



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

**PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DO VÍRUS DA  
MANCHA-ANULAR DO CAFEIRO (*Coffee ringspot  
virus*) E CONTROLE DO SEU VETOR *Brevipalpus  
phoenicis* Geijskes.**

**ARNALDI EIKI MORI**

**2003**

ARNALDI EIKI MORI

**PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DO VÍRUS DA MANCHA  
ANULAR DO CAFEIEIRO (*Coffee ringspot virus* – CoRSV) E  
CONTROLE DO SEU VETOR *Brevipalpus phoenicis* Geijskes.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de  
Lavras como parte das exigências do curso de  
Mestrado em Agronomia, área de concentração em  
Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

**Orientador**

Profa. Dra. Antonia dos Reis Figueiredo

LAVRAS  
MINAS GF

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

**Mori, Arnaldi Eiki**

Propriedades biológicas do vírus da mancha anular do cafeeiro (*Coffee ringspot virus*- CoRSV) e controle do seu vetor *Brevipalpus phoenicis* Geijskes / Arnaldi Eiki Mori. -- Lavras : UFLA, 2003.

88 p. : il.

Orientador: Antonia dos Reis Figueira.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. *Rhabdovirus*. 2. *Coffee ringspot virus*. 3. *Brevipalpus phoenicis*. 4. Acaricidas. 5. Escala diagramática. 6. Severidade. 7. Incidência. 8. Hospedeiro. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.7398

ARNALDI EIKI MORI

**PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DO VÍRUS DA MANCHA-ANULAR  
DO CAFEIRO (*Coffee ringspot virus*) E CONTROLE DO SEU VETOR  
*Brevipalpus phoenicis* Geijskes.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de  
Lavras como parte das exigências do curso de  
Mestrado em Agronomia, área de concentração em  
Fitopatologia, para obtenção do título de “Mestre”.

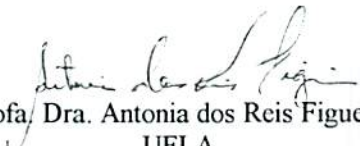
APROVADA em 27 de fevereiro de 2003

Prof. Dr. Paulo Estevão de Souza

UFLA

Prof. Dr. Paulo Rebelles Reis

EPAMIG

  
Prof.ª Dra. Antonia dos Reis Figueira  
UFLA  
(Orientadora)

LAVRAS  
MINAS GERAIS –BRASIL

A Deus,  
Agradeço

Aos meus pais Paulo e Satiko, ao meu filho Gabriel e à minha esposa Rosilayne,  
**Dedico**

Aos meus irmãos Fábio, Eduardo, Regina e Márcia,  
**Ofereço**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudos.

À professora Antonia dos Reis Figueira, pela orientação, amizade e sugestões.

Ao professor Edson Ampélio Pozza, pela co-orientação, apoio e disponibilidade.

Ao Dr. Paulo Rebelles Reis, pelas sugestões, apoio e disponibilidade.

À Dra. Alessandra de Jesus Boari, pela amizade e colaboração.

À professora Neusa Lima Nogueira e à Mônica Rossi (CENA - USP), pela contribuição nos trabalhos de microscopia eletrônica.

Ao Luiz Américo Passeto e ao sr. Abdala, pela contribuição nos experimentos em Coromandel-MG.

Aos colegas do curso de mestrado, principalmente Fernando, Maurício, Anderson e Juliana, e ao Marcelo, pela amizade e força que sempre deram.

À Dra. Eloísa Salustiano, pela amizade e apoio.

Aos demais colegas da pós-graduação, principalmente Marco Roberto (Varginha), Florisvalda, Cristiano, Alessandra Nakasone, Nilvanira, Viviane e Frederico, pela força e amizade.

Aos colegas do Centro de Indexação, Denise, Antonio Carlos, Carzinho e Ellen, e do laboratório de Virologia Vegetal, Flávio, Oncida, Cássia e Vanússia, pela amizade, auxílio e agradável convivência.

Aos colegas do Laboratório de Acarologia da EPAMIG, Márcio, Adenir e Marçal, pela colaboração e amizade.

Ao Diogo, pela amizade e auxílio.

A todos os professores do Departamento de Fitopatologia, pelos ensinamentos e disponibilidade.

**À Roseane, da secretaria do DFP, pelo auxílio e disponibilidade.**

**Aos funcionários do DFP, pelos auxílios prestados.**

**A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.**

**Muito obrigado!**

## SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii

### **CAPÍTULO 1: Propriedades biológicas do vírus da mancha-anular do cafeeiro (*coffee ringspot virus*) e controle do seu vetor *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes)**

1 Introdução Geral.....	01
2 Referencial Teórico.....	04
2.1 A cultura do café: importância e ocorrência de doenças .....	04
2.2 A mancha anular do cafeeiro .....	05
2.3 <i>Brevipalpus phoenicis</i> e seu controle.....	10
3 Referências bibliográficas.....	15

### **CAPÍTULO 2: Estudos Biológicos e Comprovação da Infecção Sistêmica de Plantas de *Chenopodium quinoa* pelo Virus da Mancha-anular do cafeeiro (*Coffee ringspot virus* – CoRSV).....**

Resumo.....	23
Abstract.....	24
1. INTRODUÇÃO.....	25
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
2.1. Origem do inóculo.....	27
2.2. Obtenção das plantas hospedeiras e inoculação mecânica.....	27
2.3. Testes de transmissão com o vetor.....	28
2.4 Microscopia eletrônica.....	29
2.4.1 Inclusão do material infectado em resina Spurr.....	30
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31



3.1 Inoculação mecânica em hospedeiras diversas.....	31
3.2 Testes de transmissão com o vetor.....	41
4. CONCLUSÕES.....	43
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

<b>CAPÍTULO 3: Efeito de acaricidas na população do ácaro <i>Brevipalpus phoenicis</i> Geijskes e na incidência e severidade da mancha anular causada pelo <i>Coffee ringspot virus</i> (CoRSV).....</b>	<b>46</b>
--	-----------

Resumo.....	47
Abstract.....	48
1. INTRODUÇÃO.....	49
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	52
2.1 Área experimental.....	52
2.2 Delineamento experimental.....	52
2.3 Identificação do ácaro vetor.....	53
2.4 Acaricidas.....	53
2.5. Avaliação da quantidade de ácaro, severidade e incidência da mancha anular.....	54
2.6. Análises estatísticas.....	54
2.6.1.Área abaixo da curva de progresso de ácaros, ovos, incidência e severidade.....	54
2.7. Colheita.....	55
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
3.1 Avaliação de acaricidas.....	55
3.2. Produção das diferentes parcelas.....	62
3.3. Incidência e severidade da mancha anular do cafeeiro.....	63
4. CONCLUSÕES.....	68

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
<b>CAPÍTULO 4: Construção e validação de uma escala diagramática para avaliação da severidade da mancha anular do cafeeiro.....</b>	<b>73</b>
Resumo.....	74
Abstract.....	75
1. INTRODUÇÃO.....	76
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	77
2.1. Elaboração da escala e determinação dos níveis de severidade.....	77
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
3.1. Escala diagramática.....	78
4. CONCLUSÃO.....	82
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83
ANEXOS.....	85

## RESUMO

Mori, Arnaldi Eiki. Propriedades biológicas do vírus da mancha anular do cafeeiro (*Coffee ringspot virus*- Corsv) e controle do seu vetor *Brevipalpus Phoenicis* Geijskes Lavras: UFLA, 2003. 88p. (Dissertação de Mestrado em Fitopatologia).

Neste trabalho, isolados de CoRSV, coletados em lavouras nas regiões do Alto Paranaíba e Sul de Minas Gerais, foram inoculados mecanicamente e através do vetor em diferentes plantas hospedeiras, para estudar a sua gama de hospedeiras, interação patógeno-hospedeira e transmissibilidade através do vetor. Foram feitas, também, análises de tecidos infectados ao microscópio eletrônico e conduzidos experimentos em lavouras situadas em Coromandel-MG, visando investigar o efeito de cinco acaricidas na população do ácaro vetor *Brevipalpus phoenicis* Geijskes e na incidência e severidade da mancha anular. Foram inoculadas 31 espécies de plantas, mas apenas *Chenopodium quinoa* Willd., *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn. e *Alternathera tenella* Colla foram suscetíveis. *A. tenella* mostrou sintomas sistêmicos de deformação foliar, enrugamento e formação de ilhas verdes ao longo da nervura central. As plantas de *C. quinoa* e *C. amaranticolor*, apresentaram lesões locais cloróticas e, às vezes, halos esverdeados no final do ciclo. Parte das plantas de *C. quinoa* apresentaram sintomas sistêmicos na forma de mosaico e deformação foliar. A transmissão mecânica do CoRSV para *C. quinoa* e *C. amaranticolor* foi de 2,6 a 6% nos meses de maio a julho e aumentou nos meses mais quentes, chegando a 52,4%, indicando a influência da temperatura na transmissão mecânica desse vírus. Tecidos de *C. quinoa*, com sintomas sistêmicos foram analisados ao microscópio eletrônico e mostraram a presença de partículas baciliformes, medindo 149 x 50 nm, típicas do CoRSV, no núcleo das células do mesófilo e da epiderme e associadas ao retículo endoplasmático, e as estruturas do tipo "spokewheel", induzidas por *Rhabdovirus*. Essas observações confirmaram, pela primeira vez, a infecção sistêmica do *C. quinoa* pelo CoRSV. Os testes de transmissão do CoRSV confirmaram as observações, obtidas anteriormente, de que provavelmente o vírus deve ser adquirido no estágio larval do ácaro. Foram testados cinco acaricidas: dinocap, dicofol, dinocap + hexythiazox, cyhexatin e calda sulfocálcica. Apenas o dicofol e o cyhexatin se destacaram no controle do ácaro vetor. No período chuvoso a população do ácaro foi naturalmente baixa, indicando que o uso de acaricidas nessa época é desnecessário. Foi observada uma correlação entre a população de ácaros e a incidência e severidade da doença nas folhas em uma das áreas amostradas. Não se notou diferença na produtividade em função do ataque do ácaro.

Comitê de orientação: Antonia dos Reis Figueira (orientadora); Edson Ampélio Pozza (co-orientador)

## ABSTRACT

Mori, Arnaldi Eiki. **Biological Properties of the *Coffee ringspot virus* (CoRSV) and the control of its vector *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes).** Lavras: UFLA, 2003. 88p. (Dissertation- Master Program in Phytopathology).

In this work several isolates of CoRSV were collected in coffee fields from Alto Paranaíba and South of Minas Gerais State – Brazil, and inoculated either by mechanical methods or through its mite vector *Brevivalpus phoenicis* Geijskes in different plant species to study its host range, pathogen-host interaction and transmissibility. Analyses of infected tissues at the electron microscope and experiments in field crops in order to investigate the effect of five acaricides on the vector population and on the incidence and severity of CoRSV, were also carried out. Among the 31 plant species inoculated with CoRSV, only *Chenopodium quinoa* Willd., *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn. and *Alternanthera tenella* Colla were susceptible. *A. tenella* showed systemic symptoms, leaf deformation, wrinkling, and veinal green islands. *C. quinoa* and *C. amaranticolor* showed chlorotic local lesions, surrounded sometimes by green rings at the end of life cycle. Part of the *C. quinoa* plants showed systemic symptoms of mosaic and leaf deformation. The mechanical transmission of CoRSV for *C. quinoa* and *C. amaranticolor*, ranged from 2.6 to 6%, in colder months, but significantly increased to 52.4 % in warmer months, suggesting an effect of the temperature on mechanical transmission of this virus. Tissues of *C. quinoa* with systemic symptoms, were analysed by electron microscopy and showed baciliform particles, with 149-50 nm, typical of CoRSV, in the cell nucleus associated with the endoplasmatic reticulum at mesophyll and epiderm. Structures like “spokewheel”, frequently induced by Rhabdovirus, were also seen. It allowed to confirm, by the first time, the systemic infection of *C. quinoa* by the CoRSV. The transmission of CoRSV by mite indicated that probably the virus should be acquired at the larval stage of that mite. Among the five tested acaricides: dinocap, dicofol, dinocap+hexythiazox, cyhexatin and lime-sulfurs, only dicofol and cyhexatin were outstanding for the mite control. In the raining season, the mite population was naturally low, indicating that the use of acaricides is useless at this time. It was observed a correlation among mite population and disease incidence and severity in collected leaves at one of the two field experiments. The mite population itself did not cause losses in plant yield.

---

Committee guidance: Antonia dos Reis Figueira (adviser); Edson Ampélio Pozza (co-adviser).

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor, o maior exportador e o segundo maior consumidor de café do mundo. O café é considerado o mais importante produto agrícola de exportação do mundo, envolvendo mais de 50 países produtores, localizados nas regiões tropicais da América Latina, África e Ásia. É considerado a principal fonte de renda para muitos destes países (Sreenath, 2000), sendo que a área total cultivada é de cerca de 2,8 milhões de hectares. O Brasil produziu, no ano de 2000, cerca de 33.555 milhões de sacas de 60 kg de café, das quais 18.910 milhões foram exportadas. A estimativa de produção para 2003 é de 38.713 milhões de sacas, sendo 26.577 milhões destinadas ao mercado externo (Agrianual, 2002). Minas Gerais é o maior produtor de café do Brasil, respondendo por cerca de 50% da produção brasileira, e a região do Sul de Minas contribui com metade da produção estadual (Mendes e Guimarães, 2000).

No mundo existem cerca de 300 doenças que podem afetar o cafeeiro, causadas por fungos, bactérias e nematóides. Dentre estas doenças destacam-se a ferrugem (*Hemileia vastatrix*), a cercosporiose (*Cercospora coffeicola*), a mancha de Phoma (*Phoma* sp), a mancha aureolada (*Pseudomonas syringae* pv *garcae*), e as meloidoginoses (*Meloidogyne coffeicola*, *M. incognita* e *M. javanica*) (Zambolim et al., 1997 e Godoy et al., 1997).

Doenças viróticas nunca foram importantes para a cultura do cafeeiro, em nenhum país do mundo onde essa planta é cultivada. O vírus da mancha anular do cafeeiro (*Coffee ringspot virus* – CoRSV), detectado no Brasil por Bittancourt em 1938 (Bittancourt, 1938), na região de Caçapava, SP, sempre foi considerado sem maior importância. Os sintomas nas folhas se caracterizam por manchas cloróticas, em forma de anéis ou alongadas nas nervuras, principalmente na central, e nos frutos por anéis irregulares ou não, geralmente

deprimidos. Silberschmidt (1941) foi o primeiro a realizar estudos experimentais com o CoRSV, ocasião em que relatou a semelhança dos sintomas apresentados por cafeeiros infectados com esse vírus, com os da leprose das plantas cítricas, da mancha anular do fumo e da clorose infecciosa das malváceas. Ele não obteve sucesso na transmissão mecânica desse vírus para diversas hospedeiras como a poaia-branca (*Richardsonia brasiliensis* Gomez) e para a poaia-do-arador (*Borreria poaya* D. C.), entretanto relatou a transmissão do CoRSV por enxertia de plantas de cafeeiro sadias sobre plantas doentes.

Chagas (1973; 1978) realizou estudos intensivos com esse vírus e, dentre as inúmeras hospedeiras experimentais testadas, conseguiu a sua transmissão mecânica apenas para as plantas de *Chenopodium quinoa* Willd. e *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn., que reagiram com raras lesões locais cloróticas, arredondadas, com o centro necrótico. Além disso, foi o primeiro a conseguir a transmissão do CoRSV através do ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae).

Quando estudou o CoRSV, Chagas (1978) chamou a atenção para o fato de que, apesar de esse vírus não ser considerado importante para a cafeicultura naquele momento, poderia vir a se tornar problema com a iminente expansão dessa cultura para as áreas de cerrado. Essa sua previsão se concretizou em meados de 1995, quando o CoRSV passou a aparecer em alta incidência na região do Alto Paranaíba, Minas Gerais (Figueira et al., 1996). Os cafeicultores começaram a perceber uma desfolha e uma queda intensa de frutos, e pelos sintomas observados nas folhas do cafeeiro, começaram a desconfiar de que poderia se tratar de ferrugem não controlada, causada por uma possível resistência adquirida pelo agente causal, *Hemileia vastatrix*, aos fungicidas utilizados. Porém, estudos mostraram que a desfolha estava sendo causada pelo CoRSV, pois os sintomas nas folhas se desenvolvem na nervura central em direção ao pecíolo, causando a sua queda precoce. A queda dos frutos também

tem como causa primária os sintomas causados pelo CoRSV, uma vez que os tecidos do fruto com sintomas parecem se tornar mais suscetíveis aos fungos, o que finalmente causa o seu apodrecimento/seca e desprendimento precoce do ramo (Figueira et al., 1996, 1998).

Entretanto, o comportamento da planta infectada no campo não é homogêneo, ou seja, a queda de frutos nem sempre ocorre. Alguns frutos com alta incidência de sintomas do CoRSV não são afetados por fungos, portanto não mostram queda. Isso parece ter relação com as condições climáticas, que podem favorecer ou não as infecções secundárias por fungos. Os estudos com esse vírus são ainda incipientes, de modo que muitas perguntas necessitam ainda de resposta. As observações atuais indicam que o vírus parece ter sofrido alguma modificação que resultou na sua maior adaptabilidade e eficiência, o que, aliado ao aumento da população do seu ácaro vetor, aumentou a sua capacidade de disseminação no campo. Devido à carência de informações, o controle do CoRSV no campo tem se baseado exclusivamente no controle do seu vetor através do uso de acaricidas. Entretanto, não se sabe ao certo qual produto acaricida, dentre os disponíveis no mercado, seria o mais indicado para esse controle, e também qual seria a indicação adequada para rodízio de produtos, com a finalidade de evitar o possível aparecimento de resistência no ácaro.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de acrescentar algumas informações a respeito da transmissibilidade e da relação patógeno-hospedeira do CoRSV. Foi investigado também o efeito de diversos acaricidas na flutuação populacional do ácaro vetor *B. phoenicis* e na severidade da doença causada pelo CoRSV em cafeeiros de lavouras localizadas no município de Coromandel, região do Alto Paranaíba, MG.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. A cultura do café: importância e ocorrência de doenças

Desde a sua descoberta pelo homem, o café assume importante papel na economia e na vida dos povos que o cultivam. Introduzido no Brasil em 1727, tornou o país em seu maior produtor e exportador mundial. A receita cambial gerada pelo café na economia brasileira é da ordem de 3 bilhões de dólares/ano, correspondendo a aproximadamente 6% das exportações. A região Sul do estado de Minas Gerais produz cerca de 25% do café brasileiro e a cultura representa aproximadamente 40% da arrecadação de ICMS, comparável à indústria e ao comércio juntos (Mendes e Guimarães, 2000). A produtividade média do Brasil é de dez sacas por hectare, podendo ser influenciada por condições adversas, variedades, práticas de pré e pós-colheita e por ocorrência de pragas e doenças (Anuário Estatístico do Brasil, 1996).

O parque cafeeiro brasileiro é constituído por cerca de quatro bilhões de plantas suscetíveis às principais doenças que atacam esta cultura, em plantios adensados ou não. A maior ou menor severidade destas doenças está ligada a diversos fatores relacionados ao ambiente, ao patógeno, ao hospedeiro, ao solo (tipo, nutrientes e pH) e aos fatores predisponentes, como vento, umidade, alta carga pendente dos frutos, chuva etc. No Brasil, o cafeeiro é cultivado nas mais diversas condições de clima, solo, altitude e topografia. Além disso, a cultura vem, ao longo dos tempos, sofrendo transformações quanto ao espaçamento e à densidade de plantas por área. Dentre os fatores que podem afetar a produtividade, sabe-se que as doenças ocupam um papel relevante, pois, dependendo da região e condições edafoclimáticas, podem causar perdas de qualidade e quantidade de produção na cultura. Entretanto, pouco se conhece a



respeito dos danos reais que as doenças causam à cultura, tampouco qual a intensidade de ataque que poderia ser correlacionada com as perdas na produção. Daí a importância não só do manejo integrado da cultura do cafeeiro como um todo, visando o controle racional das doenças e de pragas, mas também da correção de deficiências nutricionais e das outras práticas culturais recomendadas para a cultura. As principais doenças que ocorrem em campo, no Brasil, são: ferrugem (*Hemileia vastatrix*), rizoctoniose (*Rhizoctonia solani*), fusariose (*Fusarium* spp.), mancha de Phoma (*Phoma costaricensis*), mancha de olho pardo (*Cercospora coffeicola*), mal dos quatro anos (*Rosellinia bunodes*), seca dos ponteiros (complexo de agentes causais), mancha de *Ascochyta* (*Ascochyta coffeae*), mancha aureolada (*Pseudomonas syringae* pv. *Garcae*) e meloidoginoses, causadas por nematóides do gênero *Meloidogyne* (Vale e Zambolim, 1997), ou seja, principalmente doenças fúngicas, com algumas bacterianas e nematóides. Somente a partir de 1995 começaram a ser registradas várias lavouras com alta incidência do vírus da mancha anular do cafeeiro, principalmente nas regiões do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, importantes pólos produtores de café de Minas Gerais (Figueira et al., 1996; 1998; Papa, 1997). Atualmente, a mancha anular pode ser detectada em praticamente todas as lavouras do estado de Minas Gerais.

## 2.2. A mancha anular do cafeeiro

A mancha anular do cafeeiro foi descrita inicialmente por Bittancourt, em 1938 (Bittancourt, 1939), em cafezais de Caçapava-SP. Na ocasião, o autor notou que nas folhas do interior da copa, que eram menos atingidas pelo sol, encontravam-se as manchas mais acentuadas, e que, na época da observação, aparentemente somente as folhas se mostravam atacadas, pois os frutos pareciam normais. Bittancourt atribuiu a doença a um provável vírus, do tipo que causa

manchas anulares nas plantas. Por muito tempo essa doença foi considerada inócua para a cultura do cafeeiro.

não { Reyes (1959) descreveu uma doença atacando cafeeiros cv. Arábica e Excelsa nas Filipinas, idêntica à mancha anular relatada por Bittancourt no Brasil e por Wellman (1957) na Costa Rica. Entretanto, o autor mostrou uma foto com sintomas, nas folhas, diferentes dos descritos por esses outros autores, e posteriormente descobriu-se que a doença descrita por Wellman tinha sintomas provocados por um fungo do gênero *Colletotrichum*.

Nos primeiros estudos realizados com esse vírus no Brasil, Silberschmidt (1941) verificou que o vírus da mancha anular do cafeeiro não é transmitido pelas sementes, de uma geração a outra. (Nesta época, ele também fez as primeiras inoculações mecânicas de suco de cafeeiro doente para cafeeiros sadios, e também para *Borreria poaya* D.C. e *Richardsonia brasiliensis* Gomez, porém não obteve êxito. Em seguida, teve sucesso ao transmitir o vírus da MAC por enxertia, em que plantas sadias foram enxertadas em cavalos de plantas doentes, e os sintomas da doença demoraram um ano para se manifestar. Porém, esses experimentos nunca foram confirmados e, na verdade, parece improvável que realmente tenha havido essa transmissão, podendo ter ocorrido alguma contaminação da planta pelo ácaro vetor.) ~ ~ ~

Costa et al. (1960) suspeitaram inicialmente que a mancha anular do cafeeiro poderia ser causada pelo vírus do vira-cabeça do tomateiro (*Tomato spotted wilt virus* - TSWV). Para investigar essa possibilidade, os autores inocularam mecanicamente plantas de fumo, tomate e café com extrato obtido das lesões das folhas de cafeeiro, mas não conseguiram a transmissão do vírus para nenhuma destas plantas. Os autores inocularam também plantas de cafeeiro com o TSWV, extraído de plantas de fumo ou tomate (com as mudas de cafeeiros submetidos a um período no escuro, antes da inoculação), e conseguiram infectar as folhas com o TSWV, porém os sintomas foram

diferentes daqueles observados nos cafeeiros infectados naturalmente com o CoRSV no campo.

(Kitajima e Costa (1972) observaram pela primeira vez, ao microscópio eletrônico, a presença de partículas baciliformes em cortes ultrafinos de tecidos de folhas, provenientes de cafeeiros naturalmente infectados no campo, mostrando as manchas típicas da virose. Foram encontradas partículas medindo 35-40 x 100-110 nm, de aparência tubular, no nucleoplasma, e menos comumente, no retículo endoplasmático das células de tecidos foliares. A morfologia destas partículas se assemelhava aos vírus da família *Rhabdoviridae*, gênero *Nucleorhabdovirus*, devido à sua localização no ambiente celular.

Os *Rhabdovirus* têm as maiores partículas entre os vírus de plantas, e pertencem a uma das poucas famílias de fitovírus em que as partículas são envolvidas por uma membrana lipoprotéica. Eles são atualmente divididos em dois gêneros, dependendo do sítio de maturação e acúmulo dentro da célula (Matthews, 1992). O primeiro é denominado de *Nucleorhabdovirus* porque as partículas se acumulam no espaço perinuclear e a morfogênese ocorre na membrana interna do invólucro nuclear. O segundo é denominado de *Cytorhabdovirus* porque as partículas se acumulam no citoplasma, em cavidades do retículo endoplasmático, em cujas membranas ocorre sua morfogênese (Murphy et al., 1995).

Os *Rhabdovirus* possuem genoma constituído por um RNA de fita simples, negativa, com 11.000 a 13.000 nucleotídeos e seis “open reading frames” (ORF’s); contêm um envelope, de natureza lipoprotéica, recobrando a capa protéica viral, e a estratégia empregada para a sua replicação é a de RNA subgenômico (Wagner, 1991). São facilmente identificados em microscópio eletrônico, devido ao seu formato baciliforme, possuindo um comprimento de 100-430 x 45-100 nm de diâmetro (Jackson et al., 1987). Dentre os *Rhabdovirus*, mais de trinta espécies causam doenças em plantas cultivadas,

como *Sonchus yellow net virus* (SINV), *Lettuce necrotic yellow virus* (LNYV), *Rice yellow stunt virus* (RYSV) (Luo e Fang, 1998; Heaton et al., 1989; Wetzel et al., 1994), dentre outras.) → n dō

Chagas (1973, 1978) realizou alguns estudos mais intensivos com o CoRSV, pois acreditava que esse vírus poderia se tornar importante no futuro. (O autor determinou o seu ponto de inativação térmica, que foi cerca de 75°C; o ponto final de diluição, entre 10<sup>-4</sup> e 10<sup>-5</sup>; e a sua longevidade *in vitro* se manteve, entre 19 e 22 dias, a 4°C.) → n dō  
Esse autor inoculou mecanicamente o CoRSV, extraído de tecidos infectados de folhas ou de polpa de frutos do cafeeiro, em 32 espécies indicadoras. Dentre todas as espécies inoculadas, *C. quinoa* e *C. amaranticolor* foram as únicas espécies que apresentaram sintomas de lesão local. Neste estudo, Chagas considerou *C. amaranticolor* melhor hospedeira do que *C. quinoa* e observou que o inóculo proveniente dos tecidos dos frutos mostrou-se mais infeccioso do que o dos tecidos foliares. (A transmissão foi comprovada pela presença de partículas baciliformes (66-79 nm x 191-224 nm), semelhantes às formas “maduras” dos *Rhabdovirus*, mas comumente no nucleoplasma da célula, bem como partículas do tipo “bullet-shaped” (86-119 nm x 63-76 nm) consideradas como resultado da fragmentação das primeiras, em extratos de lesões foliares de *C. amaranticolor* inoculadas com o CoRSV.) → n dō

Chagas (1973, 1978) foi também o primeiro a descobrir que o CoRSV podia ser transmitido através de fêmeas do ácaro cosmopolita *B. phoenicis*. Essa doença permaneceu no esquecimento por muitas décadas, até que, em 1995, começou a aparecer uma desfolha intensa, associada a uma queda significativa de frutos, em cafeeiros que estavam apresentando manchas anelares nas folhas e nos frutos. Inicialmente esse fato foi devido a uma ferrugem mal curada, mas testes de inoculação mecânica e microscopia eletrônica mostraram que se tratava de sintomas provocados pelo CoRSV (Figueira, 1996). (Foram encontradas partículas baciliformes, em tecidos de folhas e frutos com a mancha anular,

medindo cerca de 150 nm de comprimento por 50 nm de diâmetro, principalmente na região nuclear. ~~ALVAZ~~

Desde então, esse vírus vem sendo detectado em praticamente todas as lavouras de Minas Gerais, com severidades bastante variáveis (Figueira et al., 1998). O CoRSV afeta o cafeeiro em qualquer fase de seu desenvolvimento, causando manchas cloróticas em forma de anéis concêntricos e manchas alongadas ao longo das nervuras nas folhas e nos frutos. Nos frutos, estas ficam deprimidas com deformação no pericarpo (Chagas, 1978). Esse vírus causa infecções localizadas em folhas e frutos de cafeeiro, de modo que parece não ser capaz de se translocar sistemicamente nessa planta. Entretanto, as manchas causadas pelo CoRSV nas folhas se desenvolvem em direção ao pecíolo, causando a queda prematura da folha. Em alguns casos, os sintomas deste vírus, nos frutos, podem torná-lo mais suscetível à infecção de diversos fungos, como *Colletotrichum* sp, *Fusarium* sp. e *Cladosporium* sp., causando a sua queda precoce (Carvalho e Figueira, 1998) enquanto em outros, os frutos, mesmo com uma alta incidência de sintomas, não são infectados e nem caem. Provavelmente isso se deve às condições climáticas, que podem ou não favorecer o desenvolvimento dos fungos nos frutos (Figueira et al., 1996; 1998).

Carvalho e Figueira (1998) mostraram também que os isolados do CoRSV, por eles estudados, passaram a apresentar características diferentes daqueles estudados anteriormente, causando também infecção sistêmica na planta hospedeira experimental *C. quinoa*, e alertaram então para a possibilidade de terem ocorrido mudanças biológicas no CoRSV, que permitiram o desenvolvimento da habilidade de se translocar de uma para outra parte na planta. Este fato, aliado ao aumento da densidade populacional do seu vetor *B. phoenicis*, pode ter contribuído para o aumento da sua eficiência em se disseminar no campo.

Uma das indagações atuais é se o CoRSV é capaz de permanecer em algum tecido da planta infectada ou se ele é totalmente eliminado da planta quando as folhas caem e os frutos são colhidos. Boari et al. (2001) observaram que diversos ramos jovens de cafeeiros infectados pelo CoRSV, localizados em diferentes partes de uma mesma planta, apresentavam manchas anelares esverdeadas e/ou cloróticas. Quando cortes ultrafinos desses tecidos com sintoma foram analisados por microscopia eletrônica, foi possível detectar uma grande quantidade de partículas, típicas do CoRSV, principalmente nas bordas das lesões, indicando a presença do vírus também nos ramos do cafeeiro. (Entretanto, se esses vírus podem se translocar daí para os frutos ou as folhas que dele emergirem, este fato ainda necessita ser investigado) → T ALVE -

### 2.3. *Brevipalpus phoenicis* e seu controle

O ácaro *B. phoenicis* é uma espécie cosmopolita e constitui uma praga polífaga, tendo sua ocorrência já sido registrada em mais de 100 espécies de plantas, dentre elas o cafeeiro (Haramoto, 1975; Papa, 1997). No Brasil, a ocorrência desse ácaro já foi registrada nos estados de São Paulo, Rio Grande do Norte, Minas Gerais, Bahia, Santa Catarina, Pernambuco, Ceará, Rondônia e Espírito Santo; porém acredita-se que a sua distribuição seja mais ampla, devido ao grande número de espécies de plantas que o hospedam (Oliveira, 1986; Flechtmann, 1977; Teixeira et al., 1993; Matielo et al., 1996).

Na região Sul de Minas, há ocorrência de *B. phoenicis* durante o ano todo, porém a maior população foi encontrada no período mais seco do ano e com temperaturas amenas, o qual se estende de fevereiro/março a outubro/novembro (Reis et al., 2000a). Papa (1997) relatou uma alta infestação de *B. phoenicis* em cafezais do Triângulo Mineiro, onde cafeicultores estimavam perdas significativas de produção. Este ácaro é conhecido na citricultura por

“ácaro da leprose” devido à sua associação com a leprose dos citros (Musumeci e Rossetti, 1963).

Reis et al.(2000b) citam que, em 1986, já houve uma intensa desfolha em cafeeiro associada à presença do CoRSV, e que nesse período as condições climáticas, de inverno com baixa precipitação de chuvas, eram favoráveis ao ácaro vetor. Os mesmos autores, estudando a distribuição do ácaro *B. phoenicis* em cafeeiro, constataram que o maior número de ovos e ácaros foi encontrado no terço inferior das plantas, tanto nas folhas quanto nos ramos e frutos. Eles observaram que os ácaros se localizavam na página inferior das folhas, próximo às nervuras, principalmente à central. Nos frutos, ácaros e ovos se encontravam mais na coroa e pedúnculo. O número de ovos encontrados foi sempre maior que o de ácaros. Os ramos apresentavam o menor número de ovos e ácaros, quando comparados às folhas e frutos.

Para o controle desse ácaro no campo, diversas medidas de controle devem ser adotadas, entre elas, a rotatividade de princípios ativos, para que a frequência de indivíduos resistentes não aumente com a aplicação de um mesmo acaricida (Gravena, 1994). Nos programas de manejo integrado de pragas (MIP), o controle químico tem sido a tática mais explorada, o que muitas vezes tem inviabilizado o desempenho de outras como o controle biológico. Além disso, a utilização excessiva do controle químico tem sido responsável por causar desequilíbrios ecológicos, ressurgência de pragas, incremento nos custos de produção e resistência de insetos e ácaros a pesticidas.

Com relação ao manejo de ácaros, duas alternativas têm sido recomendadas como forma de integrar os controles químico e biológico: a primeira é a utilização de produtos seletivos e a segunda, a detecção, seleção e liberação de ácaros predadores resistentes a produtos de largo espectro de ação como os piretróides e organofosforados (Croft e Barnes, 1972).

A excessiva utilização de piretróides, organofosforados e carbamatos,

tem causado um significativo aumento na densidade populacional de ácaros fitófagos devido ao efeito negativo desses produtos sobre os ácaros predadores (Hoyt et al., 1978; Van de Vrie, 1985; Hardman et al., 1988, 1991). Com relação aos piretróides, estes não apresentam um efeito uniforme sobre os ácaros, ocorrendo tanto variações nas respostas apresentadas em termos de espécies como em relação ao produto utilizado. Com o intuito de preservar os agentes do controle biológico e a utilização do controle químico para o manejo de *B. phoenicis*, são frequentes os trabalhos que visam avaliar o efeito dos pesticidas sobre os ácaros fitoseídeos (Poletti, 2002).

Produtos como dicofol e propargite têm sido considerados nocivos a alguns predadores naturais do *B. phoenicis*, como o *Euseius alatus* De Leon, *Euseius concordis* (Chant, 1959) e *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae) (Komatsu e Nakano, 1988; Reis et al., 1998; Reis et al., 1999). No entanto, apesar de o dicofol exercer efeito negativo sobre esses predadores, esse acaricida tem sido considerado inócuo a alguns artrópodes benéficos presentes nessa cultura. Papa et al. (1991), avaliando a ação de alguns acaricidas sobre insetos predadores e aranhas, observaram que esse produto apresentou pouco efeito sobre esses agentes do controle biológico, comprovando a eficiência do mesmo como acaricida específico.

Considerando esse fato, somado ao baixo custo de aquisição do dicofol, verifica-se que esse produto destaca-se como um dos acaricidas mais utilizados na cultura dos citros, principalmente onde a frequência de ácaros resistentes é baixa (Omoto et al., 2000). Quanto aos acaricidas cihexatin e óxido de fenbutatin (grupo químico dos organoestânicos) sobre os ácaros fitoseídeos, os dados não são consistentes na literatura. Cihexatin foi considerado nocivo a várias espécies de ácaros predadores, tanto em condições de laboratório (Komatsu e Nakano, 1988; Reis et al., 1998, 1999) quanto em campo (Sato et al., 1992; Yamamoto et al., 1992; Sato et al., 1995; Santos e Gravena, 1997).



Chiaradia e Cruz (1997) observaram que apesar de esse produto ter interferido significativamente na densidade populacional inicial de *I. zuluagai*, permitiu um rápido restabelecimento da mesma em campo, sugerindo uma baixa ação residual tóxica.

De acordo com Jacobson et al. (1999), os organoestânicos não possuem ação ovicida, o que pôde ser evidenciado por Reis e Sousa (2001) quando avaliaram o efeito de óxido de fenbutatin sobre ovos de *E. alatus*. Por outro lado, produtos como o hexythiazox (grupo químico das carboxamidas) e o abamectin (grupo químico das avermectinas) foram considerados inócuos ou levemente nocivos aos ácaros predadores em condições de campo (Sato et al., 1992, 1995; Raga et al, 1997) sendo, portanto, produtos importantes para a preservação desses agentes do controle biológico na cultura dos citros.

O enxofre, utilizado geralmente como acaricida-fungicida, foi considerado moderadamente nocivo a *Euseius* sp. e *Iphiseiodes* sp. em condições de campo (Santos e Gravena, 1993, 1995). Em laboratório, também foi observado que o mesmo exerceu uma ação não seletiva a *I. zuluagai* (Reis et al., 1998b) e *E. alatus* (Reis et al., 1999). Por outro lado, foi detectado baixa toxicidade do enxofre sobre *Iphiseiodes quadripilis* (Banks) em condições de campo (Silva, 1980), sobre *I. zuluagai* (Chiaradia e Cruz, 1997) e sobre *E. concordis* (Komatsu e Nakano, 1988), sendo que esses autores recomendaram a utilização do enxofre dentro de um programa de manejo do ácaro da leprose devido à seletividade apresentada.

Oliveira e Reiff (1998 b), estudando a influência do volume de calda de alguns acaricidas (fenpyroximate, fenpropathrin e cyhexatin), constataram que todos os produtos se mostraram eficientes usando o volume de 1000 litros/hectare, sendo que apenas fenpyroximate apresentou uma redução na eficiência quando comparado com o volume de 3000 litros/hectare (de 100% para 87,4%, após 16 dias da aplicação). Reis et al. (2000a) com base em suas

observações, mostraram que no período mais seco do ano a população de *B. phoenicis* é significativamente maior na região do Sul de Minas, e sugerem que a atenção ao seu controle deve ser acentuada nesse período, e que o uso de produtos com ação ovicida deve aumentar a eficiência de controle, pois houve uma quantidade maior de ovos nos ramos e frutos do que de ácaros. Os autores citam, ainda, que o uso de produtos seletivos favorece o manejo deste ácaro, devido à presença de ácaros predadores.

Apesar de a única medida de controle, que está sendo empregada no campo para o CoRSV, ser o uso de acaricidas, poucas são as investigações que procuram estudar a eficiência dos diferentes acaricidas disponíveis no mercado, que têm sido empregados para essa utilidade. Existe a necessidade de se realizarem investigações que busquem maiores informações sobre o controle do ácaro *B. phoenicis*, visando o controle da mancha anular do cafeeiro.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL - Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2000. 521 p.

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. Rio de Janeiro, v. 56, 1996.

BITTANCOURT, A. A. A Mancha-anular, uma nova doença do cafeeiro. *O Biológico*, Campinas, v. 4, n. 12, p. 404-405, dez. 1938.

BOARI, A. J.; POZZA, E. A.; FIGUEIRA, A. R.; MORI, A. E.; BARROCAS, E. N. Presença de partículas de *Coffee Ringspot Virus* (CoRSV) em manchas amareladas nos ramos de cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 27., 2001, Uberaba. *Anais...* Uberaba: SDR/PROCAFÉ/PNFC, 2001. p. 263.

CARVALHO, C. M.; FIGUEIRA, A. R. Situação atual do vírus da mancha-anular em Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 24., 1998, Poços de Caldas. *Resumos...* Rio de Janeiro: MAA/PROCAFÉ/PNFC, 1998. p. 250-251.

CHAGAS, C. M. Associação do ácaro *Brevipalpus phoenices* (Geijskes) à Mancha-anular do Cafeeiro. *O Biológico*, Campinas, v. 39, n. 9, p. 229-232, set. 1973.

CHAGAS, C. M. Mancha-anular do Cafeeiro: transmissibilidade, identificação do vetor e aspectos anatomo-patológicos da espécie *Coffea arabica* L. afetada pela moléstia. 1978. 132 p. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, São Paulo.

CHIARADIA, L. A.; CRUZ, F. Z. Seletividade de acaricidas a artrópodes benéficos em citros. *Agropecuária Catarinense*, Florianópolis, v. 10, n. 2, p. 62-65, jun. 1997.

COSTA, A. S.; SILVA, D. M.; CARVALHO, A. M. B. Infecção de cafeeiros com o vírus de vira-cabeça. *Bragantia*, São Paulo, v. 19, p. XLVII, 1960.

- CROFT, B. A.; BARNES, M. M. Comparative studies on four strains of *Typhlodromus occidentalis*. Persistence of insecticide-resistant strains in an apple orchard ecosystem. *Journal of Economic Entomology*, Maryland, v. 65, n. 1, 21-216, Feb. 1972.
- 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. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 31., 1998, Fortaleza. Resumos... Fortaleza, 1998. p. 317.
- 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, Israel, 1996. p. 203.
- FLECHTMANN, C. H. W. *Ácaros de importância agrícola*. São Paulo: Nobel, 1977. 150 p.
- 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.
- GRAVENA, S. Rotação de acaricidas no MIP-citros: menos desequilíbrio e resistência. *Laranja, Cordeirópolis*, v. 15, n. 2, p. 375-395, 1994.
- HARAMOTO, F. H. Revision of the *Brevipalpus phoenices* 'complex' with descriptions of a new species from Chile and Thailand (Acarina, Tenuipalpidae). *Acarologia*, Paris, v. 27, n. 1, p. 81-91, Jan./Mar. 1975.
- HARDMAN, J. M.; ROGERS, R. E. L.; MACLELLAN, C. R. Advantages and disadvantages of using pyrethroids in Nova Scotia apple orchards. *Journal of Economic Entomology*, Lanham, v. 81, n. 6, p. 1737-1749, Dec. 1988.
- HARDMAN, J. M.; ROGERS, R. E. L.; NYROP, J. P.; FRISCH, T. Effect of pesticide applications on abundance of European red mite (Acari: Tetranychidae) and *Typhlodromus pyri* (Acari: phytoseiidae) in Nova Scotian apple orchard. *Journal of Economic Entomology*, Lanham, v. 84, n. 2, p. 570-580, Apr. 1991.

HEATON, L. A.; HILLMAN, B. I.; HUNTER, B. G.; ZUIDEMA, D.; JACKSON, A. O. Physical map of the genome of sonchus yellow net virus, a plant rhabdovirus with six genes and conserved gene junction sequences. **Proceedings of the National Academic Science of the United States of America**, Washington, v. 86, n. 22, p. 8665-8668, Nov. 1989.

HOYT, S. C.; WESTIGARD, P. H.; BURTS, E. C. Effects of 2 synthetics pyrethroids on the codling moth, pear psylla and various mite species in Northwest apple and pear orchards. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 71, n. 3, p. 431-434, June 1978.

JACOBSON, R. J.; CROFT, P.; FENLON, J. Response to fenbutatin oxide in populations of *Tetranychus urticae* Kock (Acari: Tetranychidae) in UK protect crops. **Crop Protection**, Oxford, v. 18, n. 1, p. 47-52, Feb. 1999.

JACKSON, A. O.; FRANCKI, R. I. B.; ZUIDEMA, D. Biology. Structure and replication of plant rhabdovirus. In: Wagner, R. R. (Ed.) **The rhabdoviruses**. New York: Plenum Press, 1987. p. 427-508.

KITAJIMA, E. W.; COSTA, A. S. Partículas baciliformes associadas à mancha anular do cafeeiro. **Ciência e Cultura**, Campinas, v. 24, n. 6, p. 542-545, jun. 1972.

KOMATSU, S. S.; NAKANO, O. Estudos visando o manejo do ácaro da leprose em citros através do ácaro predador *Euseius concordis* (Acari: Phytoseiidae). **Laranja**, Cordeirópolis, v. 9, n. 1, p. 125-146, 1988.

LUO, Z. L.; FANG, R. X. Structure analysis of the rice yellow stunt rhabdovirus glycoprotein gene and its mRNA. **Archiveds of Virology**, Viena, v. 143, n. 12, p. 2453-2459, Dec. 1998.

MATIELLO, J. B.; PAULINI, A. E.; LESSI, R. Ocorrência do ácaro plano *Brevipalpus phoenicis* e Leprose em cafeeiros conilon, no Espírito Santo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, Águas de Lindóia, 22., 1996, Rio de Janeiro. **Resumos...** Rio de Janeiro: MAA/PROCAFÉ/PNFC, 1996. p. 14.

MATTHEWS, R. E. F. **Plant virology**. 3. ed. San Diego: Academic, 1992. 556 p.

MENDES, A. N. G.; GUIMARÃES, R. J. **Economia cafeeira: o agronegócio**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 42 p.

MURPHY, F. A.; FAUQUET, C. M.; BISHOP, D. H. L.; GHABRIAL, S. A.; JARVIS, A. W.; MARTELLI, G. P.; MAYO, M. A.; SUMMERS, M. D. **Virus taxonomy – classification and nomenclature of viruses – Sixth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.** New York: Springer Verlag Wien, 1995.

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

OLIVEIRA, C. A. L. Flutuação populacional e medidas de controle do ácaro da leprose *Brevipalpus phoenices* (Geijskes, 1939) em citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 1, n. 7, p. 1-32, 1986.

OLIVEIRA, C. A. L.; REIFF, E. T. Influência do volume de calda aplicada de acaricidas no controle de *Brevipalpus phoenicis* transmissor da mancha anular do cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 24. 1998, Poços de Caldas. Resumos... Rio de Janeiro: MAA, PROCAFÉ, PNF, 1998b. p. 140.

OMOTO, C.; ALVES, E. B.; RIBEIRO, P. C. Detecção e monitoramento da resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) ao dicofol. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 757-764, dez. 2000.

PAPA, G. Ocorrência, sintomas e controle do ácaro da leprose, *Brevipalpus phoenices* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae), na cultura do café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 23., 1997, Manhauçu. Resumos... Rio de Janeiro: MAA/PROCAFÉ/ PNFC, 1997. p. 231-233.

PAPA, G.; SANTOS, M. C.; NAKANO, O. Ação de alguns acaricidas sobre os inimigos naturais presentes em um pomar de citros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 13., 1991, Recife. Resumos.... Recife: SEB, 1991. p. 306

POLETTI, M. Variabilidades inter e intraespecífica na suscetibilidade de ácaros fitoseídeos (Acari: Phytoseiidae) a dicofol e deltametrina em citros. 2002. 78 p. Dissertação (Mestrado) – USP – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

- RAGA, A.; SATO, M. E.; CERAVOLO, L. C.; ROSSI, A. C. Efeito de Halfenprox sobre *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) e ácaros predadores em citros. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 72, n. 3, p. 363-373, dez. 1997.
- REIS, P. R.; CHIAVEGATO, L. G.; MORAES, E. B.; SOUZA, E. O. Seletividade de agroquímicos ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Piracicaba, v. 27, n. 2, p. 265-274, jun. 1998.
- REIS, P. R.; SOUSA, E. O. Seletividade de chlorfenapyr e fenbutatin-oxide sobre duas espécies de ácaros predadores (Acari: Phytoseiidae) em citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 584-588, dez. 2001.
- REIS, P. R.; SOUSA, E. O.; ALVES, E. B. Seletividade de produtos fitossanitários ao ácaro predador *Euseius alatus* DeLeon (Acari: Phytoseiidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 3, p. 350-355, dez. 1999.
- REIS, P. R.; SOUZA, J. C.; PEDRO NETO, M.; TEODORO, A. V. Flutuação populacional do ácaro da mancha-anular do cafeeiro e de seus inimigos naturais. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000, Poços de Caldas. **Resumos.... Poços de Caldas: PROCAFÉ**, 2000a. p. 1210-1212.
- 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.). **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 177-183, mar. 2000b.
- REYES, T. T. Ringspot of coffea in the Philippines. **FAO Plant Protection Bulletin**, Rome, v. 8, p. 11-12, 1959.
- SANTOS, A. C.; GRAVENA, S. Eficiência de diflubenzuron para o ácaro da falsa ferrugem *Phyllocoptruta oleivora* (Ash.) (Acari: Eriphyidae) e seletividade a *Pentilia egena* Muls. (Col. : Coccinellidae) e ácaros predadores. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Piracicaba, v. 24, n. 2, p. 345-351, ago. 1995.
- SANTOS, A. C.; GRAVENA, S. Seletividade de acaricidas a insetos e ácaros predadores em citros. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Piracicaba, v. 26, n. 1, p. 99-105, abr. 1997.

- SANTOS, A. C.; GRAVENA, S. Seletividade de acaricidas à *Penttilia egea* Muls. (Col. : Coccinellidae) e ácaros predadores (Acari: Phytoseiidae) em cultura de citros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14., 1993, Piracicaba. Resumos... Piracicaba: SEB, 1993. p. 591.
- SATO, M. E.; RAGA, A.; CERAVOLO, L. C.; ROSSI, A. C.; CEZARIO, A. C. Efeito de acaricidas sobre *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) e ácaros predadores (Família Phytoseiidae) em citros. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas, v. 14, n. 2, p. 87-93, 1992.
- SATO, M. E.; RAGA, A.; CERAVOLO, L. C.; ROSSI, A. C.; CEZARIO, A. C. Efeito da utilização de acaricidas em citros, sobre a população de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) e ácaros predadores (Família Phytoseiidae). *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 52, n. 2, p. 282-286, maio/ago. 1995.
- SILBERCHMIDT, K. A transmissão experimental da mancha-anular do cafeeiro. *O Biológico*, Campinas, v. 7, n. 4, p. 93-99, abr. 1941.
- SILVA, L. M. Efeito de produtos químicos e do fungo *Hirsutella thompsoni* (Fisher, 1950) no ácaro da falsa ferrugem *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead, 1879) e no ácaro predador *Iphiseiodes quadripilis* (Banks, 1950) em citros. 1980. 74 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.
- SREENATH, H. L. Biotechnology for genetic improvement of Indian coffee. In: INTERNATIONAL SEMINAR ON BIOTECHNOLOGY IN THE COFFEE AGROINDUSTRY, 3., 1999, Londrina. *Proceedings*. . . Londrina: IAPAR/IRD, 2000. p. 247-250.
- TEIXEIRA, C. A.; AVILES, D. P.; RODRIGUES, V. G. S.; FERREIRA, M. G. Levantamento da ocorrência da leprose dos citros causada por *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) em Rondônia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14., 1993, Piracicaba, SP. *Anais*... Piracicaba: SEB, 1993. p. 717.
- VALE, F. X. R. do; ZAMBOLIM, L. Controle de doenças de plantas – grandes culturas (café). Viçosa, 1997. v. 1, p. 83.
- VAN DE VRIE, M. Apple. In: HELLE, W.; SABELIS, M. W. (Ed.) *Spider mites: their biology, natural enemies and control*. Amsterdam: Elsevier, 1985. v. 1B, p. 311-325.



WAGNER, J. D. Sonchus yellow net nucleorhabdovirus. In: BRUNT, A. A.; CBRABTREE, K.; DALWITZ, M. J.; GIBBS, A. J.; WATSON, L. (Ed.). **Viruses of plants**. Wallingford, UK: CAB International, 1991. p. 1143-1145.

WELLMAN, F. L. Blister spot of Arabica coffee from virus in Costa Rica. **Turrialba**, San José, v. 7, n. 1, p. 13-15, ene./mar. 1957.

WETZEL, T.; DIETZGEN, R. G.; DALE, J. L. Genomic organization of lettuce necrotic yellows rhabdovirus. **Virology**, Orlando, v. 200, p. 401-412, 1994.

YAMAMOTO, P. T.; PINTO, A. S.; PAIVA, P. E. B.; GRAVENA, S. Seletividade de agrotóxicos aos inimigos naturais de pragas dos citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 13, n. 2, p. 709-755, 1992.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. do; PEREIRA, A. A.; CHAVES, G. M. Café (*Coffea arabica* L.), controle de doenças. In: RIBEIRO DO VALE, F. X.;

ZAMBOLIM, L. **Controle de doenças de plantas: grandes culturas**. Viçosa: Departamento de Fitopatologia; Brasília: Ministério da Agricultura e Abastecimento, 1997. v. 2, p. 83-179.

Capítulo 02

**ESTUDOS BIOLÓGICOS E COMPROVAÇÃO DA INFECÇÃO  
SISTÊMICA DE PLANTAS DE *Chenopodium quinoa* PELO VÍRUS  
DA MANCHA ANULAR DO CAFEIEIRO (*Coffee ringspot virus* -  
CoRSV)**

## RESUMO

MORI, Arnaldi Eiki. Estudos Biológicos e Comprovação da Infecção Sistêmica de Plantas de *Chenopodium quinoa* pelo Virus da Mancha anular do Cafeeiro (*Coffee ringspot virus* - CoRSV). Lavras: UFLA, 2003. p. 25-45 (Dissertação de Mestrado em Fitopatologia).

Foram realizados alguns estudos com o vírus da mancha anular do cafeeiro (*Coffee ringspot virus* – CoRSV), visando encontrar plantas hospedeiras alternativas para esse vírus e estudar a relação vírus-planta, empregando-se a transmissão mecânica e a observação de cortes ultrafinos, de tecidos infectados, ao microscópio eletrônico de transmissão. Foram feitos, também, alguns testes de transmissão através do seu vetor, o ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae), com a finalidade de estudar a relação vírus-vetor. Das 31 espécies de plantas testadas, apenas *Chenopodium quinoa* Willd., *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn. e *Alternanthera tenella* Colla foram suscetíveis. *A. tenella* mostrou sintomas sistêmicos de deformação foliar, além de enrugamento e formação de ilhas verdes ao longo da nervura central. As plantas de *C. quinoa* e *C. amaranticolor* reagiram com lesões locais cloróticas, que às vezes apresentaram, no final do ciclo, halos esverdeados como os normalmente observados em folhas infectadas de cafeeiro. A porcentagem de transmissão mecânica do CoRSV para *C. quinoa* e *C. amaranticolor* variou de 2,6 a 6% nos meses de maio a julho, enquanto nos meses mais quentes (agosto a abril), variou de 47,3 a 52,4%, mostrando que a temperatura tem uma grande influência no sucesso da transmissão mecânica desse vírus. Alguns isolados de Varginha-MG foram capazes de induzir infecção sistêmica em plantas de *C. quinoa*. Essa infecção foi comprovada pela análise de cortes ultrafinos de tecidos infectados, ao microscópio eletrônico, que mostrou a presença de partículas baciliformes, típicas do CoRSV, medindo 149x50 nm, associadas ao retículo endoplasmático e no núcleo das células do mesófilo e da epiderme. Foram vistas também as estruturas do tipo “spokewheel”, típicas dos *Rhabdovirus*. Essa foi a primeira vez em que a infecção sistêmica do *C. quinoa* pelo CoRSV foi comprovada, por estudos ao microscópio eletrônico. Nos testes com o ácaro vetor, conseguiu-se transmitir o vírus de café para café, com ácaros adultos mais larvas e com larvas, porém não foi possível transmitir o CoRSV utilizando apenas o ácaro adulto. Esses resultados sugerem que provavelmente o vírus deve ser adquirido e transmitido no estágio larval do ácaro.

---

Comitê de orientação: Antonia dos Reis Figueira (orientadora); Edson Ampélio Pozza (co-orientador).

## ABSTRACT

MORI, Arnaldi Eiki. **Biological studies and confirmation of systemic infection of *Chenopodium quinoa* by *Coffee ringspot virus* (CoRSV).** Lavras: UFLA, 2003. p. 25-45(Dissertation – Master Program in Phytopathology).

This study were accomplished in order to seek for alternative host plants for the *Coffee ringspot virus* (CoRSV) and to investigate the plant-host interaction, through mechanical transmission and analysis of ultra-thin sections from infected tissues at the electron microscope. Transmission tests by the mite vector *Brevipalpus phoenicis* Geijskes were also carried out to study the virus-vector interaction. Among the 31 inoculated species only *Chenopodium quinoa* Willd. and *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn. were susceptible. *Alternanthera tenella* Colla showed systemic symptoms as foliar deformation, wrinkling and green islands in the central vein. *C. quinoa* and *C. amaranticolor* showed chlorotic local lesion, which sometimes was surrounded by green halos at the end of its life cycle, as seen in infected coffee leaves. The mechanical transmission of CoRSV to *C. quinoa* and *C. amaranticolor* ranged from 2.6 to 6% in May to June period, whereas from August to April it increased to 47.3 – 52.4%, showing a high effect of temperature in the mechanical transmission of CoRSV. Some isolates from Varginha-MG, Brazil were able to induce systemic infection in *C. quinoa* plants. The infection was confirmed by the analysis of ultra-thin sections from infected tissues at the electron microscope, which showed the presence of bacilliforms particles, CoRSV-like, measuring 149-50 nm, in the nucleus and endoplasmatic reticulum of mesophyll and epidermal cells. It was also seen the “spokewheel” structure, which is typical of *Rhabdovirus*. This is the first time that systemic infection of *C. quinoa* by CoRSV was confirmed by electron microscopy studies. The CoRSV was transmitted by *B.phoenicis*, from coffee to coffee, only when either the adult mites together with the larval stage or the larval stage were used, in acquisition and transmission tests, suggesting that, as seen before, probably the virus is acquired and transmitted by larval stage of the mite.

---

Guidance Committee: Antonia dos Reis Figueira (adviser); Edson Ampélio Pozza (co-adviser).

## 1. INTRODUÇÃO

O vírus da mancha anular do cafeeiro (*Coffee ringspot virus* – CoRSV) foi detectado no Brasil em 1938, por Bittancourt (Bittancourt, 1938), mas somente a partir de 1995 começou a chamar a atenção dos agricultores por causar intensa desfolha e queda de frutos em diversas lavouras situadas nas regiões do Alto Paranaíba e Triângulo Mineiro. Estudos realizados com esse vírus demonstraram que ele pode ser transmitido por fêmeas do ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijkes) (Acari: tenuipapidae) (Chagas, 1973; 1978; Carvalho, 1999), e que ele é constituído por partículas baciliformes medindo entre 35 a 50 nm de diâmetro por 100 a 224 nm de comprimento (Kitajima e Costa, 1972; Chagas, 1978; 1980; Carvalho, 1999; Nogueira et al., 1999; 2000; Boari et al., 2001; 2002). Essas características são semelhantes às apresentadas pelos *Rhabdovirus* e, devido à sua persistente localização no núcleo nas células infectadas, o CoRSV tem se considerado um *Nucleorhabdovirus*.

A súbita mudança no comportamento dessa virose no campo foi creditada principalmente ao aumento da população do seu ácaro vetor *B. phoenicis*, facilitada pelos intensos tratamentos culturais que podem afetar a população dos seus inimigos naturais. Entretanto, levantou-se também a possibilidade de que o CoRSV poderia ter sofrido alguma modificação genética, que teria contribuído para melhorar a sua capacidade de ser transmitido pelo vetor, além de incrementar também a sua própria eficiência na relação patógeno-hospedeira.

Os testes de transmissão mecânica realizados por Chagas (1973, 1978) com os isolados de CoRSV originalmente estudados mostraram que esse vírus era capaz de infectar plantas de *Chenopodium quinoa* Willd. e *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn. (Chenopodiaceae), causando somente lesões locais cloróticas arredondadas com centro necrótico. Carvalho e Figueira (1998)

observaram que os isolados mais recentes, em estudo, além de causarem lesões locais semelhantes, foram também capazes de infectar sistemicamente plantas de *C. quinoa*. Esse sintoma pôde ser reproduzido quando o CoRSV foi recuperado por transmissão mecânica de plantas de *C. quinoa* para *C. quinoa*, mas não de *C. quinoa* para plantas de café.

Essa observação foi bastante importante, pois sabe-se que a invasão sistêmica da planta pelos vírus depende da proteína que tem sido denominada proteína de movimento, que deve ser codificada vírus, cuja interação com componentes celulares possibilita a sua translocação de célula-à-célula (Matthews, 1992). Trata-se de uma primeira evidência de que o CoRSV poderia ter sofrido alguma modificação genética, que o teria habilitado a invadir sistemicamente plantas de *C. quinoa*. Não se pode descartar também que alguma outra modificação poderia ter agido no sentido de facilitar a sua transmissão através do ácaro vetor *B. phoenicis*. Entretanto, os autores não chegaram a detectar partículas virais nos tecidos de *C. quinoa* infectada, o que viria a comprovar definitivamente que os sintomas sistêmicos foram causados pelo CoRSV.

Existe ainda a possibilidade de que o CoRSV possa ocorrer na forma de um complexo de estirpes no campo, explicando os diferentes padrões de comportamento que essa doença tem apresentado no campo. As observações em plantas infectadas no campo às vezes mostram diferentes graus de severidade, em áreas situadas a poucos metros de distância. De qualquer modo, muitas são as investigações que ainda necessitam ser implementadas com a finalidade de melhor conhecer esta virose.

Nesse trabalho, foram realizados alguns testes com o CoRSV, envolvendo transmissões mecânica, com o vetor *B. phoenicis*, para diferentes tipos de hospedeiras, e análises de cortes ultrafinos de tecidos infectados pelo

CoRSV, ao microscópio eletrônico, com a finalidade de comprovar a presença de partículas virais nas plantas de *C. quinoa* infectadas sistemicamente.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Origem do inóculo**

Foram feitas coletas de folhas de cafeeiro infectadas nas regiões do Alto Paranaíba (municípios de Coromandel e Patrocínio) e do Sul de Minas (municípios de Varginha, Três Pontas e Boa Esperança). As folhas com sintomas típicos de mancha anular foram acondicionadas em sacos plásticos e transferidas para o DFP/UFLA para os testes de inoculação mecânica e inoculação com o vetor.

### **2.2. Obtenção das plantas hospedeiras e inoculação mecânica**

As plantas hospedeiras mais empregadas durante os testes foram o cafeeiro (*Coffea arabica* L.), *C. quinoa*, *C. amaranthicolor* e *A. tenella*. Além dessas, foram testadas também outras plantas, entre as espécies daninhas e cultivadas (Tabela 1), com o intuito de encontrar alguma planta hospedeira alternativa para o CoRSV no campo.

As sementes das plantas daninhas foram coletadas no campo, e as plantas foram encaminhadas para o setor de taxonomia vegetal da UFLA para identificação das espécies. As sementes das plantas cultivadas, como as hortaliças, feijão e soja, foram compradas em casas especializadas no comércio local, e a das indicadoras mais utilizadas foram obtidas na coleção mantida pelo

DFP/UFLA. Essas sementes foram semeadas em bandejas e, posteriormente, as mudas foram transplantadas para vasos com capacidade aproximada de 2 kg, contendo como substrato partes iguais de terra areia e esterco de bovino.

Após atingirem o tamanho adequado, as mudas foram inoculadas, mecanicamente ou através do vetor, e mantidas em casa-de-vegetação para preservação e multiplicação do inóculo, ou até a fase final de avaliação dos sintomas.

A inoculação mecânica foi feita com o extrato de folhas infectadas, mostrando os sintomas típicos do CoRSV, obtido por maceração dos tecidos em almofariz contendo nitrogênio líquido, seguida por suspensão na solução estabilizadora de Cech, modificada por Chagas (1978) na proporção de 1:10 (1 ml da solução para 10 gramas de tecido). Esta solução tem a seguinte composição:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,1 M contendo 2% de nicotina, 10% de sacarose, 0,03% de carvão ativado e 0,1 M de ácido ascórbico. Esse extrato foi friccionado nas folhas da planta-teste receptora do inóculo, previamente polvilhadas com carborundum (400 mesh), e em seguida essas folhas foram lavadas com água e transferidas para casa-de-vegetação, onde permaneceram até a sua avaliação final. O controle foi feito com inoculações mecânicas de extrato obtido de folhas cafeeiro sadio. Foram feitas também inoculações mecânicas de extratos obtidos de folhas de *C. quinoa* e *C. amaranticolor* para recuperação do vírus de plantas com e sem sintomas. Neste caso, a solução utilizada para extração do inóculo foi o PBS-T (solução salina tamponada – 2% polivinilpirrolidona (PVP), 0,02% de soroalbumina de ovo e 2% Tween 20).

### **2.3. Testes de transmissão com o vetor**

Os ácaros empregados nesse experimento foram criados e mantidos em frutos de laranja, em ambiente com temperatura ambiente controlada, em torno



de 30°C. No início do trabalho, alguns exemplares das colônias em teste foram encaminhadas para o setor de acarologia da EPAMIG para serem checados por especialista competente da área, garantindo, assim, que os ácaros empregados realmente eram *B. phoenicis*.

Nos testes de transmissão, inicialmente as folhas da planta-teste doadora do inóculo, com os sintomas típicos da mancha anular, foram colocadas dentro de uma placa de Petri com 15 cm de diâmetro por 2 cm de profundidade, sobre uma esponja com 1 cm de espessura, embebida em água. Em seguida fez-se uma espécie de arena, colocando-se uma fina camada de algodão nos bordos da folha, com a finalidade de manter a sua turgescência e para impedir a migração do ácaro. Após a colocação de algumas gotas de gesso em água, para estimular a ovoposição, os ácaros foram transferidos para a arena e deixados para se alimentarem, para aquisição do vírus, por um período de 24 a 72 horas. Para aquisição foram empregados três grupos: a) somente adultos; b) larvas e adultos e c) somente larvas. Após o período de aquisição, esses foram transferidos para a planta-teste receptora, na qual permaneceram também por um período de 14 a 72 horas para transmissão do vírus. Simultaneamente, plantas-teste receptoras foram colonizadas com ácaros não virulíferos para servirem como controle. As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação até o final da avaliação dos sintomas.

#### **2.4. Microscopia eletrônica**

Cortes ultrafinos de tecidos de folhas de *C. quinoa*, apresentando sintomas de infecção local e sistêmica, foram examinados ao microscópio eletrônico com a finalidade de verificar a possível presença de partículas do CoRSV. Para a obtenção dos cortes ultrafinos, os tecidos foram fixados e incluídos em resina conforme técnica descrita a seguir.

### 2.4.1. Inclusão do material infectado em resina Spurr

Inicialmente os tecidos foram fixados numa solução contendo tampão cacodilato 0,2 M, glutaraldeído 2%, paraformaldeído 4% e  $\text{CaCl}_2$  5mM, durante quatro horas a 4°C, e lavados por três vezes com tampão cacodilato 0,1 M, deixando-se os tecidos no tampão por dez minutos em cada lavagem. Em seguida foram pós-fixados em tetróxido de Ósmio a 2%, diluído em tampão fostafo 0,2 M, em pH 7,2, em temperatura ambiente, por uma hora, e contrastados em acetato de uranila a 2%, a -4°C de um dia para o outro. Após essa etapa foram feitas três lavagens de cinco minutos cada, em solução salina a 0,9% e desidratação com séries crescentes de acetona a 25%, 50% e 70% por cinco minutos em cada concentração, a 90% por dez minutos, e três vezes por vinte minutos com acetona pura. Depois da desidratação foi feita a infiltração dos tecidos em Spurr (5g de vinilciclohexene dioxide, 3 g de diglycidyl ether of propyleneglycol, 13 g de nonenyl succine anhidride e 0,2 g de dimethyl amino ethanol) dissolvido em acetona, sendo:

- Spurr + acetona (1:1): 03 horas a temperatura ambiente.
- Spurr + acetona (2:1): 03 horas a temperatura ambiente.
- Spurr: "overnight" a 4°C.

Estes foram colocados em moldes de borracha, preenchidos com a resina Spurr e colocados na estufa a uma temperatura de 80°C por 12 horas para polimerização, formando, assim, pequenos blocos. Os cortes ultra-finos, obtidos com o auxílio do ultramicrotomo (REICHERT-JUNG), foram colocados sobre grades de cobre de 400 mesh, previamente cobertas com colódio e metalizadas com carbono. A seguir, os cortes foram contrastados com acetato de uranila a 3% por vinte minutos, lavados com água bidestilada e contrastados com citrato de chumbo por dez minutos, novamente lavados com água bidestilada e examinados ao microscópio eletrônico de transmissão (EM-109 Zeiss).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Inoculação mecânica em plantas hospedeiras diversas

Neste ensaio foram inoculadas 31 espécies de plantas (Tabela 1), numa tentativa de encontrar alguma que pudesse servir como hospedeira alternativa para o CoRSV. Algumas destas plantas já haviam sido testadas por outros autores (Chagas; 1978; Carvalho, 1999), como *Chenopodium quinoa* Willd., *C. amaranticolor* Coste & Reyn., *Gomphrena globosa* L., *Cucurbita pepo* L., *Citrullus lanatus* (Thumb.) Matsumura & Nakai, *Phaseolus vulgaris* L., *Capsicum anuum* L., *Datura stramonium* L., *Lycopersicon esculentum* Mill., *Nicotiana tabacum* L., *Alternanthera tenella* Colla, *Amaranthus deflexus* L., *Bidens pilosa* L., *Emilia sonchifolia* DC., *Galinsoga ciliata* (Raf.) Blake, *Sonchus oleraceus* L., *Sida rhombifolia* L., *Richardia brasiliensis* Gomez, *Datura stramonium* L., *Nicotiana bentamiana* L. e *Physalis floridana* L., mas foram novamente testadas para confirmação. Os resultados obtidos se encontram discriminados na Tabela 1 e mostram que somente *C. quinoa* e *C. amaranticolor* apresentaram sintomas, nas condições experimentais empregadas. De um modo geral, o ciclo de hospedeiras para os *Rhabdovirus* é bastante restrito (Black, 1970; Franck, 1973; Jackson e Christie, 1979).

Foram inoculadas 618 plantas de *A. tenella* com extrato de folhas de cafeeiro, apresentando lesões do CoRSV, e também com o extrato proveniente de *C. quinoa*, com sintomas locais do vírus. Algumas apresentaram deformações, como encarquilhamento das folhas e subdesenvolvimento da planta, porém não foi confirmada a presença do vírus em microscopia eletrônica, nos testes realizados. Entretanto, esse resultado não é considerado definitivo e deve ser confirmado posteriormente.

Resultado semelhante foi encontrado por Carvalho (1999), que transmitiu o CoRSV para *A. tenella*, onde os sintomas mostraram-se sistêmicos e apareceram 15 dias após a inoculação, com o aparecimento de ilhas verdes ao longo da nervura central, que ficou subdesenvolvida, com o limbo foliar enrugado e deformado. Entretanto, o autor também não obteve sucesso nas observações ao microscópio eletrônico nem nas tentativas de recuperação do vírus por inoculação mecânica do suco de *A. tenella*, com sintomas, para plantas sadias da mesma espécie ou de *C. quinoa*. Os autores consideraram a possibilidade de a transmissão mecânica ser dificultada pela presença dos inibidores virais no extrato de *A. tenella*, que podem interferir na infectividade de fitovírus. Noronha et al. (1993) encontraram, no suco dessa planta, inibidores virais que foram capazes de impedir o aparecimento das lesões que geralmente são provocadas pelo vírus do mosaico do fumo (*Tobacco mosaic virus* - TMV) em *Nicotiana glutinosa*. Isso, aliado à baixa transmissibilidade mecânica do CoRSV, tem dificultado um pouco essa investigação.

TABELA 1. Resultados obtidos na transmissão mecânica do CoRSV para diversas plantas hospedeiras. Média geral de todos os experimentos realizados de Janeiro/2000 a Janeiro/2002. UFLA, Lavras MG.

Planta doadora do inóculo	Planta inoculada	Número de plantas inoculadas	Número de plantas infectadas	Porcentagem de transmissão
<i>Coffea arabica</i>	<i>Alternanthera tenella</i>	384	15	3,9
<i>Chenopodium quinoa</i>	<i>Amaranthus deflexus</i>	80	0	0
<i>C. quinoa</i>	<i>Bidens pilosa</i>	90	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>C. amaranticolor</i>	456	163	35,7
<i>C. arabica</i>	<i>Chenopodium quinoa</i>	908	345	38
<i>C. arabica</i>	<i>Capsicum annuum L.</i>	11	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Citrullus vulgaris</i>	06	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>C. arabica</i>	121	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Commelina benghalensis L.</i>	20	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Capsicum anuum L.</i>	15	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Citrullus vulgaris</i>	10	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Cucurbita pepo L.</i>	15	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Datura stramonium</i>	11	0	0
<i>A. tenella</i>	<i>Emilia sonchifolia</i>	80	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Euphorbia heterophylla</i>	40	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	20	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Physalis floridana</i>	20	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Galinsoga ciliata</i>	22	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Glycine max L.</i>	32	0	0
<i>A. tenella</i>	<i>Gomphrena globosa</i>	45	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Ipomoea acuminata</i>	17	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Leonurus sibiricus</i>	17	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Lettuce sativa</i>	12	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	30	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>	50	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Nicotiana bentamiana</i>	80	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Richardia brasiliensis Gomez</i>	15	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Sida rhombifolia L.</i>	20	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Solanum americanum L.</i>	40	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Sonchus oleraceus</i>	92	0	0
<i>C. arabica</i>	<i>Spinacea oleracea</i>	35	0	0

Foi inoculado um total de 908 plantas de *C. quinoa*; 345 plantas apresentaram sintomas locais do CoRSV (Figura 1 - A e B). Alguns dos sintomas de lesão local apareceram como pontuações e permaneceram dessa

maneira até o final do ciclo da planta. Outras lesões se iniciaram com diâmetro ligeiramente maior e no final do ciclo, perto da senescência da folha, essas lesões amarelas apresentaram bordos verde-escuro (Fig. 1 - B), semelhantes aos observados em folhas de café com os sintomas da mancha anular. Também foram inoculadas 456 plantas de *C. amaranticolor*, sendo que 163 plantas mostraram os sintomas locais, também com halos verde-escuro (Fig. 1 - C e D). Porém, dependendo da época das inoculações, o número de plantas que apresentaram sintomas eram bem diferentes. Houve época, como em julho/2000, quando a temperatura média do dia da inoculação foi mais baixa, que não foi conseguida nenhuma transmissão. Por outro lado, em novembro de 2000, quando a temperatura foi mais elevada, a porcentagem média de plantas inoculadas que apresentaram sintomas foi de 80% (Tabela 2). Isto parece indicar que a temperatura deve ser um fator importante na transmissão mecânica deste vírus. As plantas que não demonstraram sintomas foram mantidas até o início de sua senescência, quando foram, então, descartadas.

O abrasivo, ao inocular plantas de café, mesmo com muito cuidado e utilizando pouco abrasivo, causou danos severos nas folhas, como necrose nos tecidos friccionados. Isso pode ser a provável causa de não se ter conseguido a transmissão mecânica para plantas de café. Costa et al. (1960) também não conseguiram transmitir mecanicamente o CoRSV para plantas de café, cv. Mundo Novo.

TABELA 2. Discriminação dos resultados positivos obtidos, na transmissão mecânica do *Coffee ringspot virus* (CoRSV) para diversas plantas hospedeiras, por época de inoculação.

Planta Inoculada	Periodo de agosto a abril*			Periodo de maio a julho**		
	Nº plantas Inoculadas	Nº plantas Infectadas	% Transmissão	Nº plantas Inoculadas	Nº plantas Infectadas	% Transmissão
<i>Chenopodium quinoa</i>	626	328	52,4	282	17	6,0
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	340	160	47,3	116	03	2,6
<i>Alternanthera tenella</i>	320	15	4,7	64	0	0

\* Meses com temperatura média ambiente mais elevada (20-30°C)

\*\* Meses com temperatura média ambiente mais amena (<20°C)

Algumas plantas de *C. quinoa*, inoculadas com folhas de cafeeiros com sintomas da mancha anular, provenientes de Varginha-MG, apresentaram sintomas em diversas folhas além daquelas nas quais foram inoculadas. Estes sintomas foram diferentes das lesões locais, caracterizados por manchas cloróticas e deformações nas folhas, principalmente nas folhas mais novas, e um desenvolvimento mais lento desta planta em relação às plantas controle, mesmo quando comparadas com as que apresentaram lesões locais (Figura 1 - E, F, G e H). Esses sintomas apareceram tanto nas épocas de temperaturas mais quentes como nas de temperaturas mais amenas. O vírus foi recuperado dessas plantas e os mesmos sintomas se repetiram quando se fez a inoculação mecânica do suco dessas plantas para outras plantas de *C. quinoa*. Cortes ultrafinos de folhas, provenientes das plantas com sintomas sistêmicos, quando examinados ao microscópio eletrônico de transmissão apresentaram numerosas partículas baciliformes, medindo 149 x 50 nm, típicas do CoRSV, associadas ao retículo endoplasmático e no núcleo das células do mesófilo e da epiderme (Figuras 2 e 4). Na Figura 3 pode ser vista a estrutura em forma de roda de carroça (“spokewheel”), típica dos *Rhabdovirus* (Francki et al., 1987).

Carvalho e Figueira (1998) inocularam mecanicamente 203 plantas de *C. quinoa*, utilizando isolados de cafeeiros provenientes de Alfenas, MG; além das lesões locais, 20 destas plantas apresentaram infecção sistêmica, com sintomas como diminuição do limbo foliar, encarquilhamento e clorose. O tempo decorrido da inoculação até o aparecimento dos sintomas foi de 30 dias. Nos estudos realizados por Chagas (1978), os isolados do CoRSV só eram capazes de induzir lesões locais nas plantas inoculadas de modo que, até naquele momento, não havia nenhum relato de invasão sistêmica dessa planta pelo CoRSV. Por isso, os autores sugeriram que o vírus pode ter sofrido alguma mutação, o que o permitiu desenvolver a capacidade de se movimentar de uma para outra célula em plantas de *C. quinoa*. Entretanto, eles não chegaram a



demonstrar a presença de vírus nos tecidos infectados para suportar essa hipótese.

Com os resultados obtidos nesse trabalho agora realizado, foi possível provar, pela primeira vez, que os sintomas sistêmicos apresentados pelas plantas de *C. quinoa* foram realmente causados pelo CoRSV, o que representa uma importante constatação para compreender melhor a mudança nos fatores epidemiológicos apresentada por esse vírus no campo (Figuras 2 a 4). O fato de o CoRSV ter se tornado capaz de infectar sistemicamente plantas que antigamente só reagiam com lesão local pode realmente indicar que o vírus sofreu alguma modificação que tenha aumentado a sua eficiência para infectar a planta, e mesmo para se disseminar através do vetor em condições de campo.

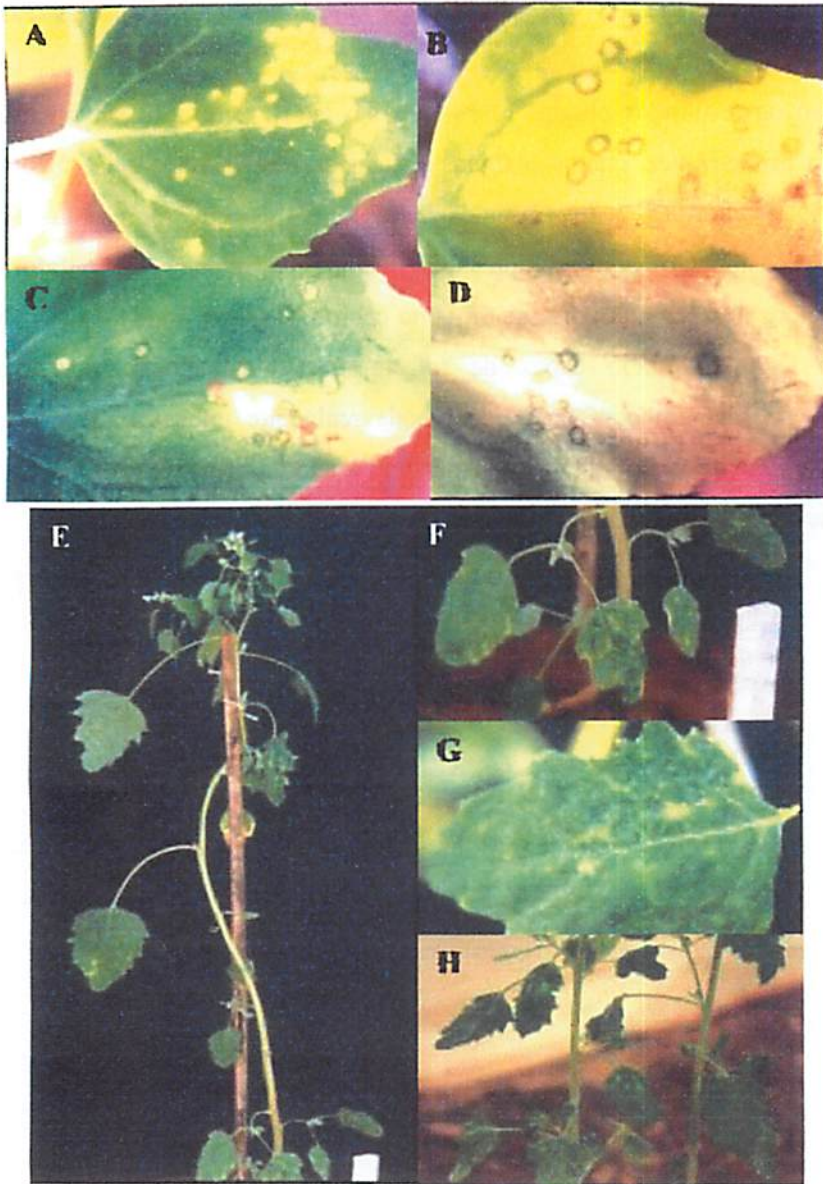


Figura 1. A e B - Sintomas de lesão local causados pelo CoRSV em *Chenopodium quinoa*. C e D - lesão local em *Chenopodium amaranticolor*. E,F,G e H - Sintomas induzidos pelo CoRSV sistemicamente em *C. quinoa*.

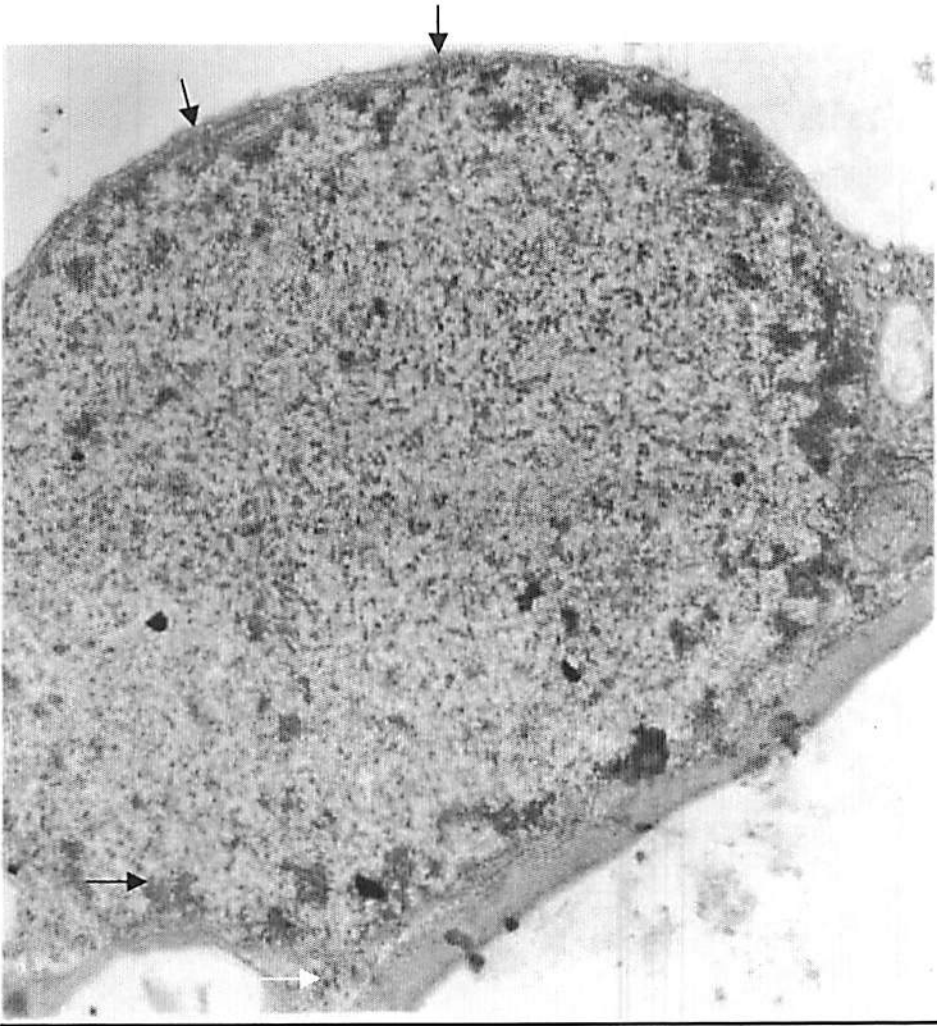


Figura 2. Fotomicrografia de um corte ultrafino de tecidos de *Chenopodium quinoa* com sintomas de infecção sistêmica do CoRSV, mostrando numerosas partículas dentro do núcleo (N) e na sua periferia, dentro do núcleo (setas pretas) e fora do núcleo (seta branca).

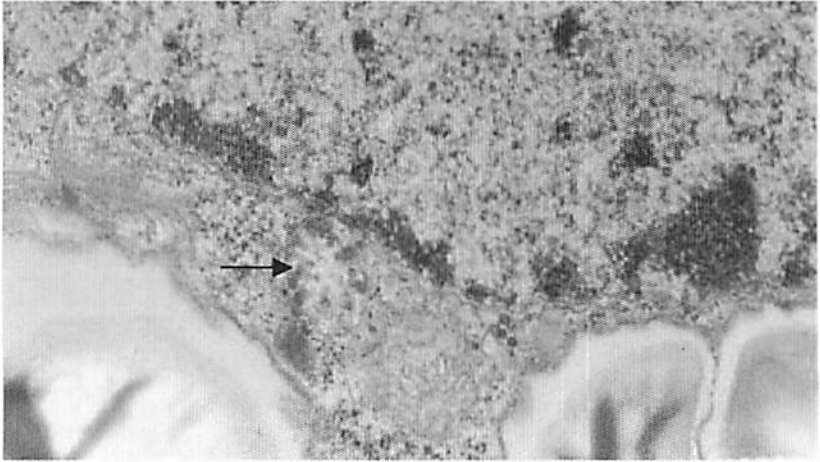


Figura 3. Fotomicrografia de células de *Chenopodium quinoa* infectadas sistemicamente pelo CoRSV, mostrando a estrutura tipo "spokewheel"(seta) formadas por partículas virais, típicas dos *Rhabdovirus*.

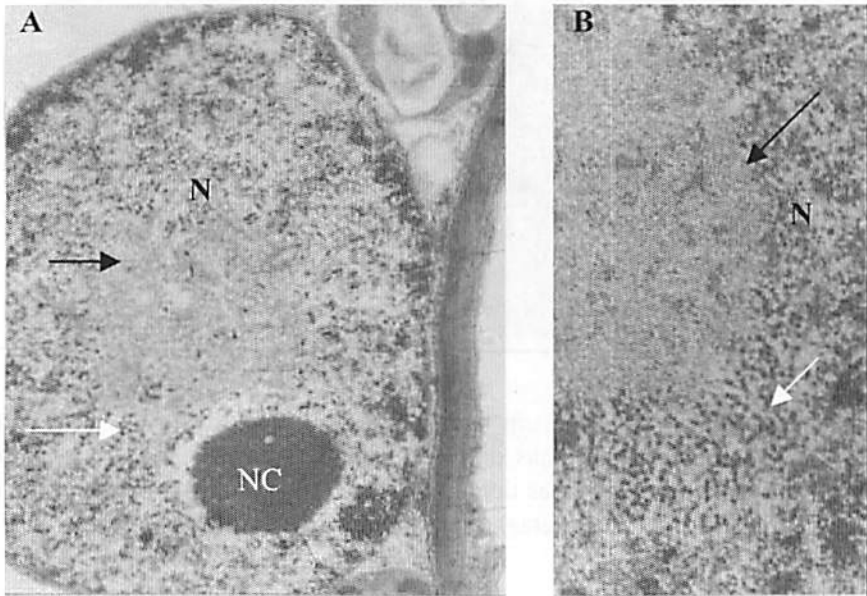


Figura 4. Fotomicrografia de um núcleo (N) de célula de *Chenopodium quinoa* infectada sistemicamente pelo CoRSV, mostrando uma zona de menor densidade (A e B - setas pretas) e inúmeras partículas virais (setas brancas). Detalhe aumentado em B (NC = nucléolo).

### 3.2. Testes de transmissão com o vetor

Os resultados obtidos nos testes de transmissão com o vetor *B. phoenicis* estão discriminados na Tabela 3. Pode-se observar que a transmissão aconteceu somente quando se empregou somente a larva, ou a larva mais o adulto, confirmando os resultados obtidos anteriormente por Carvalho (1999). A transmissão, de um modo geral, foi baixa para plantas de café, e em *C. quinoa* não houve transmissão, provavelmente devido à baixa sobrevivência dos ácaros nesta planta. Grande parte deles morriam cerca de três dias após a infestação das plantas, e após cinco todos os dez ácaros colocados na planta havia morrido.

Essas observações coincidem com as feitas por Carvalho (1999), que conseguiu a transmissão do CoRSV para 13,3% das mudas de café quando utilizou larvas e fêmeas adultas de *B. phoenicis*; quando o autor utilizou apenas larvas do ácaro, a transmissão foi de 5%. O autor atribuiu a baixa eficiência de transmissão do CoRSV para *C. quinoa* ao fato de essa ser uma planta com propriedades acaricidas, e a baixa transmissão para plantas de café a fatores relacionados com o tempo de alimentação e condições ambientais ou ao fato de os ácaros não terem adquirido o vírus antes de serem transferidos para as mudas sadias, pois eles se alimentam nas células da epiderme, nas quais a concentração de vírus parece ser mais baixa. Segundo Kitajima (1972), na maioria de suas observações, células contendo partículas baciliformes eram do mesófilo e esporadicamente da epiderme, sendo que não se registrou nenhum caso destas partículas em células da região vascular. Carvalho (1999) também observou partículas somente nas células do mesófilo.

Na avaliação de Chagas (1978), que também obteve um índice relativamente baixo de transmissão (24,2%) quando trabalhou com os isolados antigos do CoRSV, os ácaros poderiam não ter se alimentado em áreas que continham o vírus, ou mesmo poderiam ter perdido a capacidade de transmissão

após um certo período de alimentação. O autor considerou ainda a possibilidade de os ácaros serem incapazes de adquirir o vírus em determinada fase do seu ciclo de vida. Neste trabalho, a exemplo do que foi observado por Carvalho (1999), os ácaros adultos não foram capazes de transmitir o vírus, ou seja, o CoRSV foi transmitido somente quando se utilizaram larvas e adultos e/ou somente larvas, sinalizando para a possibilidade de que as larvas sejam as responsáveis pela aquisição e transmissão do vírus. Entretanto, essa hipótese necessita de estudos mais detalhados para comprovação.

TABELA 3. Resultado da inoculação do CoRSV, através do ácaro vetor *Brevipalpus phoenicis*, em hospedeiras diversas.

Planta inoculada	Estágio do ácaro	Número de plantas inoculadas	Número de plantas infectadas	% de transmissão
<i>C. quinoa</i>	larva e adulto	80	0	0
<i>C. quinoa</i>	adulto	65	0	0
<i>C. arabica</i>	larva e adulto	135	8	5,9
<i>C. arabica</i>	larva	120	6	5
<i>C. arabica</i>	adulto	130	0	0



#### 4. CONCLUSÕES

1. Os exames de cortes ultrafinos de tecidos infectados, ao microscópio eletrônico, comprovaram a invasão sistêmica da planta de *Chenopodium quinoa* pelo *Coffee ringspot virus*.
2. A transmissão do CoRSV para cafeeiros através do ácaro *B. phoenicis* só foi conseguido quando larvas deste ácaro estavam presentes na fase de aquisição do vírus.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BITTANCOURT, A. A. A Mancha-anular, uma nova doença do cafeeiro. **O Biológico**, Campinas, v. 4, n. 1, p. 404-405, ene./mar. 1938.
- BLACK, L. M. Potato yellow dwarf virus. In: GIBBS, A. J.; HARRISON, B. D.; MURANT, A. F. **Descriptions of Plant Viruses**, v. 2, n. 35, 1970.
- BOARI, A. J.; FIGUEIRA, A. R.; REIS, P. R.; NEDER, D. G.; ROSSI, M. N.; NOGUEIRA, N. L. Variabilidade biológica do *Coffee ringspot virus* (CoRSV). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 200, ago. 2002. Suplemento.
- BOARI, A. J.; POZZA, E. A.; FIGUEIRA, A. R.; MORI, A. E.; BARROCAS, E. N. Presença de partículas de *Coffee ringspot virus* (CoRSV) em manchas amareladas nos ramos de cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 27., 2001, Uberaba. **Anais...** Uberaba: SCR/PROCAFÉ/PNFC, 2001. p. 263.
- CARVALHO, C. M. **Estudos biológicos, moleculares e de microscopia eletrônica do vírus da mancha-anular do cafeeiro**. 1999. 58 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- CARVALHO, C. M.; FIGUEIRA, A. R. Situação atual do vírus da mancha-anular em Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 24., 1998, Poços de Caldas. **Resumos...** Rio de Janeiro: MAA/PROCAFÉ/PNFC, 1998. p. 250-251.
- CHAGAS, C. M. Associação do ácaro *Brevipalpus phoenices* (Geijskes) à Mancha-anular do Cafeeiro. **O Biológico**, Campinas, v. 39, n. 9, p. 229-232, set. 1973.
- CHAGAS, C. M. Evidências da etiologia viral da mancha-anular do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, n. 2, p. 218-219, jun. 1980.
- CHAGAS, C. M. **Mancha-anular do Cafeeiro: transmissibilidade, identificação do vetor e aspectos anátomo-patológicos da espécie *Coffea arabica* L. afetada pela moléstia**. 1978. 132 p. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências, São Paulo.
- COSTA, A. S.; SILVA, D. M.; CARVALHO, A. M. B. Infecção de cafeeiros com o vírus de vira-cabeça. **Bragantia**, São Paulo, v. 19, p. XLVII, 1960.



JACKSON, A. O.; CHRISTIE, S. R. *Sonchus* yellow net virus. In: **Descriptions of plant viruses**. Wales, v. 12, n. 205, July 1979.

KITAJIMA, E. W.; COSTA, A. S. Partículas baciliformes associadas à mancha-anular do cafeeiro. *Ciência e Cultura*, Campinas, v. 24, n. 6, p. 542-545, jun. 1972.

MATTHEWS, R. E. F. *Plant virology*. 3. ed. San Diego: Academic, 1992. 556 p.

NOGUEIRA, N. L.; CARVALHO, C. M.; BOARI, A. J.; FIGUEIRA, A. R. Molecular and Itrastructural studies on the brazilian coffe ringspot virus. In: **INTERNATIONAL CONGRESS OF VIROLOGY**, 11., 1999, Sidney, Australia. Abstract book... Sidney, Austrália, 1999. p. 351.

NOGUEIRA, N. L.; FIGUEIRA, A. R.; MORI, A. E.; BOARI, A. J. Comprovação da infecção sistêmica de *Chenopodium quinoa* pelo vírus da mancha-anular do cafeeiro (CoRSV) através de microscopia eletrônica. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 25, n. 621, ago. 2000. Suplemento.

NORONHA, A. B.; AMELIA, M.; ALEXANDRE, V.; GAETANO, R.; VICENTE, M. Protection against tobacco mosaic virus induced by some Caryophllales plant extracts. *Microbios*, Cambridge, v. 73, n. 294, p. 75-80, 1993.

PETERS, D. Plant Rhabdovirus Group. In: HARRISON, B. D.; MURANT, A. F. **Descriptions of Plant Viruses**, v. 14, n. 244, 1981.

## Capítulo 03

**EFEITO DE ACARICIDAS NA POPULAÇÃO DO ÁCARO *Brevipalpus phoenicis* Geijskes E NA INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DA MANCHA ANULAR CAUSADA PELO *Coffee ringspot virus* (CoRSV)**

## RESUMO

MORI, Arnaldi Eiki. Efeito de acaricidas na população do ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) e na incidência e severidade da mancha anular causada pelo *Coffee ringspot virus* (CoRSV). Lavras: UFLA, 2003. p. 49-71 (Dissertação de Mestrado em Fitopatologia).

Neste trabalho foi investigado o efeito de cinco acaricidas no controle do vetor do vírus da mancha anular do cafeeiro (*Coffee ringspot virus* - CoRSV), o ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae), em condições de campo. Foi estudada também a influência desses acaricidas na incidência e severidade da doença. Os experimentos foram conduzidos em duas lavouras comerciais, localizadas na região do Alto Paranaíba, município de Coromandel, MG, utilizando-se delineamento de blocos casualizados, com seis tratamentos e três repetições, em dois anos sucessivos. Cada parcela foi constituída por dez plantas, distribuídas em três fileiras, e as avaliações foram feitas nas seis plantas centrais. Os acaricidas dinocap (50 ml/100 l), dicofol (75 ml/100 l), dinocap + hexythiazox (37,5 + 1,5g/100 l), cyhexatin (50g/100 l) e calda sulfocálcica (2,5%) foram aplicados a cada 90 dias, com pulverizadores costais motorizados regulados para um volume de vazão de 1000 litros/hectare. A cada 30 dias foram coletadas cinco folhas, um ramo de 20 cm e dez frutos (na época de produção), no terço inferior interno das plantas, para contagem do número de ácaros adultos, de ovos e avaliação da severidade da doença nas folhas. Dos cinco acaricidas pulverizados, dois se destacaram no controle deste ácaro: o dicofol e o cyhexatin. Nos meses chuvosos, a população do ácaro se manteve em níveis extremamente baixos, de modo que todos os tratamentos se nivelaram com o controle, indicando que não existe a necessidade do uso de acaricidas nesse período. Para a área 01, nas ocasiões em que a população do ácaro foi alta, a incidência do vírus geralmente também foi mais alta, assim como a severidade, ocorrendo o contrário quando a população do ácaro foi mais baixa, como na época das chuvas. Na área 02, apesar desta relação ter sido verificada em alguns meses, a incidência e severidade não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos. Entretanto, deve-se considerar que as folhas com alta severidade de doença tendem a cair, o que pode mascarar esse resultado. Quando se avaliou a produção, não se detectou diferença significativa entre a quantidade produzida pelas parcelas tratadas e a testemunha. Sabe-se, porém, que a qualidade da bebida dos frutos afetados pelo CoRSV tende a ser prejudicada.

---

Comitê de orientação: Antonia dos Reis Figueira (orientadora); Edson Ampélio Pozza (co-orientador).

## ABSTRACT

MORI, Arnaldi Eiki. Effect of acaricides in the mite *Brevipalpus phoenicis* Geijskes population and in the incidence and severity of virus disease caused by the *Coffee ringspot virus* (CoRSV). Lavras: UFLA, 2003. p. 49-71 (Dissertation – Master Program in Phytopathology).

In this work the effect of five acaricides in the control of *Coffee ringspot virus* vector, *Brevipalpus phoenicis* was investigated at field conditions. The influence of these acaricides in virus disease incidence and severity was also investigated. The experiments were carried out in two coffee fields located in Coromandel, Alto Paranaíba region, state of Minas Gerais-Brazil, using a random block design, with six treatments and three replicates, in two successive years. Each plot was formed by 10 plants, distributed in three lines and the evaluations were performed on the six central plants of each plot. The acaricides dinocap (50mL/100 l), dicofol (75mL/100 l), dinocap + hexythiazox (37.5 + 1.5g/100l), cyhexatin (50g/100 l) and lime-sulphur (2.5%) were sprayed at 90 days interval, using 1000 liters/hectare. Every 30 days, 5 leaves, 1 branch of 20 cm and 10 fruits (when applied) were collected in the lower parts of coffee plants to evaluate the number of mites and eggs, and also the disease severity in the leaves. Among the five acaricides tested, two, dicofol and cyhexatin, showed a higher performance for controlling the mite vector. In raining season, the mite population was very low in all the treatments, indicating that the acaricides were useless in this time. In one of the experimental area the virus disease and severity were higher in the proportion of mite populations increase and decreased in the proportion of the mite population decline, as seen in raining seasons. In the other experimental area this correlation was observed only in some months, and did not show statistic differences among the treatments. However it should be considered that leaves with high disease severity fall down normally and this could be a factor interfering in the results. There was no significative difference among the yield of all treatments. However it is well known that the beverage quality is affected by the presence of CoRSV in coffee fruits.

---

Guidance Committee: Antonia dos Reis Figueira (adviser); Edson Ampélio Pozza (co-adviser).

## 1. INTRODUÇÃO

Apesar de não haver nenhum levantamento oficial específico, a mancha anular do cafeeiro, causada pelo *Coffee ringspot virus* (CoRSV) é capaz de causar danos consideráveis à planta, pois além da queda das folhas infectadas pode haver também a queda prematura de frutos, devido ao ataque secundário de fungos diversos. A bebida também parece ser afetada, pois frutos com sintomas tendem a apresentar pior qualidade devido ao maior teor de compostos fenólicos totais (Reis e Chagas, 2001). Não se sabe ao certo se os vírus podem permanecer nos ramos do cafeeiro infectado ou se são eliminados da planta com a queda da folha. Entretanto, existem evidências de que este pode permanecer nos ramos do cafeeiro. Boari (2001a, 2001b), analisando cortes ultrafinos de manchas anelares esverdeadas observadas na casca de ramos jovens de cafeeiro, ao microscópio eletrônico, encontrou as partículas típicas dos Rhabdovírus, indicando a sua presença nos tecidos periféricos dos mesmos. Se esse vírus pode se translocar desses ramos para os frutos e/ou para as folhas que dele emergirão, está sendo objeto de novas investigações.

Chagas (1973,1978) foi o primeiro a conseguir a transmissão desse vírus através do ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijkes) (Acari: Tenuipalpidae). Ele observou que as larvas foram mais eficientes na transmissão que as ninfas e adultos. Carvalho (1999) conseguiu a transmissão quando utilizou larvas e fêmeas do ácaro, mas não quando utilizou somente fêmeas adultas.

O *B. phoenicis* é um ácaro polífago e a sua presença tem sido notada em mais de 100 espécies de plantas (Papa, 1997). Reis et al. (2000) observaram que esse ácaro ocorre durante todo o ano no Sul de Minas Gerais, com maior densidade populacional nos períodos mais secos do ano. Ele está também associado à transmissão da leprose dos citrus, causada por um outro *Rhabdovirus* semelhante, que já foi detectada em praticamente todos os Estados

produtores de citrus no Brasil (Oliveira, 1986; Flechtman, 1977 e Teixeira et al., 1993).

O controle do CoRSV, como o de qualquer outro vírus, não é uma tarefa fácil, pois não existe controle curativo para o mesmo. Desse modo, qualquer medida de controle deve ser de caráter preventivo, destacando-se o uso de cultivares resistentes e o controle da disseminação do vírus, através do seu vetor. Como até o momento não foi ainda encontrado nenhuma fonte natural de resistência para o CoRSV, a única medida de controle disponível é o controle do ácaro vetor através de acaricidas. Porém, a utilização excessiva do controle químico tem causado problemas, como desequilíbrios ecológicos, ressurgência de pragas, aumento nos custos de produção e resistência de insetos e ácaros a pesticidas. A utilização de produtos seletivos tem sido recomendada com o intuito de integrar os controles químico e biológico (Reis et al., 1998 e 1999; Reis e Sousa, 2001).

Existem diversos acaricidas disponíveis no mercado para o controle de ácaros. O dicofol se destaca na cultura dos citros, como um dos acaricidas mais utilizados, principalmente onde a frequência de ácaros resistentes é baixa, devido, entre outras razões, ao seu baixo custo de aquisição (Omoto et al., 2000). Dicofol é considerado nocivo aos predadores *Euseius alatus*, *Euseius concordis* e *Iphiseiodes zuluagai* (Acari: Phytoseiidae) (Komatsu e Nakano, 1988; Reis et al., 1988; Reis et al., 1999). No entanto, Papa et al. (1991) observaram que esse produto apresentou pouco efeito sobre insetos predadores e aranhas, mostrando sua eficiência como acaricida específico.

Cyhexatin foi considerado nocivo a várias espécies de ácaros predadores, tanto em campo (Sato et al., 1992; Yamamoto et al., 1992; Sato et al., 1995; Santos e Gravena, 1997) quanto em condições de laboratório (Komatsu e Nakano, 1998; Reis et al., 1998, 1999). O enxofre, geralmente utilizado como acaricida-fungicida, foi considerado moderadamente nocivo a

*Euseius* sp. e *Iphiseiodes* sp. em condições de campo (Santos e Gravena, 1993, 1995), e em laboratório observou-se que este exerceu uma ação não seletiva a *I. zuluagai* (Reis et al., 1998) e *E. alatus* (Reis et al., 1999). Por outro lado, Silva (1980) detectou baixa toxicidade do enxofre a *I. quadripilis* em campo e Komatsu e Nakano (1988), a *E. concordis*.

Apesar de haver um número razoável de trabalhos investigando a eficiência de produtos para controlar ácaros diversos, não existem, até o momento, muitas informações a respeito do produto mais indicado para ser utilizado no controle do *B. phoenicis* com a finalidade específica de controlar a mancha anular do cafeeiro. Nesse trabalho, foram testados os produtos acaricidas dicofol, dinocap, hexythiazox, cyhexatin e calda sulfocálcica, que são comumente encontrados no mercado, escolhidos principalmente pela diferença entre seus grupos químicos e pela facilidade de aquisição. Esses produtos foram periodicamente pulverizados em duas lavouras cafeeiras localizadas em Coromandel-MG, durante dois anos sucessivos, para avaliação do seu efeito na população de ácaros adultos e no número de ovos nas folhas, ramos e frutos das plantas tratadas, bem como na incidência e severidade da mancha anular do cafeeiro.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Área experimental**

O experimento foi conduzido em lavoura comercial, em que os sintomas visuais evidenciavam a presença do vírus da mancha anular do cafeeiro, no município de Coromandel, localizado na região do Alto Paranaíba de Minas Gerais, numa altitude média de 950 m, com precipitação média anual de 1.300 mm e temperatura média anual de 24°C. Foram utilizadas duas áreas distintas, com solo do tipo argiloso, plantadas com a cultivar Catuaí vermelho, com espaçamento de 4 x 0,5 m, sendo que a área denominada 01 tinha 08 anos e a área 02 tinha 15 anos na ocasião da implantação do experimento.

### **2.2. Delineamento experimental**

O delineamento experimental utilizado foi o DBC – delineamento em blocos casualizados, constituído por seis tratamentos e três repetições. As parcelas foram constituídas por dez plantas cada, sendo distribuídas em três fileiras, sendo que entre cada uma destas fileiras havia uma fileira sem tratamento, para bordadura. As avaliações foram feitas nas seis plantas centrais das parcelas, para anular o efeito de bordadura. De cada planta foram retiradas cinco folhas, um ramo de 20 cm e dez frutos, todos no terço inferior e interno das plantas.



### 2.3. Identificação do ácaro vetor

Os ácaros coletados e utilizados nos experimentos foram encaminhados ao laboratório de acarologia da EPAMIG para correta identificação da espécie, *B. phoenicis*, pelo pesquisador especialista da área.

### 2.4. Acaricidas

Foram testados os efeitos dos seguintes acaricidas: dinocap (Karathane), dicofol (Kelthane), dinocap+hexythiazox (Savey), cyhexatin (Hokko Cyhexatin) e calda sulfocálcica. As pulverizações foram feitas a cada 90 dias, através de um pulverizador costal motorizado, regulado para uma vazão de 1000 litros por hectare, sendo que se procurou atingir todas as partes das plantas, inclusive a interna, nos ramos, onde os ácaros podem se esconder debaixo da casca.

Além destes produtos, foi usada uma parcela como testemunha, à qual foi aplicada somente a água, totalizando, assim, seis tratamentos. Os tratamentos com acaricidas foram comparados com a testemunha, visando correlacionar a população do ácaro vetor com a incidência e severidade da mancha anular do cafeeiro nas folhas amostradas e, posteriormente, na ocasião da colheita, com a produtividade.

As dosagens utilizadas foram aquelas recomendadas pelos fabricantes dos produtos:

dinocap: 50 mL / 100 litros de água

dicofol: 75 mL / 100 litros de água

dinocap + hexythiazox: 37,5 + 1,5 g / 100 litros de água

cyhexatin: 50 g / 100 litros de água

calda sulfocálcica: 2,5 % = 2,5 litros / 100 litros de água

## **2.5. Avaliação da quantidade de ácaro, severidade e incidência da mancha anular**

O material coletado (folhas, ramos e frutos) de cada planta foi acondicionado em saquinhos de papel e estes, dentro de caixas térmicas, sendo em seguida conduzidos para o Laboratório de Fitossanidade da UFLA, onde foram feitas as leituras do número de ácaros e de ovos com o auxílio de microscópios estereoscópicos com aumento de 40 vezes. Em seguida, as folhas deste mesmo material foram utilizadas para leitura da severidade e incidência da mancha anular, empregando a escala diagramática construída e validada para este fim. As avaliações foram feitas mensalmente.

## **2.6. Análises Estatísticas**

### **2.6.1. Área abaixo da curva de progresso de ácaros, ovos, severidade e incidência**

Os dados de número de ácaros e de ovos foram transformados em Área Abaixo da Curva de Progresso de Ácaros e de Ovos (AACPA e AACPO) e os dados de incidência e severidade da mancha anular do cafeeiro foram transformados em Área Abaixo da Curva de Progresso da Severidade (AACPS) e Área Abaixo da Curva de Progresso da Incidência (AACPI), a partir da equação:

$$\text{AACPA, AACPO, AACPS ou AACPI} = \sum (y_i + y_{i+1})/2 * (T_{i+1} - T_i),$$

em que:

AACPA: área abaixo da curva de progresso de ácaros

AACPO: área abaixo da curva de progresso de ovos

AACPS: área abaixo da curva de progresso da severidade

AACPI: área abaixo da curva de progresso da incidência

Y<sub>i</sub>: proporção da doença na i-ésima observação

T<sub>i</sub>: tempo em dias na i-ésima observação

N: número total de observações

Os resultados de AACP foram em seguida transformados para  $(X+0,5)^{0,5}$ . A partir dos valores obtidos de AACPS e AACPI foram realizadas as análises estatísticas de variância, com posterior teste de médias (Tukey a 5%).

## **2.7. Colheita**

A colheita do primeiro ano das áreas 01 e 02 foi em 02/06/2001. Já no segundo ano, a colheita da área 01 foi em 26/03/2002 e da área 02, em 29/04/2002. Estas colheitas foram realizadas manualmente, quando a maioria dos frutos estava no estágio cereja e cerca de 10-15 % de frutos verdes estavam nas plantas, com o derricamento dos frutos em cima de panos, de forma a reduzir ao máximo as perdas de produção. Toda a produção foi pesada para a quantificação dos resultados.

# **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## **3.1. Avaliação de acaricidas**

Os resultados obtidos na contagem de ácaros e ovos nas folhas, ramos e frutos coletados por ocasião das amostragens, no primeiro e segundo ano, estão representados nas Tabelas 1 e 2 e Gráficos 1 a 4. De um modo geral, pode-se observar que quase todos os produtos testados tiveram uma interferência na população de ácaros, nas duas áreas testadas. Porém, os produtos técnicos denominados dicofol e cyhexatin foram os que apresentaram, em ordem

decrecente, uma melhor performance. Apenas a calda sulfocálcica não apresentou o efeito esperado. Andrade e Nakano (1998), estudando o enxofre no solo e sua relação com o ataque deste ácaro, observaram que a incidência da mancha anular estava relacionada com os teores de enxofre, sendo que, nas áreas em que a concentração desse produto era maior, a ocorrência da mancha anular e do ácaro foi menor.

Considerando o número médio de ácaros observados nas folhas amostradas (Tabelas 1 e 2), nota-se que na área 1, os maiores números foram detectados de julho a dezembro e de fevereiro a abril, do primeiro e segundo ano, para a testemunha. Esses são os meses de menor precipitação pluviométrica, de modo que os meses chuvosos parecem ser desfavoráveis à colonização do cafeeiro pelo ácaro. Resultados semelhantes têm sido descritos por outros autores, como Reis et al. (2000), que observaram que as menores populações de *B. phoenicis* se encontram nos meses de maior índice pluviométrico, ocorrendo o contrário nos períodos mais secos.

Na área 2, a área tratada com cyhexatin apresentou um pico maior de ácaros nas folhas que o da testemunha em maio, mas como de um modo geral teve uma boa performance, pode ter sido um fato isolado, sem maior importância. Os acaricidas que melhor controlaram o ácaro foram o dicofol e cyhexatin. A maior diferença entre a performance dos dois acaricidas foi notada no período de março a outubro do segundo ano, quando as parcelas tratadas com dicofol apresentaram o menor número de ácaros, na maioria das avaliações.

Na área 1, houve também uma tendência de se detectar um menor número de ácaros nos ramos das parcelas tratadas com dicofol e cyhexatin; porém, no primeiro ano não houve diferença significativa, e no segundo, apenas as parcelas testemunha e aquelas tratadas com hexythiazox + dinocap foram significativamente inferiores.

Já na área 2, o dicofol e o cyhexatin foram significativamente melhores que todos os demais tratamentos no primeiro ano, sendo que no segundo não houve diferença estatística. Neste, porém, o número de ácaros na parcela com dicofol foi bem abaixo do das demais parcelas. Estas diferenças foram notadas apenas nos períodos secos, sendo que nos meses chuvosos a população se manteve baixa, inclusive nas parcelas controle.

O número de ácaros nos frutos da área 1 foram menores nos tratamentos com dicofol e dinocap, sendo que os demais não diferiram entre si. Na área 2, os tratamentos com dicofol, cyhexatin, calda sulfocálcica e dinocap apresentaram resultados melhores que a parcela testemunha e a tratada com hexythiazox + dinocap.

O número de ovos encontrados nas folhas e ramos do cafeeiro foi menor que o de ácaros, o mesmo não ocorrendo em frutos, para os quais os números foram aproximadamente iguais. Reis et al. (2000), estudando a flutuação populacional deste ácaro na região Sul de Minas, constataram que a quantidade de ovos encontrada foi sempre superior à de ácaros. Pode-se supor que as diferenças climáticas entre estas duas regiões, pois a região do Alto Paranaíba, em que se realizou este experimento, possui um clima com temperaturas notadamente mais elevadas que o Sul de Minas, possam ter favorecido esta maior ocorrência de ácaros em relação aos ovos, o que pode ter relação com o fato de que temperaturas mais elevadas aceleram o ciclo deste ácaro (Reis et al., 2000).

Na redução de ovos, novamente o dicofol e o cyhexatin apresentaram os menores números destes em relação aos demais tratamentos e testemunha, porém nem sempre de forma significativa. O número de ovos nas folhas, na área 1, foi iguais para todas as parcelas no primeiro ano; no segundo ano, a parcela testemunha e a tratada com dinocap foram significativamente inferiores às demais. Na área 2, não foram detectadas diferenças entre os tratamentos.

Tabela 1 - Contagem de ácaros (*Brevipalpus phoenicis*) nas folhas, ramos e frutos coletados na área 1, em dois anos sucessivos (julho/2000 a junho/2002).

Tratamento	Número de Ácaros						Número de Ovos					
	folha		ramo		fruto		folha		ramo		fruto	
	ano 1	ano 2	ano 1	ano 2	ano 1	ano 2	ano 1	ano 2	ano 1	ano 2	ano 1	ano 2
dinocap	76 a	54 a	22 a	49 a	*	23 a	28 a	28 b	7 a	21 a	*	29 b
dicofol	23 a	15 a	9 a	34 a	*	19 a	8 a	7 a	5 a	13 a	*	14 a
hexy+dinoc.	61 a	36 a	30 a	58 b	*	47 b	13 a	13 a	12 a	16 a	*	41 b
testemunha	79 b	132 b	50 a	93 b	*	58 b	15 a	46 b	6 a	19 a	*	54 b
cyhexatin	28 a	29 a	11 a	40 a	*	37 b	8 a	11 a	3 a	26 a	*	32 b
calda sulf.	65 a	41 a	43 a	43 a	*	53 b	8 a	19 a	8 a	7 a	*	62 b
C.V. (%)	20,2	20,2	31,5	12,6		17,3	42,9	32,2	67,4	34,9		21,9

Scott Knott a 5%

\* Não foram avaliados

Tabela 2 - Contagem de ácaros (*Brevipalpus phoenicis*) nas folhas, ramos e frutos coletados na área 3, em dois anos sucessivos (julho/2000 a junho/2002).

Tratamento	ÁCAROS						OVOS					
	folha		ramo		fruto		folha		ramo		fruto	
	ano 1	ano 2	ano 1	ano 2	ano 1	ano 2	ano 1	ano 2	ano 1	ano 2	ano 1	ano 2
dinocap	46 a	17 b	48 a	52 a	*	24 a	19 a	16 a	20 b	29 a	*	24 a
dicofol	14 a	11 a	9 a	20 a	*	10 a	9 a	7 a	3 a	11 a	*	8 a
hexy+dino	25 a	39 d	41 a	62 a	*	32 b	21 a	12 a	19 b	29 a	*	25 a
testemunha	49 a	87 e	60 a	93 a	*	56 b	33 b	25 a	22 b	47 a	*	62 a
cyhexatin	45 a	23 c	28 a	57 a	*	16 a	12 a	8 a	17 b	16 a	*	17 a
calda sulf.	52 a	51 d	34 a	58 a	*	23 a	13 a	18 a	14 b	36 a	*	22 a
C.V. (%)	25,5	10	27	18,7		32,9	24,2	44,5	44,5	22,8		20,6

Scott Knott a 5%

\* Não foram avaliados

Gráfico 1. Número médio de ácaros em folhas de cafeeiro na área 01. Médias de todos os tratamentos (Acaricidas) e Testemunha.

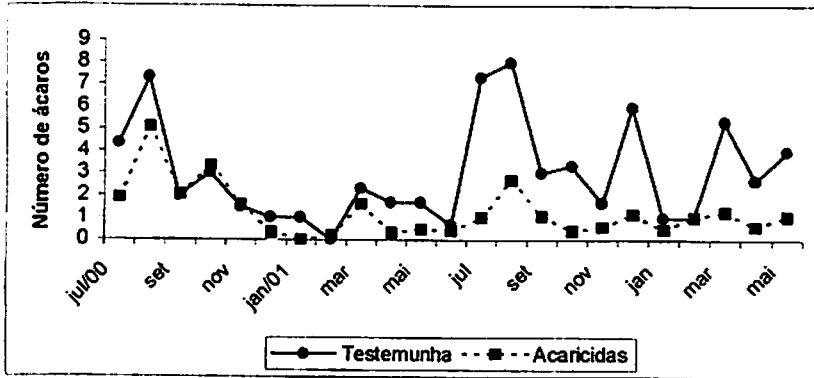


Gráfico 2. Número médio de ácaros em folhas de cafeeiro na área 02. Médias de todos os tratamentos (Acaricidas) e Testemunha.

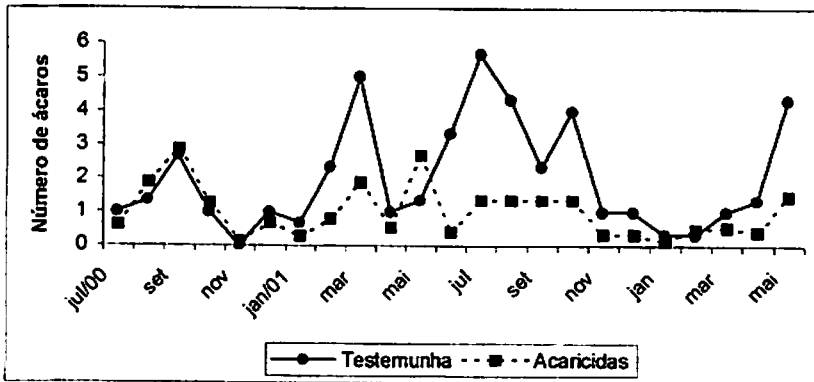




Gráfico 3. Número médio de ácaros em ramos de cafeeiro na área 01 em dois anos sucessivos. Médias de todos os tratamentos (Acaricidas) e Testemunha.

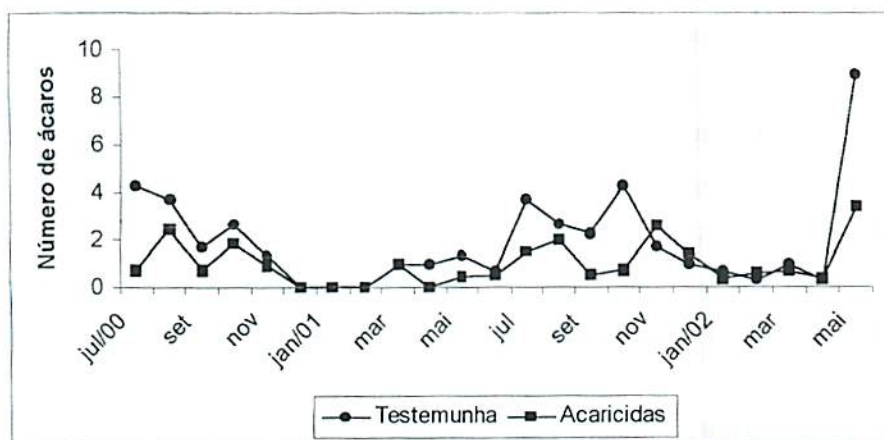
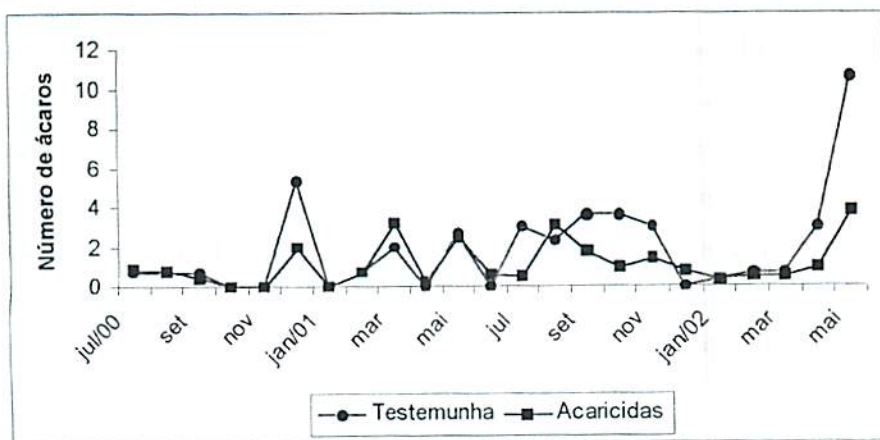


Gráfico 4. Número médio de ácaros em ramos de cafeeiro na área 02 em dois anos sucessivos. Médias de todos os tratamentos (Acaricidas) e Testemunha.



Em ramos, na área 1 também não houve diferença significativa, sendo que na área 2 esta diferença se evidenciou apenas no primeiro ano, a favor do dicofol, que obteve o menor número de ovos. Os outros tratamentos não diferiram entre si. Nos frutos da área 1, apenas o dicofol reduziu significativamente a quantidade de ovos em relação aos outros tratamentos. Na área 2, todos os tratamentos foram melhores que a parcela testemunha.

O maior número de ovos foi também observado nos meses mais secos do ano, assim como ocorreu em relação aos ácaros. Cabe ressaltar que houve grande desuniformidade no número de ovos encontrados, mesmo dentro das mesmas parcelas, o que levou a altos coeficientes de variação (C.V.), como na análise nos ramos da área 1 no primeiro ano, quando ocorreram 67,36%.

### **3.2. Produção das diferentes parcelas**

Os resultados da produção das diferentes parcelas estão representadas na Tabela 3. Nota-se que não houve diferença significativa entre as produções das parcelas tratadas com os diferentes acaricidas e as controle. Porém, a desuniformidade de produção foi muito grande nas parcelas, principalmente na área 1, o que pode ser notado pelos coeficientes de variação (C.V.) altos.

Sabe-se que os frutos com sintomas do CoRSV podem sofrer alteração na qualidade da bebida. Reis & Chagas (2001), analisando frutos infectados com o CoRSV, observaram que além de terem apresentado um maior teor de açúcares totais, os frutos infectados apresentaram menor atividade da polifenoloxidase e maior teor de compostos fenólicos, o que contribuiu para que fossem classificados como bebida dura, enquanto o controle foi classificado como bebida mole. Portanto, a simples presença do CoRSV nos frutos já indicam uma depreciação da qualidade da bebida.

Tabela 3 – Efeito dos tratamentos acaricidas na produção do cafeeiro em dois anos sucessivos. Coromandel-MG.

Acaricidas	Produção média (kg de café cereja/parcela) em cada área nos anos avaliados			
	2001		2002	
	Área 1	Área 2	Área 1	Área 2
Calda sulfocálcica	16,10 a	4,95 a	6,55 a	12,70 a
Cyhexatin	10,2 a	8,5 a	11,8 a	12,4 a
Dicofol	16,1 a	27 a	6,6 a	16,7 a
Dinocap	15,8 a	6,0 a	4,9 a	19,9 a
Hexythiazox + dinocap	14,8 a	8,7 a	5,2 a	13,2 a
Testemunha	12,7 a	8,0 a	6,9 a	18,3 a
C.V. (%)	56,3	42,0	77,9	45,8

\*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (Tukey a 5%)

### 3.3. Incidência e severidade da mancha anular do cafeeiro

Os resultados da avaliação da incidência e da severidade da mancha anular nas folhas amostradas, de acordo com a escala diagramática desenvolvida, se encontram na Figura 5. Pode-se observar que, na área 1, as folhas coletadas nas parcelas tratadas com dicofol e cyhexatin, que foram os mais eficientes no controle do ácaro vetor, mostraram menor incidência e severidade de mancha anular (Tabelas 4 e 5). Na área 3 não foi detectada nenhuma diferença significativa entre os tratamentos. Esta maior incidência e severidade ocorreu apenas a partir de março de 2001, quando as chuvas

começam a diminuir, sendo que elas foram aumentando gradativamente até julho de 2001, quando foi feita a última avaliação. Entretanto, o fato de não ter havido diferença na incidência e severidade da mancha anular pode ser devido à desfolha que normalmente ocorre numa planta infectada, pois a mancha anular tende a se desenvolver na direção do pecíolo, causando a queda precoce da folha. Como não foi feita a avaliação da desfolha provocada pela mancha anular, em nenhuma das parcelas, pode ser que esse dado obtido não corresponda à realidade, e que incidências maiores nas parcelas controle não tenham sido detectadas por causa da desfolha que pode ter ocorrido em época anterior à da amostragem.

Tabela 4. Incidência média (porcentagem de folhas afetadas) da mancha anular do cafeeiro (CoRSV) nas folhas, coletadas de agosto/2000 a julho de 2001. Coromandel, MG.

Tratamento	Área 1	Área 2
dinocap	7,68 b	8,98 a
dicofol	3,54 a	7,59 a
hexythiazox+dinocap	9,45 b	11,11 a
testemunha	14,27 b	15,74 a
cyhexatin	4,37 a	10,28 a
calda sulfocálcica	9,91 b	14,72 a
C.V. (%)	11,19	8,99

Scott-Knott (5%)

\* médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 5. Severidade média (porcentagem de área lesionada) da mancha anular do cafeeiro (CoRSV) nas folhas, coletadas de agosto/2000 a julho de 2001. Coromandel, MG.

Tratamento	Área 1	Área 2
dinocap	0,72 a	0,85 a
dicofol	0,59 a	0,77 a
hexythiazox+dinocap	0,89 a	0,91 a
testemunha	1,10 b	1,05 a
cyhexatin	0,62 a	0,93 a
calda sulfocálcica	0,86 a	1,06 a
C. V. (%)	12,46	16,93

Scott-Knott (5%)

\* médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Gráfico 5. Incidência média da mancha anular do cafeeiro em folhas de cafeeiro na área 01. Médias de todos os tratamentos (Acaricidas) e Testemunha.

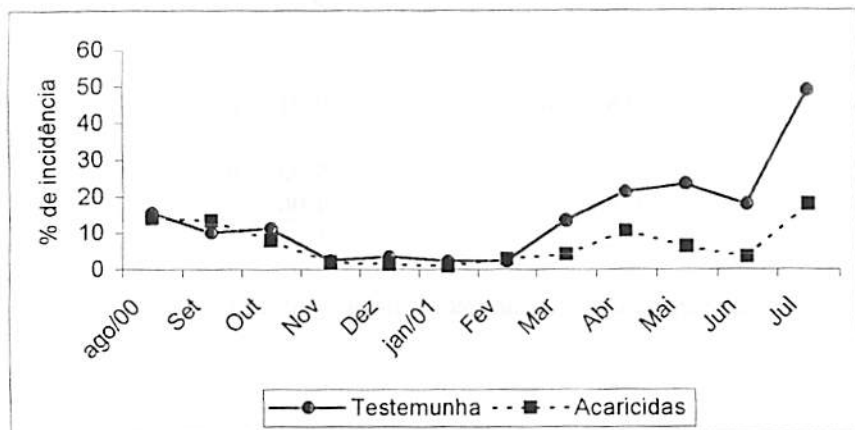


Gráfico 6. Incidência média da mancha anular do cafeeiro em folhas de cafeeiro na área 02. Médias de todos os tratamentos (Acaricidas) e Testemunha.

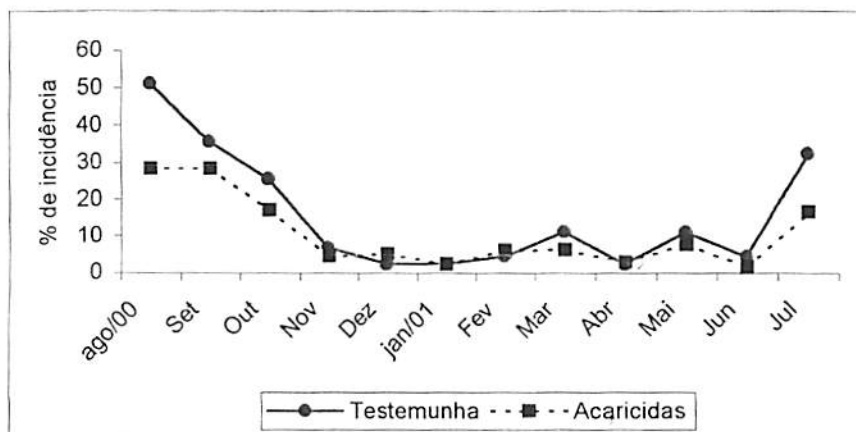


Gráfico 7. Severidade média da mancha anular do cafeeiro em folhas na área 01. Média das parcelas com tratamento (Acaricidas) e Testemunha.

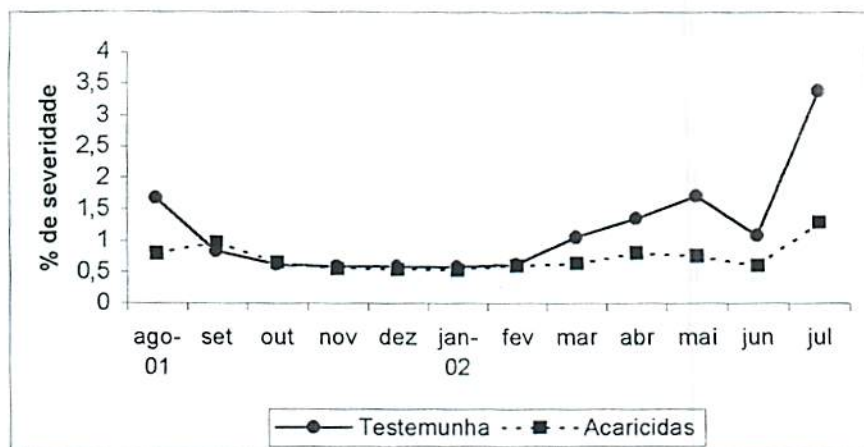
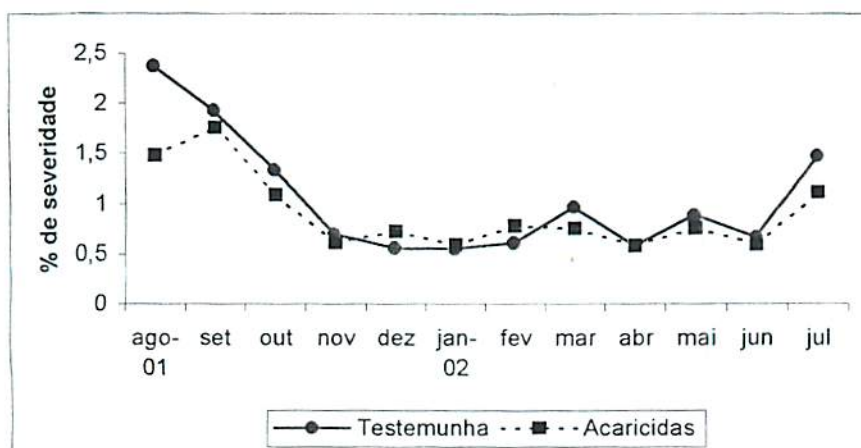


Gráfico 8. Severidade média da mancha anular do cafeeiro em folhas na área 02. Média das parcelas com tratamento (Acaricidas) e Testemunha.



#### 4. CONCLUSÕES

1. Dicofol e cyhexatin, em comparação com dinocap, dinocap+hexythiazox e calda sulfocálcica, apresentaram maior eficiência no controle do ácaro *Brevipalpus phoenicis*.
2. A aplicação de acaricidas no período chuvoso do ano é desnecessária, pois a população do ácaro *B. phoenicis* é normalmente muito baixa nessa época.
3. Houve uma correlação positiva entre a quantidade de ácaros *B. phoenicis* e a incidência e severidade da mancha anular numa áreas estudadas.



## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, R. C. de; NAKANO, O. Influência de teores de enxofre sobre a ocorrência do ácaro plano *Brevipalpus phoenices* e os sintomas da virose “Mancha Anular” em cafeeiro *Coffea arabica* L. *Ecossistema*, Espírito Santo do Pinhal, v. 23, p. 105, 1998.
- BOARI, A. J.; FIGUEIRA, A. R.; NOGUEIRA, N. L.; MORI, A. E.; ROSSI, M. L.; BARROCAS, E. N. 2001. Detecção de partículas de *Coffee ringspot virus* (CoRSV) em manchas amareladas presentes nos ramos de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 26, (522). Suplemento.
- CARVALHO, C. M. Estudos biológicos, moleculares e de microscopia eletrônica do vírus da mancha-anular do cafeeiro. 1999. 58 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG
- CHAGAS, C. M. Associação do ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) à Mancha Anular do Cafeeiro. *O Biológico*, Campinas, v. 39, n. 9, p. 229-232, set. 1973.
- CHAGAS, C. M. Mancha Anular do Cafeeiro: transmissibilidade, identificação do vetor e aspectos anátomo-patológicos da espécie *Coffea arabica* L. afetada pela moléstia. 1978. 132 p. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências, São Paulo.
- FLECHTMANN, C. H. W. Ácaros de importância agrícola. São Paulo: Nobel, 1977. 150 p.
- FRANCKI, R. I. B. Plant Rhabdoviruses. *Adv. Virus Res.*, v. 18, p. 257 – 345, 1973.
- FRANCKI, R. I. B.; MILNE, R. G.; HATTA, T. Plant Rhabdoviridae. In: *Atlas of Plant Viruses*, Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc. 1987. Vol. I. P. 73 – 100.
- JACOBSON, R. J.; CROFT, P.; FENLON, J. Response to fenbutatin oxide in populations of *Tetranychus urticae* Kock (Acari: Tetranychidae) in UK protect crops. *Crop Protection*, Oxford, v. 18, n. 1, p. 47-52, Feb. 1999.

KOMATSU, S. S.; NAKANO, O. Estudos visando o manejo do ácaro da leprose em citros através do ácaro predador *Euseius concordis* (Acari: Phytoseiidae). *Laranja*, Cordeirópolis, v. 9, n. 1, p. 125-146, 1988.

MATIELLO, J. B.; PAULINI, A. E.; LESSI, R. Ocorrência do ácaro plano *Brevipalpus phoenices* e Leprose em cafeeiros conilon, no Espírito Santo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 22., 1996, Águas de Lindóia. Resumos... Rio de Janeiro: MAA/PROCAFÉ/PNFC, 1996. p. 14.

OLIVEIRA, C. A. L. Flutuação populacional e medidas de controle do ácaro da leprose *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) em citrus. *Laranja*, Cordeirópolis, v. 1, n. 7, p. 1-32, 1986.

OMOTO, C.; ALVES, E. B.; RIBEIRO, P. C. Detecção e monitoramento da resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) ao dicofol. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Londrina, v. 29, n. 4, p. 757-764, dez. 2000.

PAPA, G. Ocorrência, sintomas e controle do ácaro da leprose, *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae), na cultura do café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 23., 1997, Manhuaçu. Resumos.... Rio de Janeiro: MAA/PROCAFÉ/PNFC, 1997. p. 231-233.

PAPA, G.; SANTOS, M. C.; NAKANO, O. Ação de alguns acaricidas sobre os inimigos naturais presentes em um pomar de citros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 13., 1991, Recife. Resumos... Recife: SEB, 1991. p. 306

REIS, P. R.; CHAGAS, S. J. R. Relação entre o ataque do ácaro-plano e da mancha-anular com indicadores da qualidade do café. *Ciênc. Agrotec.*, Lavras, v. 25, n. 1, p. 72-76, jan./fev., 2001.

REIS, P. R.; CHIAVEGATO, L. G.; MORAES, E. B.; SOUZA, E. O. Seletividade de agroquímicos ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Piracicaba, v. 27, n. 2, p. 265-274, jan. 1998.

REIS, P. R.; SOUSA, E. O. Seletividade de chlorfenapyr e fenbutatin-oxide sobre duas espécies de ácaros predadores (Acari: Phytoseiidae) em citros. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 584-588, dez. 2001.

REIS, P. R.; SOUSA, E. O.; ALVES, E. B. Seletividade de produtos fitossanitários ao ácaro predador *Euseius alatus* DeLeon (Acari: Phytoseiidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 3, p. 350-355, dez. 1999.

REIS, P. R.; SOUZA, J. C.; PEDRO NETO, M.; TEODORO, A. V. Flutuação populacional do ácaro da mancha-anular do cafeeiro e de seus inimigos naturais. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000, Poços de Caldas. **Resumos....** Poços de Caldas: PROCAFÉ, 2000a. p. 1210-1212.

SANTOS, A. C.; GRAVENA, S. Eficiência de diflubenzuron para o ácaro da falsa ferrugem *Phyllocoptruta oleivora* (Ash. ) (Acari: Eriphiyidae) e seletividade a *Pentilia egena* Muls. (Col. : Coccinellidae) e ácaros predadores. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Piracicaba, v. 24, n. 2, p. 345-351, ago. 1995.

SANTOS, A. C.; GRAVENA, S. Seletividade de acaricidas a insetos e ácaros predadores em citros. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Piracicaba, v. 26, n. 1, p. 99-105, abr. 1997.

SANTOS, A. C.; GRAVENA, S. Seletividade de acaricidas à *Pentilia egena* Muls. (Col. : Coccinellidae) e ácaros predadores (Acari: Phytoseiidae) em cultura de citros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14., 1993, Piracicaba. **Resumos....** Piracicaba: SEB, 1993. p. 591.

SATO, M. E.; RAGA, A.; CERAVOLO, L. C.; ROSSI, A. C.; CEZARIO, A. C. Efeito de acaricidas sobre *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) e ácaros predadores (Família Phytoseiidae) em citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 14, n. 2, p. 87-93, 1992.

SATO, M. E.; RAGA, A.; CERAVOLO, L. C.; ROSSI, A. C.; CEZARIO, A. C. Efeito da utilização de acaricidas em citros, sobre a população de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) e ácaros predadores (Família Phytoseiidae). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, n. 2, p. 282-286, maio/ago. 1995.

SILVA, L. M. Efeito de produtos químicos e do fungo *Hirsutella thompsoni* (Fisher, 1950) no ácaro da falsa ferrugem *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead, 1879) e no ácaro predador *Iphiseiodes quadripilis* (Banks, 1950) em citros. 1980. 74 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP.

TEIXEIRA, C. A.; AVILES, D. P.; RODRIGUES, V. G. S.; FERREIRA, M. G. Levantamento da ocorrência da leprose dos citros causada por *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) em Rondônia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14., 1993, Piracicaba, SP. Anais... Piracicaba: SEB, 1993. p. 717.

YAMAMOTO, P. T.; PINTO, A. S.; PAIVA, P. E. B.; GRAVENA, S. Seletividade de agrotóxicos aos inimigos naturais de pragas dos citros. *Laranja*, Cordeirópolis, v. 13, n. 2, p. 709-755, 1992.

## **Capítulo 4**

### **CONSTRUÇÃO E VALIDAÇÃO DE UMA ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DA MANCHA ANULAR DO CAFEIEIRO (CoRSV)**

## RESUMO

MORI, Arnaldi Eiki. **Construção e validação de uma escala diagramática para avaliação da severidade da mancha anular do cafeeiro.** Lavras: UFLA, 2003. p. 76-84 (Dissertação de Mestrado em Fitopatologia).

Foi desenvolvida e validada uma escala diagramática com a finalidade de auxiliar os estudos epidemiológicos sobre a mancha anular do cafeeiro, causada pelo *Coffee ringspot virus* (CoRSV). Para isso, foram coletadas 50 folhas em uma área naturalmente infectada pelo CoRSV, que tiveram suas áreas totais e lesionadas mensuradas, obtendo-se sua severidade real. Então, foram escolhidas sete folhas com severidades de 1%, 4%, 8%, 12%, 23%, 40% e 50%, levando-se em consideração a lei de acuidade visual de Weber-Fechner, que compuseram a escala diagramática elaborada. Seis avaliadores utilizaram esta escala para determinar a severidade de 50 folhas com diferentes sintomas. A precisão de cada avaliador foi determinada com a aplicação de regressão linear, tendo como variável independente a severidade real e como variável dependente a severidade estimada e a variância dos erros absolutos (severidade estimada menos severidade real). A escala permitiu avaliar a mancha anular do cafeeiro com boa precisão, levando em consideração que os avaliadores não tiveram treinamento antes das avaliações.

---

Comitê de orientação: Antonia dos Reis Figueira (orientadora); Edson Ampélio Pozza (co-orientador).

## ABSTRACT

MORI, Arnaldi Eiki. **Construction and validation of a diagrammatic ratio system for evaluation of the severity of ringspot disease caused by *Coffea ringspot virus* (CoRSV).** Lavras: UFLA, 2003. p. 76-84 (Dissertation – Master Program in Phytopathology).

In order to support epidemiological studies with *Coffea ringspot virus* (CoRSV), it was developed and validated a diagrammatic scale. From one infected coffee crop with CoRSV, 50 leaves were collected and their total and lesioned areas measured to determine the real severity. According to Weber-Fechner law, seven leaves with 1%, 4%, 8%, 12%, 23%, 40% e 50% of severity were used to elaborate the ratio system. Six evaluators were used to check that system in determining the severity of 50 leaves with symptoms. The precision of the evaluators was determined with statistic linear regression, having the real severity as independent variable and estimated severity as dependent variable. To evaluate the precision of estimatives were utilized the coefficient of determination ( $R^2$ ) and variance of absolut errors (estimated severity – real severity). The ratio system provided good precision to evaluate the CoRSV, considering that evaluators had no previous training in that field.

---

Guidance Committee: Antonia dos Reis Figueira (adviser); Edson Ampélio Pozza (co-adviser).

## 1. INTRODUÇÃO

Existe uma grande carência de informações a respeito da mancha anular do cafeeiro (MAC), principalmente em relação a sua epidemiologia. Para auxiliar estudos sobre a epidemiologia da MAC, há necessidade de desenvolver métodos padronizados para quantificar essa doença no campo. Para isto, as avaliações visuais de incidência e severidade são as mais utilizadas (Campbell e Madden, 1990).

Estudos no campo requerem métodos de quantificação de severidade rápidos, de fácil utilização, confiáveis, reproduzíveis, exatos e precisos (Berger, 1980). Escalas descritivas podem ser efetivas em situações que não necessitam de exatidão, porém com obtenção de número limitado de informações sobre estádios iniciais e finais de progresso da doença como, por exemplo, com uso de escalas com intervalos pouco definidos ou de grande amplitude de valores (nível 3 = 20 a 40% de área foliar lesionada). A estimativa direta da área foliar lesionada pode apresentar alta subjetividade, com risco de baixa precisão e/ou exatidão, além de baixa reprodutibilidade, principalmente com avaliadores inexperientes (Michereff, 1998). Neste contexto, o uso de escala diagramática na avaliação da MAC, em estudos de campo, pode ser de grande auxílio.

A nota atribuída por avaliadores pode variar muito ao estimar a severidade de doença (Amorim et al., 1993; Godoy et al., 1997 e Sherwood et al., 1983). Para comparar a precisão e a exatidão dos avaliadores, um dos métodos mais adequados é utilizar os estimadores e a regressão linear simples (Kranz, 1988 e Nutter Jr e Schultz, 1995).

O presente estudo teve por objetivo desenvolver e validar uma escala diagramática para avaliação da severidade da MAC a fim de auxiliar estudos futuros sobre a epidemiologia desta doença.



## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Elaboração da escala e determinação dos níveis de severidade

Foram coletadas várias folhas de cafeeiros aleatoriamente, de uma área naturalmente infestada pelo ácaro vetor da mancha anular do cafeeiro, *Brevipalpus phoenicis*, e estas foram infectadas com o CoRSV. Estes cafeeiros eram da cultivar Catuaí com oito anos de idade. Destas, foram separadas 100 folhas com sintomas típicos da mancha anular do cafeeiro, que foram fotografadas em câmera digital e desenhadas em papel plástico, destacando-se, assim, melhor os sintomas. Estes desenhos foram copiados em “scanner” e, com auxílio do programa ‘IT version 2.0 – UTHSCSA Image tool’, foram determinadas a área total e a lesionada pelo vírus, obtendo-se, assim, a severidade real da doença em cada folha. Uma vez conhecida a severidade real das folhas, elaborou-se uma escala com sete níveis de severidade: 1, 4, 8, 12, 23, 40 e 50% de área lesionada. Estes níveis foram escolhidos tomando-se como base o nível mínimo e o máximo encontrados, e os níveis intermediários, levando-se em consideração a lei de acuidade visual de Weber-Fechner (Campbell & Madden, 1990).

Para avaliar a escala, seis estudantes mensuraram a severidade de 50 folhas com diferentes sintomas e níveis de severidade da mancha anular do cafeeiro. Com a aplicação de regressão linear, foi determinada a precisão de cada avaliador, tendo como variável independente a severidade real e como dependente, a severidade estimada. Para avaliar a precisão das estimativas foram utilizados o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e a variância dos erros absolutos (severidade estimada – severidade real).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Escala diagramática

Os níveis de severidade mínimo e máximo utilizados na elaboração da escala foram de 1% e 50%. Levando em consideração a lei de Weber-Fechner, os níveis intermediários foram de 4%, 8%, 12%, 23%, 40%. A precisão, definida como o rigor ou refinamento na medida (Bergamin Filho e Amorin, 1996), pode ser avaliada pelo coeficiente de determinação da regressão, que deve ser próximo de 100%, e pela variação dos erros absolutos (diferenças entre severidade estimada e real). Foi obtida boa precisão pela maioria dos avaliadores. Os  $R^2$  variaram de 0,69 a 0,87 (tabela 1), podendo-se relacionar suas estimativas com a severidade real. Os avaliadores 1, 4, 5 e 6 obtiveram a melhor precisão ( $R^2$  de 0,83 a 0,87).

Os avaliadores 4, 5 e 6 apresentaram tendência de superestimar a severidade da mancha anular do cafeeiro nas folhas (Figura 7). A maioria das folhas tiveram severidade entre 10 a 20%, sendo, portanto, a faixa em que se concentraram os maiores desvios. Os erros absolutos (Figura 8) geralmente se concentraram numa faixa de até 10%, sendo que o avaliador 4 obteve os maiores desvios. A maioria dos avaliadores (1, 2, 3 e 6) obtiveram ótima precisão para as poucas folhas com severidades maiores, entre 30 e 50% (Figura 8). O avaliador 5 também obteve ótima precisão, com exceção da maior severidade (50%), e seu erro foi de 20%. Já o avaliador 4 não obteve boa precisão quando avaliou as folhas com 39 e 50% de severidade, com erros maiores que 20%. Segundo Nutter (1997), o avaliador pode ser considerado excelente quando o erro de suas estimativas está no intervalo de +- 5% do valor real e bom quando suas

estimativas não passam de +- 10%. Deste modo, o resultado deste trabalho pode ser considerado, de modo geral, entre bom e excelente.

A reprodutibilidade das estimativas entre os avaliadores, combinados em pares, também pode ser usada como indicativo de precisão de um método de avaliação de doenças (Nutter & Schultz, 1995), e foi avaliada (Figura 9) pela comparação entre as estimativas do avaliador 1 e dos demais, obtendo-se níveis relativamente altos de correlação ( $R^2=0,81$  a  $0,83$ ), exceto para os avaliadores 2 e 3 ( $R^2=0,73$  e  $0,69$ ). Deste modo, 83% da variação das avaliações do estimador 4 puderam ser explicadas pela severidade estimada do avaliador 1, 81% do estimador 5 e 86% do estimador 6. Para os avaliadores 2 e 3, apenas 73% e 69%, respectivamente, da variação destes estimadores são explicados pelas estimativas do avaliador 1. Deste modo, os resultados de leitura dos diferentes avaliadores podem ser comparados entre si, garantindo a reprodutibilidade das avaliações com o uso desta escala diagramática.

Estes resultados podem ser considerados bons devido ao fato de os avaliadores não realizarem treinamento com a escala antes das avaliações. Portanto, a referida escala permite avaliar a mancha anular do cafeeiro com boa precisão.

**Tabela 1:** Coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>), coeficientes lineares (a) e coeficientes angulares (b) das regressões entre severidade real (variável independente) e severidade estimada (variável dependente) de cada avaliador.

Coeficientes	Avaliadores					
	1	2	3	4	5	6
R <sup>2</sup>	0,87	0,74	0,69	0,83	0,84	0,84
a	0,96	0,85	0,84	1,34	1,13	0,97
b	2,15	0,52	3,06	0,98	1,31	2,01



1%



4%



8%



15%



23%



40%



50%

Figura 1. Escala diagramática (porcentagem de área foliar) para avaliação da mancha anular causada pelo *Coffee ringspot virus* (CoRSV).

#### **4. CONCLUSÃO**

- 1. A escala desenvolvida e utilizada permite boa avaliação da severidade da mancha anular nas folhas do cafeeiro.**

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; PALAZZO, D. A. Clorose variegada dos citros: uma escala diagramática para avaliação da severidade da doença. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 18, n. 2, p. 174-180, 1993.

BERGAMIN FILHO, A., AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1996, 299 p.

BERGER, R. D. Measuring disease intensity. In: TENG, P. S.; KRUPA, S. V. (Ed.). **Crop loss assessment which constrains production and crop improvement in agriculture and forestry**. St. Paul: University of Minnesota, 1980. p. 28-31. (Agricultural Experiment Station – University of Minnesota. Miscellaneous Publication, 7).

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

GODOY, C. V.; CARNEIRO, M. T. P. G.; IAMAUTI, T. Diagramatic scales for bean diseases: Development and validation. *Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, Stuttgart, v. 104, n. 4, p. 336-345, 1997.

KRANZ, J. Measuring plant disease. In: KRANZ, J.; ROTEM, J. (Ed.). **Experimental techniques in plant disease epidemiology**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1988. p. 35-50.

MICHEREFF, S. J. **Queima das folhas do inhame: quantificação, levantamento da intensidade e dinâmica espaço-temporal**. 1998. 91 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

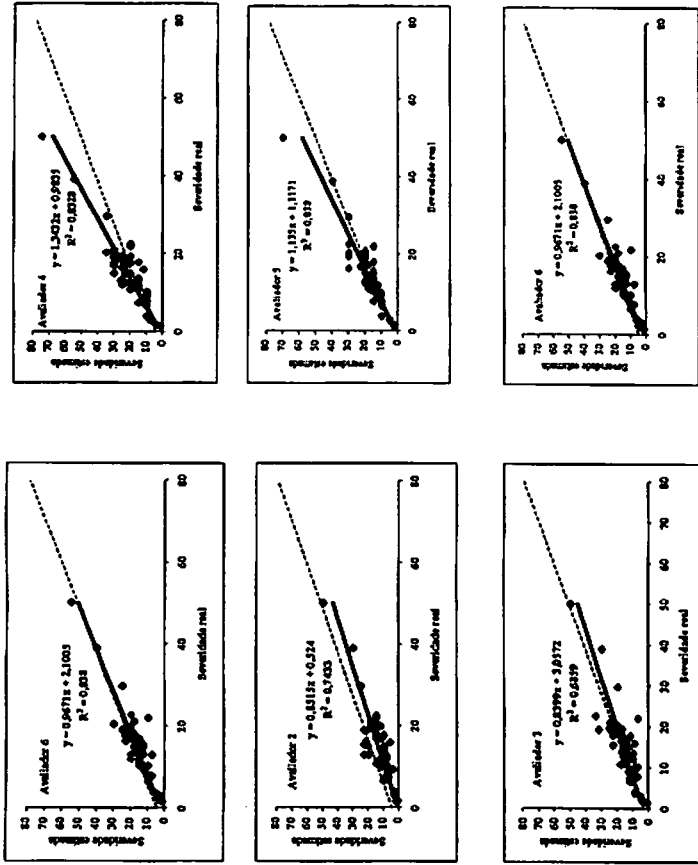
NUTTER, JR., F. W. Disease severity assessment training. In: FRANCL, L. J.; NEHER, D. A. (Ed.). **Exercises in plant disease epidemiology**. St. Paul: APS Press, 1997. p. 1-7.

**NUTTER JR., F. W.; SCHULTZ, P. M. Improving the accuracy and precision of disease assessments: Selection of methods and use of computer-aided training programs. *Canadian Journal of Plant Pathology*, Guelph, v. 17, n. 1, p. 174-178, 1995.**

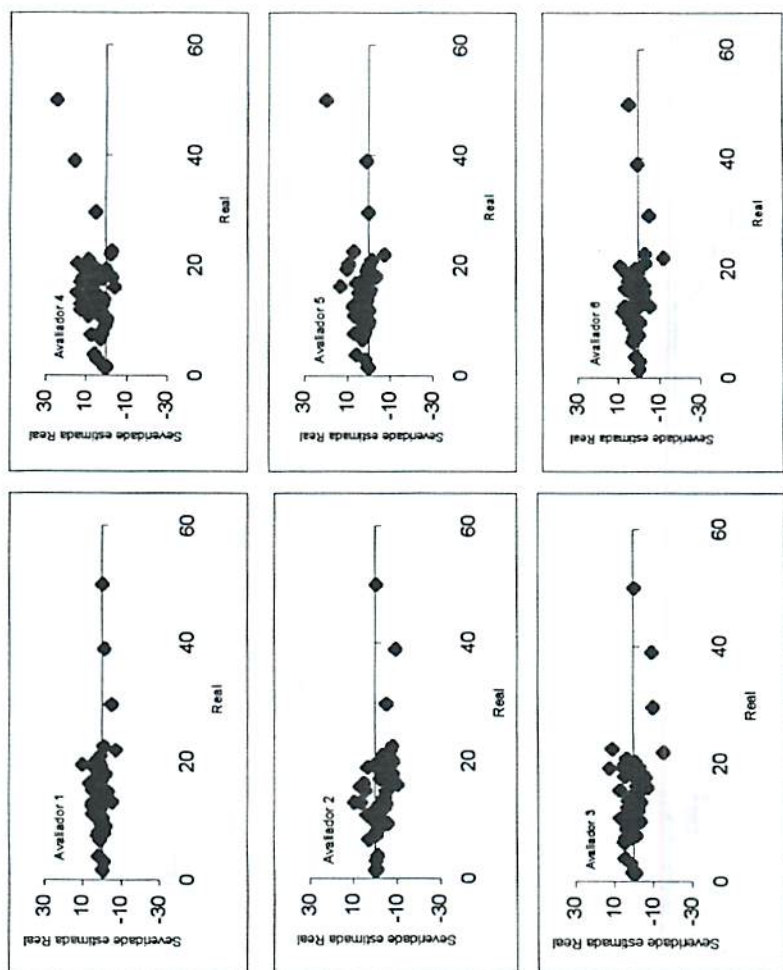
**SHERWOOD, R. T.; BERG, C. C.; HOOVER, M. R. Illusions in visual assessment of *Stagonospora* leaf spot of orchardgrass. *Phytopathology*, St. Paul, v. 73, n. 2, p. 173-177, 1983.**



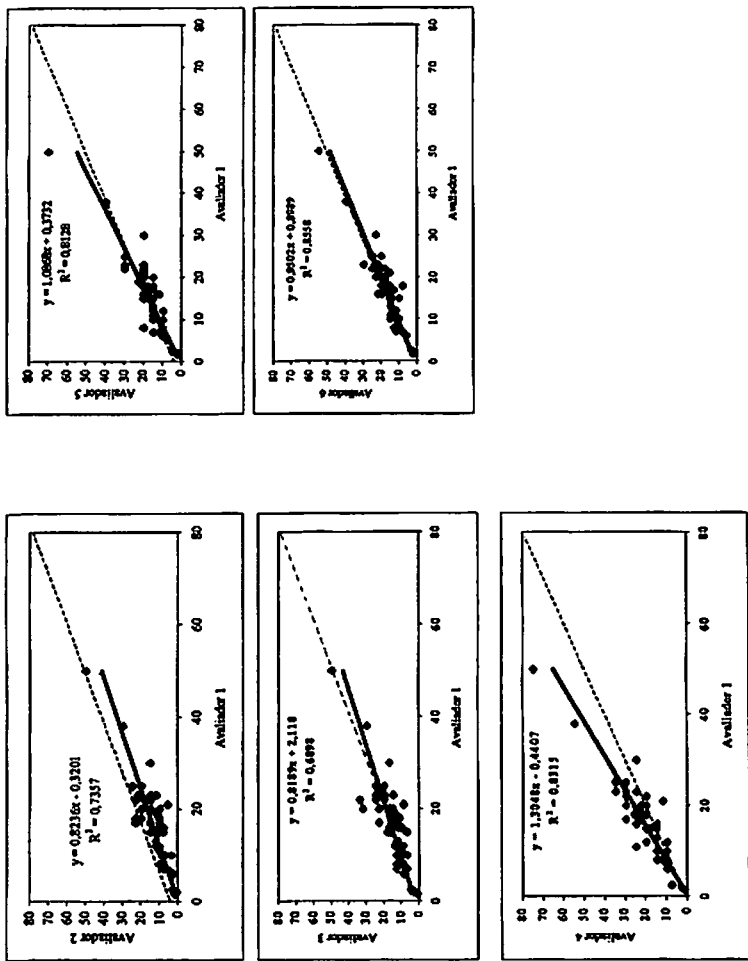
## ANEXOS



**Figura 7** – Severidade estimada com uso da escala diagramática (círculos cheios) e linhas de regressão obtidas entre severidades reais e estimadas (linhas cheias). As linhas tracejadas correspondem às estimativas idênticas ao real.



**Figura 8 – Erros absolutos (Severidade estimada – Severidade real) dos avaliadores**



**Figura 9** – Severidades estimadas do avaliador 1 comparadas com os demais avaliadores. Linhas cheias representam linhas de regressão obtidas entre severidade estimada pelo avaliador 1 e demais avaliadores e as tracejadas indicam estimativas idênticas de ambos os avaliadores.