Paulo como *Tenuipalpus phoenicis* Geijskes, 1939, juntamente com surtos do ácaro-vermelho.

Segundo Childers et al. (2003), *B. phoenicis*, o ácaro plano, é de distribuição cosmopolita nas regiões tropicais e subtropicais e polífago, tendo sido encontrado infestando centenas de plantas, muitas delas de importância econômica, incluindo o cafeeiro. O ciclo evolutivo do ácaro compreende as fases de ovo, larva protocrisálida, protoninfa, deutocrisálida, deutoninfa, teliocrisálida e adulta. Sua reprodução pode ser sexuada ou partenogênica deuterotoca, sendo a última mais comum. A população é maior nos períodos mais secos do ano e com temperaturas amenas. Por ter reprodução partenogênica e pelo fato de a feminilização desses ácaros ser determinada por uma bactéria simbiote *Cardinium*, as populações são predominantemente de fêmeas, com raros machos.

Em cafeeiro, o ácaro é encontrado nas folhas, ramos e frutos. Nas folhas localizam-se na página inferior, próximo às nervuras, principalmente central. Nos ramos são encontrados nas fendas e, nos frutos, na coroa e pedúnculo. A maior população concentra-se no terço inferior e internamente à planta, região onde se encontram a maioria das folhas com mancha anelar. Nos ramos, se encontra em maior população na parte verde, onde se concentram as folhas. Na época da frutificação observou-se que os ácaros preferem os frutos para ovoposição (REIS, 2002).

Epidemiologia

Boari et al. (1999) realizaram uma avaliação epidemiológica da mancha anular do cafeeiro baseada na distribuição de plantas afetadas em uma lavoura no município de Ijaci, MG. A detecção de plantas de café infectadas pelo vírus foi feita visualmente pela observação de manchas típicas em folhas e frutos de café. Na avaliação da incidência do CoRSV foram avaliadas 700 plantas, quanto ao número de plantas contendo folhas e/ou frutos apresentando manchas típicas. Para verificar a incidência de

folhas e frutos manchados pelo CoRSV, foram coletados 20 frutos por pé, na altura mediana, de cinco plantas, que compôs uma amostra de 50 frutos. Foram avaliadas sete fileiras compostas de 100 plantas.

Em média, observaram-se 50% de frutos manchados pelo CoRSV.

Cem por cento das plantas avaliadas apresentaram frutos com sintoma característico de mancha anular do cafeeiro.

O mapeamento revelou grande incidência da mancha anelar CoRSV formando um gradiente, tanto no sentido da linha quanto das entrelinhas (Figura 12). A maior incidência foi observada nas plantas próximas à cerca viva.

A ocorrência do CoRSV em altas incidências na região sul do Estado de Minas Gerais é preocupante, já que essa região é a maior produtora de café, com 50% da produção estadual e 34% da produção nacional.

Foto: Edson Ampélio Pozza

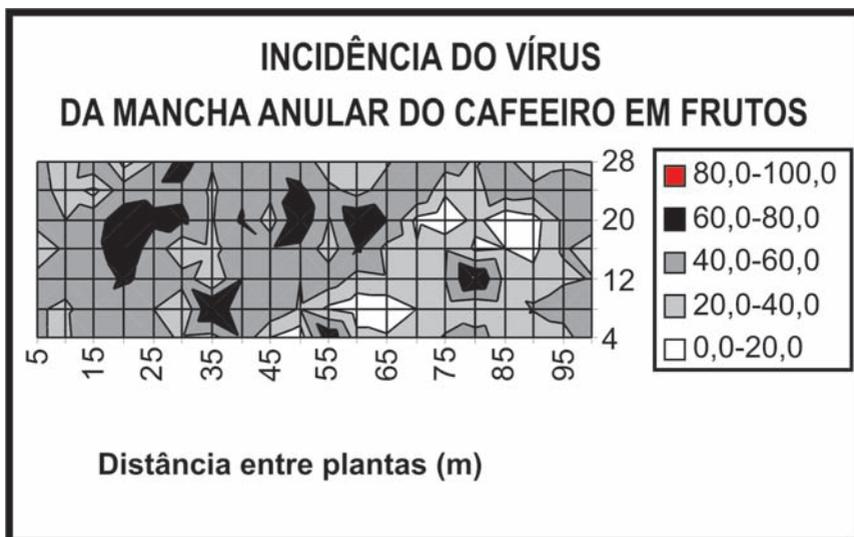


Figura 12. Mapa da distribuição da mancha anular em uma lavoura no Município de Ijaci, MG, com a porcentagem de frutos doentes nesse município.

Nos municípios de Coromandel, Boa Esperança, Três Pontas, Ijací e Varginha, do Estado de Minas Gerais, foram observadas lavouras com 100% de plantas doentes. No município de Ijací, MG, foram observadas poucas folhas apresentando manchas de CoRSV. Entretanto, na época de frutificação observou-se 100% de plantas contendo frutos manchados pelo vírus (BOARI et al., 1999). Segundo Reis et al. (2000), os ácaros preferem os frutos para ovoposição, o que pode explicar tal fato.

Boari et al. (2001b) elaboraram uma escala diagramática para avaliação da severidade da mancha anular em folha e Girão (2007), em frutos de cafeeiro.

Danos e perdas

Qualidade da bebida produzida por frutos manchados pelo CoRSV

Boari et al. (2006) realizaram testes bioquímicos e de xícara (gustação). Em uma lavoura de café “Mundo Novo”, no Município de Ijací, MG, com 100% de incidência de plantas com mancha anular, foram coletadas aleatoriamente 22 amostras de frutos sadios e com mancha típica da doença, seguindo o Delineamento Inteiramente ao Acaso. Cada amostra foi coletada de dez plantas e as amostras sadias e doentes foram coletadas das mesmas plantas. Cada amostra consistiu de 3 a 4 litros de frutos frescos, que foram secados em telados e posteriormente analisados.

As amostras de café foram analisadas quanto aos teores de polifenolxidas, compostos fenólicos, lixiviação e porcentagem de potássio, açúcares totais, redutores e não redutores e teste de xícara pelo laboratório de referência da Epamig. A prova de xícara (PX) foi feita por meio de degustação por especialista da área, seguindo-se a classificação oficial diferenciando as amostras entre rio, riada, dura, apenas mole, mole e estritamente mole, que receberam, respectivamente, as notas zero, um, dois, três, quatro e cinco. As médias foram comparadas pelo teste de comparação múltipla de Newman-Keuls a 5% de probabilidade.

No que se referem aos compostos fenólicos totais, açúcares não redutores, açúcares totais e lixiviação de potássio, os autores não verificaram diferença estatística entre grãos de frutos manchados e não manchados. Entretanto, verificou-se que os grãos de frutos manchados produziram menos açúcares redutores e maior condutividade elétrica que os de não manchados. Segundo Prete (1992), a condutividade elétrica e a lixiviação de potássio nos grãos de café com diferentes defeitos apresentam valores mais elevados para esses parâmetros quando as membranas são mais deterioradas. De acordo com Clarke e Macrae (1985), os teores de sacarose (açúcar redutor) dependem de vários fatores como, por exemplo, a maturidade dos frutos. Nos frutos de café atacados por CoRSV, a maturação é irregular, o que pode ter levado à redução de açúcares redutores.

Com relação à prova de xícara (sensorial), verificou-se diferença significativa entre as bebidas provenientes de frutos com e sem manchas. Os frutos manchados tiveram nota 3,63, sendo enquadrados com bebida apenas mole, já os frutos sem manchas alcançaram nota 4,00 dando um padrão superior de bebida e sendo enquadrado como bebida mole.

Girão (2007) montou uma escala de severidade (0%, 9%, 77% e 90%) da mancha anular em frutos de café estádio cereja para avaliação da qualidade de bebida e verificou que frutos com mais de 90% da área manchada pelo CoRSV apresentaram menor atividade de polifenoloxidase, maior teor de compostos fenólicos e açúcares redutores, sugerindo que pode afetar a adstringência e conseqüentemente a qualidade da bebida.

Efeito do CoRSV no peso de grãos de café

Devido ao sintoma de mancha amarelada na casca do fruto do café provocado pelo vírus, suspeitou-se que o vírus pudesse interferir no metabolismo e, conseqüentemente, prejudicar a formação do grão. Desse modo, Boari et al. (2006) utilizaram as amostras de frutos de café coletadas para o teste bioquímico e de xícara, as quais após a secagem e descascamento foram pesadas em balança de precisão. Cem grãos de cada amostra, proveniente de frutos com e sem manchas, foram pesados e analisados pelo teste de Tukey. Fizeram-se onze repetições.

O peso dos grãos derivados de frutos manchados foi cerca de 5% menor quando comparado com frutos não manchados.

Essa redução na produção foi subestimada, pois o teste não levou em consideração os danos causados pela queda de folhas, redução de fotossíntese nas áreas manchadas das folhas, alterações do metabolismo, etc.

O fato de o CoRSV induzir à senescência precoce das folhas e frutos já é sinônimo de dano na fotossíntese da planta devido à redução do seu painel fotossintético. O mesmo pode-se falar das áreas cloróticas nas folhas onde há uma menor concentração de cloroplastos e/ou clorofila.

A redução de 5% da produção já mostra a importância que o CoRSV representa para a cafeicultura brasileira.

Obviamente, danos em produção no cafeeiro estarão vinculados à população de ácaros que se encontra em uma lavoura infectada, uma vez que se trata de um vírus que não é sistêmico na planta, ou seja, estão presentes apenas nas manchas. A alta incidência e severidade da mancha anular verificada no Alto Paranaíba: Coromandel, Paracatu e Patos de Minas (FIGUEIRA et al., 1995, 1996) e Sul de Minas: Varginha, Três Pontas, Lavras, Ijaci, Boa Esperança, Alfenas e Nepomuceno (BOARI et al., 1999, 2004) obviamente coincidiu com a alta população de ácaros nas lavouras.

Controle

Mesmo numa plantação que sofrera forte geada, resultando em uma intensa desfolha nos meses de junho e julho, nas brotações da parte central da planta em agosto, notaram-se sintomas da mancha anular do cafeeiro (RODRIGUES; NOGUEIRA, 2001).

Em uma lavoura no Município de Coromandel, MG, verificou-se que, em um talhão que apresentava um histórico de mancha anular e que fora recepada (corte do caule acima de 30 cm) há dois anos, houve reaparecimento dos sintomas de manchas em folhas e frutos em muitas plantas após 1 ano. Por se tratar de um vírus que não infecta o cafeeiro siste-

micamente, imaginou-se que a recepa seria uma estratégia de controle da doença. A reincidência da virose, provavelmente, se deve a ácaros virulíferos que se mantiveram na casca do tronco e, após a brotação, se translocaram para se alimentar e consequentemente transmitiram o CoRSV. Talvez o ideal seja a recepa bem feita sem deixar folhas no tronco e a aplicação de acaricida logo a seguir. Posteriormente, seria realizada a inspeção periódica do plantio para observação de plantas sintomáticas para proceder a aplicação de acaricidas sistêmicos e poda de ramos doentes. Contudo, não se pode descartar a possibilidade de que a fonte de inóculo esteja em plantas que crescem no interior ou nas proximidades dos cafezais e que possam abrigar o ácaro e o vírus.

Segundo Reis et al. (2004), o controle do ácaro da mancha anular deve ser feito em função da incidência da doença e não do número de ácaros. Caso seja constatada a incidência da mancha anular, recomenda-se duas aplicações de acaricidas seletivos aos ácaros predadores. A primeira aplicação deve ser feita após a colheita dos frutos, época em que o cafeeiro fica mais desfolhado, o que facilita a penetração dos produtos nas partes mais internas das plantas. A segunda aplicação deve ser feita logo após o aparecimento dos frutos no estágio chumbinho, pois os ácaros se dirigem para os frutos para se alimentar e colocar ovos na região da coroa.

Mineiro (2006) verificou que o acaricida que apresentou reduções significativas na população de *B. phoenicis* foi o aldicarb. Enquanto Fernandes et al. (2008) verificaram que abamectina apresentou maior eficiência no controle do ácaro.

A mancha anular do cafeeiro pode levar a um aumento do custo da produção de café devido à necessidade da utilização de mais de um tipo de acaricida, como está ocorrendo com a citricultura no Estado de São Paulo, onde o maior problema da cultura é a leprose dos citros disseminada pelo *B. phoenicis*.

Referências

ABIC. 2010. Disponível em: <www.abic.com.br/estat_pagricola.html>. Acesso em: 21 jun. 2010.

ALMEIDA, J. E. M.; FIGUEIRA, A. R.; COSTA, R. R.; GALVINO, S. B. F.; CAMARGO, V. N.; RABELO FILHO, F. A. C.; OLIVEIRA, C. L. *Amaranthus deflexus*: Uma nova hospedeira para Coffee ringspot virus (CoRSV). **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 33, p. 295-295, 2008. Reumos do Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2008, Belo Horizonte.

ALMEIDA, J. E. M.; FIGUEIRA, A. R.; GALDINO, S. B. F.; FERRO, H. M.; PEREIRA, S. L. Erva de Santa Maria (*Chenopodium ambrosioides*) é uma hospedeira eficiente para o Coffee ringspot virus (CoRSV). **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 58, 2006. Resumos do XXXIX Congresso Paulista, 2006, Jaboticabal.

AMARAL, J. F. O ácaro dos cafezais. **Boletim da Superintendência do Serviço do Café**, São Paulo, v. 26, n. 296, p. 846-848, 1951.

BITANCOURT, A. A. A mancha anular, uma nova doença do cafeeiro. **O Biológico**, v. 4, p. 404-405, 1938.

BOARI, A. J.; FIGUEIRA, A. R.; BARBOSA, J. F.; MACHADO, C. F.; POZZA, E. A. Occurrence of Coffee ringspot vírus and its incidence analysis in coffee fruits as a function of distance CoRSV. **Virus Reviews and Research**, Rio de Janeiro, v. 4, p. 152, 1999.

BOARI, A. J.; FIGUEIRA, A. R.; NEDER, D. G.; SANTOS, R. de C.; GOUSSAIN, M. M.; NOGUEIRA, N. L.; ROSSI, M. L. Vírus da mancha anular do cafeeiro (*Coffee ringspot virus* – CoRSV): influência na qualidade da bebida e na produção de grãos de café. **Summa phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 2, p. 192-194, abr./jun. 2006.

BOARI, A. J.; FREITAS-ASTUA, J.; FERREIRA, P. T.; NEDER, D. G.; NOGUEIRA, N.; ROSSI, M. L.; KITAJIMA, E. W. Purification and serology of the Coffee ringspot virus (CoRSV) and its relationship with Orchid fleck virus (OFV). **Virus Research and Research**, v. 8, n. 1, p. 201, 2003a.

BOARI, A. J.; FIGUEIRA, A. R.; NEDER, D. G.; INFIESTA, L. R.; NOGUEIRA, N. L.; ROSSI, M. L.; KITAJIMA, E. W. Efeito da temperatura na infecção sistêmica de *Chenopodium quinoa* pelo Coffee ringspot virus (CoRSV). **Fitopatologia brasileira**, Brasília, DF, v. 28, supl., pS246-S247, 2003b.

BOARI, A. J.; FIGUEIRA, A. R.; NEDER, D. G.; NOGUEIRA, N. L.; ROSSI, M. Reaction of the new host *Gomphrena globosa* e *Alternanthera tenella* to isolates of Coffee ringspot vírus (CoRSV). **Virus Review and Research**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 2, p. 156, 2002.

BOARI, A. J.; FIGUEIRA, A. R.; NOGUEIRA, N. L.; MORI, A. E.; ROSSI, M. L.; BARROCAS, E. N. Detecção de partículas de Coffee ringspot virus (CoRSV) em manchas amareladas presentes nos ramos de cafeeiros. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, DF, v. 26, n. 4, p. 522, 2001a.

BOARI, A. J.; POZZA, E. A.; FIGUEIRA, A. R.; MORI, A. E.; SOUZA, E. R. Elaboração de escala diagramática para avaliação da severidade da mancha anular do cafeeiro. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, DF, v. 26, supl., p. 522, 2001b.

BOARI, A. J.; FREITAS-ASTUA, J.; FERREIRA, P. T.; NEDER, D. G.; NOGUEIRA, N.; ROSSI, M. L.; KITAJIMA, E. W. Purification and serology of the Coffee ringspot virus (CoRSV). **Summa phytopathology**, Botucatu, v. 30, n. 4, p. 453-58, 2004.

BRANQUINHO, W.G.; CUPERTINO, F.P.; TAKATSU, A.; KITAJIMA, E.W.; BOITEUX, L.S. Doenças que afetam plantios de café e de mandioca no Distrito Federal. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, DF, v. 13, n. 2, p. 140, 1988.

CARVALHO, C. M.; FIGUEIRA, A. R. Isolados atuais do vírus da mancha anular do cafeeiro invadem sistemicamente hospedeiras experimentais. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, DF, v. 23, supl., p. 314, 1998.

CHAGAS, C. M. Associação do ácaro *Brevipalpus phoenicis* Geijskes à mancha anular do cafeeiro. **O Biólogo**, v. 39, p. 229-232, 1973.

CHAGAS, C. M. **Mancha anular do cafeeiro: transmissibilidade, identificação do vetor e aspectos anátomo-patológicos da espécie *Coffea arabica***. 1978. 132 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociência, Universidade de São Paulo, 1978.

CHAGAS, C. M.; KITAJIMA, E. W.; LOCALI-FABRIS, E. Isolado distinto do vírus da mancha anular do cafeeiro (CoRSV). **Fitopatologia brasileira**, Brasília, DF, v. 32, supl., p. S135, 2007.

CHAGAS, C. M.; KITAJIMA, E. W.; RODRIGUES, J. C. V. Coffee ringspot vírus vectored by *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) in coffee. **Experimental and Applied Acarology**, Dordrecht, v. 30, p. 203-213, 2003.

CHANG, M. U.; ARAI, K.; DOI, Y.; YORA, K. Morfology and intracellular appearance of orchid fleck virus. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**, v. 42, p. 156-167, 1976.

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**, Amsterdam, v. 30, p. 29-105, 2003.

CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Ed.). **Coffee chemistry**. London: Elsevier Applied Science, 1985. v. 1.

CONAB. **Safras**: comparativo da área, produção e produtividade. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 21 fev. 2008.

COSTA, F. M.; FREITAS-ASTÚA, J.; BASTIANEL, M.; LOCALI-FABRIS, E. C.; MACHADO, M. A.; KUBO, K. S.; GONDIM JÚNIOR, M. G. C.; NOVELLI, V. M.; PEREIRA, J. Á. Detecção do vírus da mancha anelar do cafeeiro (CoRSV) nas diferentes fases do ácaro vetor *Brevipalpus phoenicis*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 34, supl., p. S272, ago. 2009. Edição dos Resumos do XLII Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Rio de Janeiro, ago. 2009. Resumo 919.

FERNANDES, A. P.; OLIVEIRA, C. A. L.; FERREIRA, M. C. Eficiência de acaricidas sobre populações de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) de citros e cafeeiro. **Revista de Agricultura**, v. 83, p. 47-55, 2008.

FIGUEIRA, A. R.; PASSETO, L. A.; CARVALHO, C. M. A disseminação do vírus da mancha anular do cafeeiro em Minas Gerais tem aumentado acima das expectativas. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, DF, v. 23, p. 317, 1998. Abstracts do Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 31, 1998, Fortaleza.

FIGUEIRA, A. R.; REIS, P. R.; CARVALHO, V. I.; PINTO, A. C. S. Vírus da mancha anular do cafeeiro tem causado prejuízos relevantes. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, DF, v. 20, p. 299, 1995. Resumo do Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 28, 1995, Ilhéus.

FIGUEIRA, A. R.; REIS, P. R.; CARVALHO, V. L.; PINTO, A. C. S. Coffee ringspot virus is becoming a real problem to brazilian coffee growers. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF VIROLOGY, 10., 1996, Jerusalem, Israel. **Abstracts...** Jerusalem: [s.n.], 1996. p. 203.

GIRÃO, L. V. C. **Comportamento da mancha anular do cafeeiro no campo e sua influência na qualidade de bebida**. 2007. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

GODOY, C. V.; BERGAMIN FILHO, A.; SALGADO, C. L. Doenças do cafeeiro (*Coffea arabica* L.). In: KIMATI, H. **Manual de fitopatologia: doenças de plantas e seu controle**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p. 184-200.

GRANER, E. A.; GODOY JUNIOR, C. **Manual do cafeicultor**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1967. 320 p.

GUIMARÃES, R. J.; MENDES, A. N. G.; SOUZA, C. A. S. **Cafeicultura**. Lavras: UFLA: FAEPE, 2002. 317 p.

JULLIATTI, F. C.; BAO, S. N.; ARAUJO, A. C. G.; KITAJIMA, E. W.; NEVES, J. B.; PEIXOTO, J. R. Mancha anular do cafeeiro: etiologia viral e danos em lavouras da região de Araguari, MG. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 20, supl., p. 337, 1995. Resumo do Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 28., 1995, Ilhéus.

KITAJIMA, E. W.; CHAGAS, C. M.; LOCALI-FABRIS, E. C. Isolado distinto do vírus da mancha anular do cafeeiro (CoRSV). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 32, supl., p. S135, ago. 2007a. Resumo do Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2007, Maringá.

KITAJIMA, E. W.; BOARI, A. J.; CHAGAS, C. M. Detecção do vírus da mancha anular do cafeeiro nos tecidos do ácaro vetor *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae). **Fitopatologia brasileira**, Brasília, DF, v. 32, supl., p. S135, ago. 2007b. Resumo do Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2007, Maringá.

KITAJIMA, E. W.; CHAGAS, C. M.; BRAGHINI, M. T.; FAZUOLI, L. C.; LOCALI, E. C. Infecção natural de varias espécies e híbridos de coffeea e uma outra espécie de Rubiácea pelo vírus da mancha anular do cafeeiro (CoRSV). **Fitopatologia brasileira**, Brasília, DF, v. 32, supl., p. S134, ago. 2007c. Resumo do Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2007, Maringá.

KITAJIMA, E. W.; COSTA, A. S. Partículas baciliformes associadas à mancha anular do cafeeiro. **Ciência e Cultura**, v. 24, p. 542-545, 1972.

KITAJIMA, E. W.; CHAGAS, C. M. Viral diseases of coffee. In: WINTGENS, J. N. (Ed.). **Coffee: growing, processing, sustainable production**. 2nd Ed. Wienheim: Wiley-VCH, 2009. p. 550-556.

KITAJIMA, E. W.; REZENDE, J. A. M.; CHAGAS, C. M.; RODRIGUES, C. V. *Brevipalpus* – transmitted plant vírus and viruslike diseases: cytopathology and reports of cases. **Experimental and Applied Acarology**, Dordrecht, v. 30, p. 135-160, 2003.

KITAJIMA, E. W.; REZENDE, J. A. M.; RODRIGUES, J. C. V.; CHIAVEGATO, L. G.; PIZA JUNIOR, C. T.; MOROZINI, W. Green spot of passion fruit, a possible viral disease associated with infestation by the mite *Brevipalpus phoenicis*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 22, n. 4, p. 555-559, 1997.

KITAJIMA, E. W.; KONDO, H.; MACKENZIE, A.; REZENDE, J. A. M.; GIORIA, R.; GIBBS, A.; TAMADA, T. Comparative cytopathology and immunocytochemistry of Japanese, Australian and Brazilian isolates of orchid fleck virus. **Journal of General Plant Pathology**, Tokyo, Japão, v. 67, n. 3, p. 231-237, 2001.

KITAJIMA, E. W.; RODRIGUES, J. C. V.; FREITAS-ASTUA, J. An annotated list of ornamentals naturally found infected by Brevipalpus-mite transmitted viruses. **Scientia Agrícola**, v. 67, p. 348-371, 2010.

KONDO, H.; MAEDA, T.; SHIRAKO, Y.; TAMADA, T. Orchid fleck virus is a rhabdovirus with an unusual bipartite genome. **Journal of general virology**, v. 87, p. 2413-2421, 2006.

LESEMANN, D.; BEGRUP, J. Elektronenmikroskopischer Nachweis eines bazilliformen virus in *Phalaenopsis*. **Phytopathologisch Zeitschrift**, v. 71, p. 257–269, 1971.

LOCALI, E. C. **Seqüenciamento de regiões genômicas do vírus da leprose dos citros**. 2002. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.

LOCALI-FABRIS, E. C.; FREITAS-ASTÚA, J.; ANTONIOLI, R.; BOARI, A. J.; MACHADO, M. A. Diagnose da mancha anular do cafeeiro através de RT-PCR. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 30, supl., p. 185, 2005. Resumos do Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 38., 2005, Brasília, DF.

LOCALI-FABRIS, E. C.; FREITAS-ASTUA, J.; SOUZA, A. A.; TAKITA, M. A.; ASTUA-MONGE, G.; ANTONIONI-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. **Journal of General Virology**, v. 87, p. 2721-2729, 2006.

MARTINEZ, G. Vírus em café I. Transmision del virus de los Anillos cloroticos del café (Coffee clorotic ringspot calimovirus, CoCRSV). Manizales: Universidad de Caldas, 2003. 2 p. (Fitotecnia, 75).

MASCARENHAS, G.; KITAJIMA, E. W.; PEREIRA, J. A.; KUBO, K. S.; FREITAS-ASTÚA, J. *Passiflora edulis*: uma nova hospedeira para o vírus da mancha anular do cafeeiro (CoRSV). **Tropical and Plant Patology**, v. 34, supl., p. S269, ago. 2009.

MATIELLO, J. B.; ALMEIDA, S. R.; SILVA, M. B.; SILVA, O. A.; VIEIRA, E. Expansão do ataque da leprose do cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEI-RAS, 21., 1995, Caxambu. **Trabalhos apresentados...** Rio de Janeiro: MARA / PROCAFÉ, 1995. p. 6.

MINEIRO, J. L. C. **Ecologia do ácaro da mancha-anular (*Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) em cafeeiros no estado de São Paulo.** 2006. 143 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

MUSUMECI, M. R.; ROSSETTI, V. Transmissão dos sintomas da leprose dos citros pelo ácaro *Brevipalpus phoenicis*. **Ciência e cultura**, v. 15, n. 1, p. 228, 1963.

NOGUEIRA, N. L.; FILGUEIRA, A. R.; MORI, A. E.; BOARI, A. J. Comprovação de infecção do *Chenopodium quinoa* por vírus da mancha anular do cafeeiro (CoRSV) através de microscopia eletrônica. **Fitopatologia brasileira**, v. 25, supl., p. 446, 2000.

NOVELLI, V. M. ; FREITAS-ASTUA, J. ; PEREIRA, J. A. ; KITAJIMA, E. W. . Ocorrência da infecção natural de vírus transmitido por *Brevipalpus* spp. (VTB) do tipo citoplasmático em lírio da paz (*Spatiphyllum wallisii*). In: XLII Congresso Brasileiro Fitopatologia, R. Janeiro. **Tropical Plant Pathology**, Lavras, MG, v. 34, p. S274-S274, 2009.

OCAMPO, M. E.; MARTINEZ, G.; LEGUIZAMON, J. Virus en café II. Observaciones preliminares. Los anillos cloróticos del café sobre la importancia economica. **Virologia**, n. 081, 2003.

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.

PRETE, C. E. C. **Condutividade elétrica do exsudado de grãos de café (*Coffea arabica* L.) e sua relação com a qualidade da bebida.** 1992. 125 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1992.

REIS, P. R.; SOUZA, J. C.; SOUSA, E. O.; TEODORO, A. V. Distribuição espacial do ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) em cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Annals of the Entomological Society Brazilian**, v. 29, n. 1, p. 177-183, 2000.

REIS, P. R. *Brevipalpus phoenicis*, ácaro da mancha-anular do cafeeiro: bioecologia, dano e controle. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa Café, 2002. p. 257-280.

REIS, P. R.; PEDRO NETO, M.; FRANCO, R. A.; TEODORO, A. V. Controle de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) e *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tenuipalpidae) em cafeeiro e o impacto sobre ácaros benéficos. I - Abamectin e Emamectin. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 2, p. 271-283, 2004.

REYES, T. T. Ringspot of coffeea in the Philippines. **FAO Plant Protection Bulletin**, v. 8, p. 11-12, 1959.

REYES, T. T. Seed transmission of coffeea ring spot by Excelsa coffee (*Coffea excelsa*). **Plant Disease Reporter**, v. 45, p. 185, 1961.

RODRIGUES, J. C. V.; NOGUEIRA, N. L. Ocorrência de mancha anular do cafeeiro no estado do Paraná e sobrevivência a geadas. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, DF, v. 26, supl., p. 513, 2001.

RODRIGUES, J. C. V.; RODRIGUES, C. M.; MOREIRA, L.; VILLALOBOS, W.; RIVERA, C.; CHILDERS, C. C. Occurrence of coffee ringspot virus, a *Brevipalpus* mite-borne virus in coffee in Costa Rica, Central América. **Plant disease**, v. 86, n. 5, p. 564, 2002.

SILBERSCHMIDT, K. A transmissão experimental da mancha anular do cafeeiro. **O Biológico**, v. 7, p. 93-99, 1941.

WUNNER, W. H.; CALISHER, C. H.; DIETZGEN, R. G.; JACKSON, A. O.; KITAJIMA, E. W.; LAFON, M.; LEONG, J. C.; NICHOL, S. T.; PETERS, D.; SMITH, J. S.; WALKER, P. J. Rhabdoviridae. In: **CLASSIFICATION and nomenclature of viroses**. New York: Springer-Verlag, 1994. p. 275-288.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. do; PEREIRA, A. A.; CHAVES, G. M. Café (*Coffea arabica* L.), controle de doenças. In: VALE, F. X. R. do; ZAMBOLIM, L. **Controle de doenças de plantas: grandes culturas**. Viçosa, MG: Departamento de Fitopatologia; Brasília, DF: Ministério da Agricultura e Abastecimento, 1997. v. 2, p. 83-179.

Embrapa

Amazônia Oriental

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

G O V E R N O F E D E R A L
BRASIL
PAÍS RICO É PAÍS SEM POBREZA

CGPE 9224