

Trapoeiraba (*Commelina benghalensis* L.) como fonte de inóculo do vírus da leprose dos citros

Maria Andréia Nunes^{1*}; Paulo Lameiro¹; Renata Faier Calegario²; Marcela P. Bergamini¹; Luciane Fender Coerini¹; Elliot W. Kitajima²; Marinês Bastianel¹; Valdenice Moreira Novelli¹ & Juliana Freitas-Astúa^{1,3}

RESUMO

A leprose dos citros, relatada no Brasil desde a década de 1930, é uma das doenças mais importantes da cultura no país devido à sua ampla disseminação e ao alto custo para o controle químico do ácaro vetor *Brevipalpus phoenicis*. O agente causal da doença é o *Citrus leprosis virus C* (CiLV-C), que na planta de citros induz sintomas localizados de manchas anelares cloróticas ou necróticas nas folhas, frutos e ramos, além de descamação intensa nos ramos. Fontes de inóculo no campo são essenciais para a disseminação da doença, uma vez que sua transmissão não se dá por enxertia, mas exclusivamente pelo ácaro vetor. Experimentalmente foi relatada a transmissão do CiLV-C para plantas não cítricas, o que levantou a possibilidade de plantas espontâneas em pomares serem suscetíveis ao vírus e participarem da epidemiologia da leprose. Neste trabalho, foram caracterizados os sintomas de leprose em trapoeiraba (*Commelina benghalensis*), uma planta infestante comum em pomares de citros, infectadas naturalmente e experimentalmente pelo CiLV-C. Foram verificadas lesões pontuais necróticas, sendo que em casa de vegetação as lesões chegaram a produzir halos cloróticos e necrose de ramos. A presença do CiLV-C nos tecidos das lesões foi confirmada por RT-PCR e imunofluorescência.

Termos de indexação: fitossanidade, manejo de doenças, *Citrus leprosis virus C*, ácaro da leprose.

SUMMARY

Tropical spiderwort (*Commelina benghalensis* L.) as source of inoculum for *Citrus leprosis virus C*

Leprosis is known in Brazil since the 1930's and it is one of the most important citrus diseases in the country due to its wide dissemination and the high cost of the chemical control of the mite vector *Brevipalpus phoenicis*. The disease is caused by *Citrus leprosis virus C* (CiLV-C), which induces typical symptoms characterized by localized necrotic or chlorotic lesions in leaves, fruits and stems, and intense bark scaling. The presence of sources of inoculum in the field is very important for disease dissemination because the virus is not graft-transmitted and its transmission depends solely on the mite vector. Experimental transmission of CiLV-C to several non-citrus hosts has been demonstrated, raising the hypothesis that plants

¹ Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC, CP4, 13490-970, Cordeirópolis, SP

* Autor para correspondência - e-mail: andreia@centrodecitricultura.br

² ESALQ/USP, Piracicaba, SP

³ Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA

growing within or nearby citrus orchards may be susceptible to the virus and play a role in the epidemiology of the disease. Here, we report the characterization of leprosis symptoms in tropical spiderwort (*Commelina benghalensis*), a weed commonly found in citrus groves, naturally and experimentally infected with CiLV-C. As a common feature, we identified necrotic spots on infected leaves, and green ringspots in greenhouse infected plants. RT-PCR using specific primers for CiLV-C and immunofluorescence of the lesion tissues consistently detected the presence of the virus.

Index terms: phytopathology, disease management, *Citrus leprosis virus C*, false spider mites.

INTRODUÇÃO

A leprose dos citros está presente em vários países da América (Bastianel et al., 2010). No Brasil, é uma das viroses mais importantes dos citros e todos os anos milhões de dólares são gastos com acaricidas para o controle do ácaro vetor (Dragone et al., 2003), *Brevipalpus phoenicis* Geijkes (Acari:Tenuipalpidae), que é polífago e cosmopolita (Childers et al., 2003). Na transmissão do CiLV-C, a relação vírus-vetor é do tipo circulativa não propagativa (Kitajima et al., 2008) e não há transmissão transovariana (Novelli et al., 2007).

Existem dois tipos de vírus da leprose, sendo o *Citrus leprosis virus C* (CiLV-C) mais comum e pertencente ao gênero *Cilevirus* (Locali-Fabris et al., 2006, 2012). Este vírus apresenta morfologia baciliforme, partículas curtas, presentes na cisterna do retículo endoplasmático, e induz a formação de inclusões vacuoladas, denominadas viroplasmas no citoplasma de células infectadas (Kitajima et al., 2003). Seu genoma encontra-se completamente sequenciado e mostrou-se bipartido com dois segmentos de fitas simples de RNA (ssRNA) de sentido positivo (Locali-Fabris et al., 2006; Pascon et al., 2006).

O segundo tipo, *Citrus leprosis virus nuclear type* (CiLV-N), provavelmente pertence ao gênero *Dichorhabdovirus*, recentemente proposto como novo gênero da família *Rhabdoviridae*, do qual o *Orchid fleck virus* é o membro-tipo (Kondo et al., 2003). Ele é caracterizado por partículas curtas baciliformes presentes no núcleo e no citoplasma e a formação de viroplasmas no núcleo de células infectadas. É de ocorrência rara e, além do Brasil, foi relatado no Panamá (Kitajima et al., 1972; Dominguez et al., 2001). Há evidências de que a leprose relatada na Flórida até a década de 1960 tenha sido do tipo nuclear (Kitajima et al., 2011).

Sintomas de leprose se caracterizam por lesões localizadas em folhas, ramos e frutos, resultante da inoculação do vírus nos pontos de alimentação dos ácaros. Nos frutos de laranja, as lesões típicas são manchas anelares cloróticas ou necróticas, com diâmetros de 5 a 12 mm dependendo do período de desenvolvimento das mesmas após a infecção. As lesões próximas ao pedúnculo geralmente acarretam a queda do fruto. Nas folhas, as manchas são anelares, cloróticas ou necróticas, com pontos centrais muitas vezes mais escurecidos. Em infecções severas ocorre desfolha. Nos ramos as lesões também acarretam manchas anelares inicialmente cloróticas que, posteriormente, evoluem para necrose e descamação intensa. Em caso de infecção mais severa as lesões dos ramos coalescem, matando o ramo por anelamento. Em casos extremos, pode ocorrer a morte da planta (Bastianel et al., 2010).

Há registros de aproximadamente 500 plantas hospedeiras de *B. phoenicis*, sendo que pelo menos 50 delas são de ocorrência espontânea nos pomares de citros (Nunes, 2007). Plantas de trapoeraba (*Commelina benghalensis*) foram relatadas naturalmente infectadas por CiLV-C em pomares cítricos por Nunes et al. (2012a). Neste trabalho, foram caracterizados os sintomas de CiLV-C nessas hospedeiras infectadas naturalmente ou experimentalmente em casa-de-vegetação, com o intuito de auxiliar nas inspeções de campo e possibilitar a eliminação das plantas que possam servir como reservatórios de inóculo viral nos pomares.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de trapoeraba com folhas apresentando sintomas de lesões cloróticas foram coletadas entre os meses de junho de 2010 e janeiro de 2011, em um pomar de laranja doce variedade Westin conduzido em

sistema orgânico em Borborema-SP e em um pomar doméstico de laranja Pêra em São José do Rio Preto-SP. Os ácaros presentes nas folhas foram retirados e montados em lâminas contendo meio de Hoyer de acordo com Moraes & Flechtmann (2008), e identificados de acordo com Pritchard & Baker (1958) e Welbourn et al. (2003).

Após a remoção de todos os ácaros, as folhas foram lavadas, secas e fotografadas. A detecção do CiLV-C no material vegetal foi realizada através da transcriptase reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) com *primers* específicos para o vírus. Para isso, aproximadamente 0,1g das folhas foi macerado em nitrogênio líquido até a consistência de pó, seguido pela extração de RNA total do material de acordo com o método CTAB (Gibbs & Mackenzie, 1997; Locali et al., 2003). A síntese de cDNA foi realizada seguindo o protocolo padrão, utilizando 4 µL de tampão 5X, 2 µL de DTT 2 mM, 1 µL de transcriptase reversa (M-MLV-RT), 1 µL de 2,5 mM dNTP, 1 µL *primers* randômicos, 0,5 µL de inibidor de RNase (Life Technologies), 3 µL de RNA total e 7,5 µL de H₂O DEPC tratada, e incubada a 37°C por 90 minutos.

A PCR foi realizada usando *primers* específicos para a região putativa do gene codificador da proteína de movimento (MP) do CiLV-C, que amplificam fragmentos com 344 pb, conforme descrito por Locali et al. (2003). A PCR consistiu na utilização de tampão 10X com 2,5 mM de MgCl₂, 10 mM dNTP mix, 1 U de Taq DNA Polymerase (Life Technologies), 3 µL de cDNA, ajustada para volume final de 25 µL com H₂O MilliQ purificada. A reação consistiu de um ciclo de 94°C por 3 minutos, seguido de 30 ciclos de 94°C por 30 segundos, 56°C por 30 segundos e 72°C por 40 segundos, com extensão final de 72°C por 5 minutos. Os fragmentos amplificados foram visualizados sob luz UV em gel de agarose 1%, preparado em TAE (0,04 M Tris-acetato; 0,001M EDTA), contendo 0,5 mg/mL de brometo de etídio.

Os produtos resultantes da RT-PCR foram clonados e transformados em *Escherichia coli* DH5α de acordo com os procedimentos padrões. Clones recombinantes foram sequenciados no ABI Prism 3700 DNA (Applied Biosystems, Foster City, CA).

As sequências consenso de cada amplicon foram montadas utilizando-se o programa CLC Genomics Workbench 4.5, utilizando os algoritmos BLASTX e

BLASTN para confirmar a identidade das sequências. Estas sequências foram depositadas no banco de dados GenBank (www.blast.ncbi.nlm.nih.gov) sob os números de acesso JQ 944802 para amostra coletada em Borborema e JQ 944803 para amostra de São José do Rio Preto.

Para caracterizar os sintomas decorrentes de infecção pelo CiLV-C, cinco mudas de trapoeiraba foram plantadas em vasos através de propagação vegetativa de ramos assintomáticos, e mantidas em casa de vegetação. Estas plantas foram infestadas com 30 ácaros *B. phoenicis*, procedentes da criação-estoque virulífera, mantidas sobre frutos de laranja Valencia com lesões de leprose. Após o aparecimento de sintomas as plantas foram fotografadas e as folhas e ramos foram destacados e lavados. Este material foi analisado por RT-PCR, nas mesmas condições descritas anteriormente, e por imunofluorescência para confirmação da presença do CiLV-C. Para a realização dessa técnica foram utilizados anticorpos policlonais fluorescentes conjugados a proteína p29, putativa capa proteica do vírus (Calegario et al., 2010). Para tal, pequenos fragmentos das lesões lepróticas foram fixados em solução Karnovsky, desidratados em etanol, emblocados em resina LR White, cortados em secções semi-finas com cerca de 1 micrômetro, incubados em anticorpo policlonal contra a proteína capsidial do CiLV-C (p29) conjugada com FITC e observados em microscópio de epifluorescência, seguindo a metodologia descrita por Calegario et al. (2010). Plantas de trapoeiraba infestadas com ácaros avirulíferos serviram como controle negativo da técnica.

RESULTADOS

Nos pomares amostrados foram encontradas plantas de trapoeiraba, inclusive nos meses mais secos do ano, geralmente ocorrendo em posição muito próxima às plantas de laranja, nas regiões sombreadas da copa (Figura 1a). Em pelo menos duas coletas, de um total de oito realizadas, foram detectadas plantas de trapoeiraba infestadas por ovos, larvas, ninfas e fêmeas adultas de ácaros identificados como *Brevipalpus phoenicis*, que se concentraram na face abaxial das folhas. Além da presença do ácaro vetor, as folhas de trapoeiraba apresentavam sintomas típicos de vírus transmitidos por *Brevipalpus* (VTB), caracterizados por pontuações necróticas com halos cloróticos (Figura 1b). Três amostras de plantas provenientes da cidade de

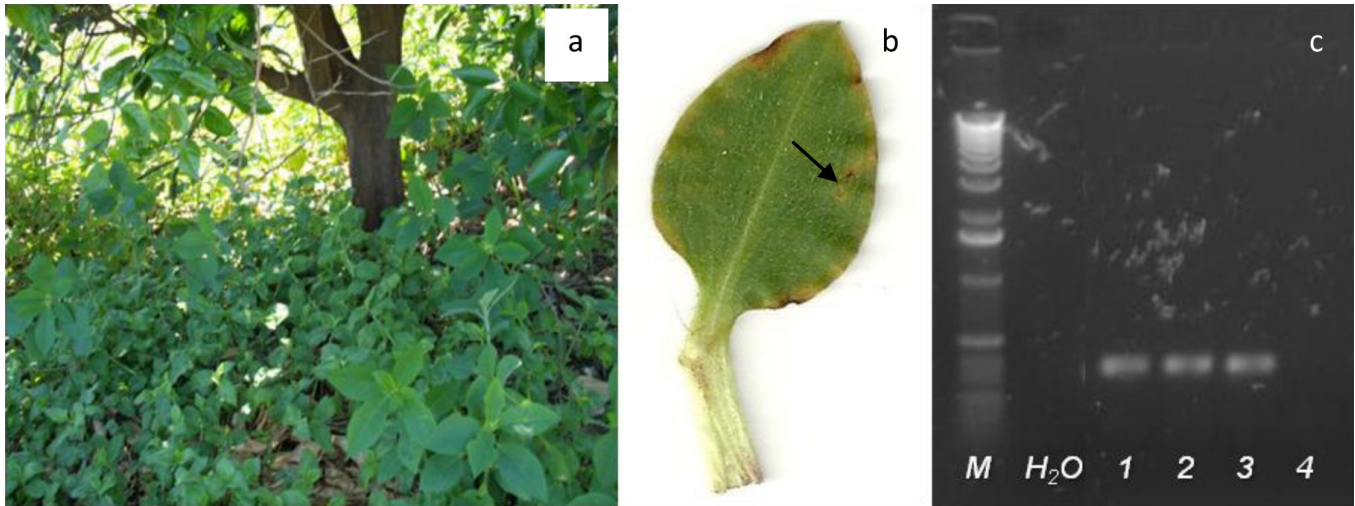


Figura 1. a. Aspecto de pomar de citros com plantas de ocorrência espontânea de *Commelina benghalensis*. b. Detalhe dos sintomas nas folhas, manchas necróticas com halos cloróticos. c. Imagem de eletroforese em gel de agarose a 1% de RT-PCR: M = ladder 1-kb (Invitrogen); H₂O = controle da reação PCR; 1, 2 e 3= amostras de trapoeraba positivas para CiLV-C; 4= controle negativo de *C. benghalensis*.

Borborema-SP, coletadas em dezembro de 2010, e uma de São José do Rio Preto, SP, coletada em janeiro de 2011, foram positivas para a presença do CiLV-C após análise por RT-PCR (Figura 1 c).

Os fragmentos amplificados com 344pb a partir do RNA total extraído das amostras coletadas em Borborema e em São José do Rio Preto foram clonados e sequenciados. As sequências de nucleotídeos apresentaram 100% de similaridade com as sequências correspondentes do genoma do CiLV-C já depositadas no Genbank.

Em casa de vegetação, 17 dias após a infestação com ácaros virulíferos, as plantas de trapoeraba apresentaram sintomas em folhas e ramos. Nos ramos foram observadas manchas necróticas e nas folhas pontuações necróticas com halos cloróticos nos tecidos verdes e manchas anelares verdes em tecidos senescentes. O vírus foi detectado por RT-PCR nas plantas inoculadas (Figuras 2a, b, c, d, e); já em plantas infestadas com ácaros avirulíferos não se observou o aparecimento de sintomas e tampouco o vírus foi detectado.

Constatou-se a presença de viroplasmas fluorescentes no citoplasma de células dos parênquimas paliçádico e lacunoso, tanto em lesões esverdeadas e novas (Figura 2d) quanto em lesões mais velhas e necróticas (Figura 2c), idênticas às observações realizadas em laranjeiras e tangerineiras infectadas (Calegario et al.,

2010). No entanto, o número de corpúsculos marcados em lesões cloróticas foi mais intenso do que em lesões necróticas (Figuras 2f, g, h). Viroplasmas estavam ausentes em tecidos de folhas sadias (Figura 2g).

DISCUSSÃO

Plantas de trapoeraba ocorrem em praticamente todo o mundo, sendo esta espécie considerada semiperene nas regiões tropicais e subtropicais e de ocorrência anual em regiões temperadas. É encontrada espontaneamente em meio às plantações de 25 culturas em 28 países e, em muitas destas culturas, é considerada uma das plantas mais difíceis de controlar (Wilson 1981; Holm et al., 1997; Prostko et al., 2004; Webster 2005; Price et al., 2009). No Brasil, a trapoeraba é infestante em plantações de algodão, milho e café, além de citros (Rocha et al., 2000). *C. benghalensis* também é hospedeira de diversos vírus como *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Tobacco streak virus* (TSV), *Aneleima virus* (AV) e *Turnip mosaic virus* (TuMV) (Baker et al., 1988; Chivasa et al., 2001).

Maia & Oliveira (2005) haviam relatado que plantas de trapoeraba seriam hospedeiras do vírus da leprose. Neste trabalho, os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e se basearam na observação de sintomas típicos de leprose em plantas de trapo-

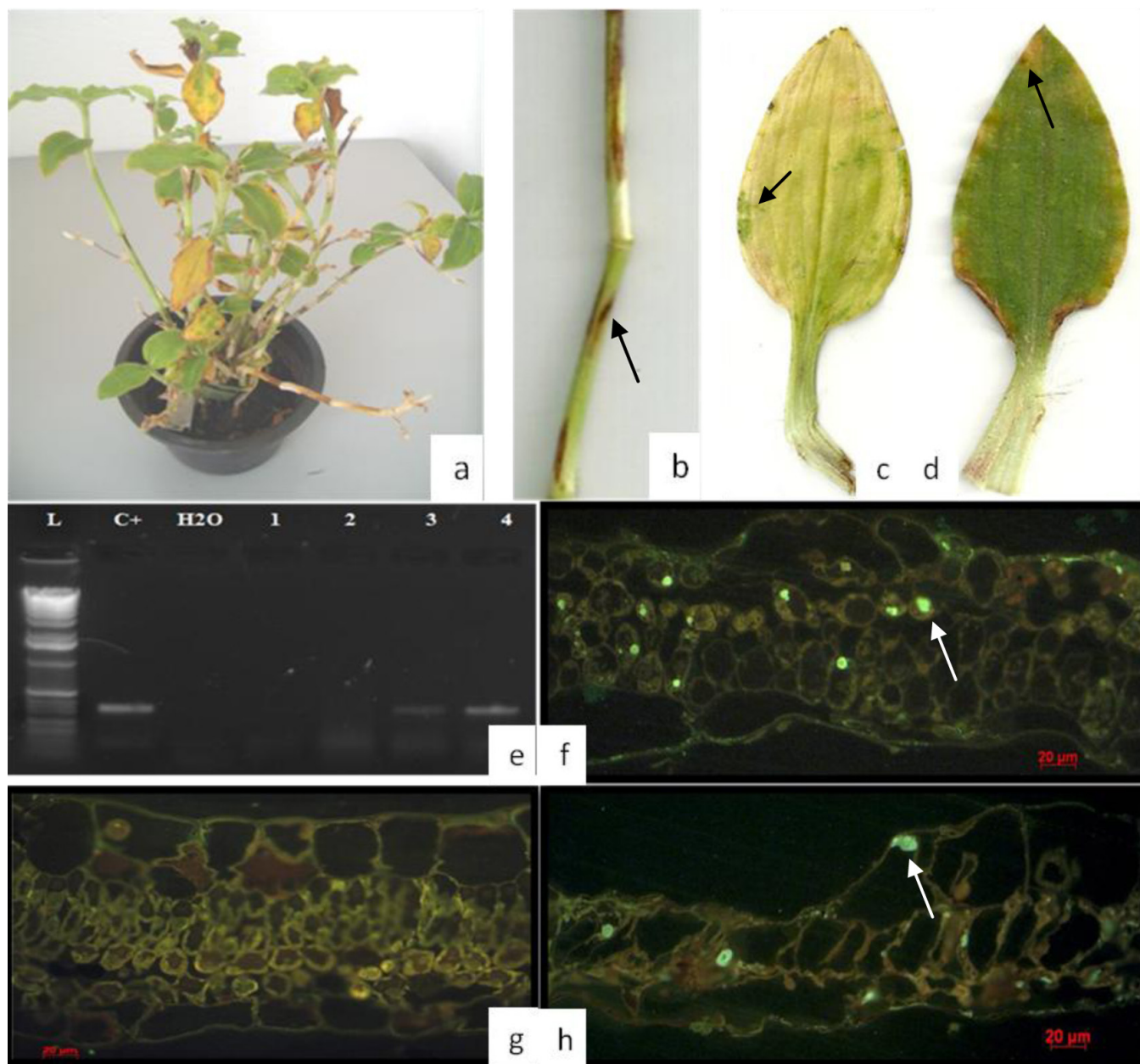


Figura 2. **a.** Sintomas da presença de CiLV-C em planta de trapoeraba (*C. benghalensis*) mantida em casa de vegetação, após infestação por ácaros virulíferos. **b.** manchas necróticas em ramos. **c.** manchas verdes com pontos necróticos em folha senescente. **d.** manchas cloróticas em folhas verdes. **e.** Gel de agarose (1%) evidenciando produto de RT-PCR: L = ladder 1-kb (Invitrogen), C+ = controle positivo (cítricos infectado por CiLV-C); H₂O = controle da reação; **1** e **2** = controles negativos da reação (planta sadia de trapoeraba); **3** = amostra de folhas de trapoeraba com lesões necróticas; e **4** = amostra de folhas de trapoeraba com lesões cloróticas. Secções transversais de folhas de trapoeraba observadas ao microscópio epifluorescente, após tratamento com anticorpo contra proteína p29 (putativa capa proteica) do CiLV-C, conjugado com FITC. **f.** lesão esverdeada (folha infectada), **g.** (folha sadia) e **h.** lesão necrótica (folha infectada).

eraba infestadas com ácaros virulíferos. Os resultados apresentados pelo presente trabalho confirmaram esta possibilidade.

A observação do CiLV-C naturalmente infectando *C. benghalensis*, uma monocotiledônea, é um achado singular (Nunes et al., 2012a). Os sintomas, no entanto, mostraram-se diferentes daqueles causados em citros, embora mesmo em citros haja relatos de sintomas atípicos (Freitas-Astúa et al., 2009; Bastianel et al., 2010). Enquanto nas folhas e frutos de laranja doce as lesões são comumente anelares, em trapoeraba elas são menores, muitas vezes pontuais e difíceis de serem percebidas. Tais diferenças alertam para a hipótese da existência de uma gama mais ampla de hospedeiras nos pomares, uma vez que lesões pontuais podem ser confundidas com outras doenças ou ainda com senescência natural das bordas das folhas.

A gama de hospedeiras experimentais do vírus vem aumentando nos últimos anos. Ensaio de transmissão por inoculação mecânica em condições de casa de vegetação demonstraram que muitas espécies de plantas fora do gênero *Citrus* são suscetíveis ao CiLV-C, podendo-se citar: *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn.; *C. quinoa* Willd e *Gomphrena globosa* L.- Amaranthaceae (Colariccio et al., 1995) e também por infestação com ácaros virulíferos: *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., *Cardamine bonariensis* Pers.-Brassicaceae; *Bixa orellana* L. – Bixaceae; *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. – Apocynaceae; *Datura stramonium* L., *Nicotiana benthamiana* Domin., *S. glutinosa* L., *Solanum lycopersicum* L., *S. melogena* L., *S. nigrum* L., *S. violaeifolium* Schott – Solanaceae; *Galinsoga quadriradiata* Ruiz & Pav. – Asteraceae; *Gomphrena globosa* L. – Amaranthaceae; *Grevilea robusta* A. Cunn. – Proteaceae; *Hibiscus rosasinensis* L., *Malvaviscus arboreus* Cav. - Malvaceae; *Passiflora morifolia* Mast. – Passifloraceae; *Phaseolus vulgaris* L. - Fabaceae; *Portulaca oleracea* L. - Portulacaceae; *Tegraronia expansa* Murr. - Aizoaceae; *Viola x wittcockiana* – Violaceae; *Zinnia elegans* Jacq. – Asteraceae (Rodrigues et al., 2005; Groot et al., 2006; Kubo et al., 2010; Garita-Salazar et al., 2012; Nunes et al., 2012b).

O primeiro relato de infecção natural do CiLV-C em hospedeira fora do gênero *Citrus* foi na Colômbia, em plantas de *Swinglea glutinosa*, uma rutácea usada como cerca-viva em pomares de laranja doce (Léon et

al., 2008). Recentemente, Nunes et al. (2012a) relataram a ocorrência de trapoerabas naturalmente infectadas pelo vírus em pomares de citros no Brasil.

Além disso, os registros de leprose em sua hospedeira preferencial têm aumentado nos últimos dez anos, se disseminando para o norte do continente americano através de países como Bolívia, Colômbia, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicarágua, Panamá, e México (Gómez et al., 2005; Léon et al., 2006; Bastianel et al., 2010; Castilho et al., 2011). Com exceção das laranjeiras, não se sabe a real contribuição de outras plantas hospedeiras naturais do vírus nesta disseminação. Plantas de trapoeraba têm sido relatadas em diversos estados do Brasil como planta frequente em pomares cítricos (Rocha e al., 2000), as quais poderiam estar atuando como reservatórios naturais do CiLV-C em pomares de laranja no país ou até mesmo em outros países produtores de citros. Tal hipótese torna ainda mais complexa a tarefa dos centros quarentenários. Apesar de o papel desta hospedeira alternativa na dispersão e no estabelecimento da leprose nos pomares ainda ser desconhecido, este trabalho evidencia que a presença de trapoeraba nos pomares deve ser considerada no manejo da leprose, uma vez que ela pode representar uma fonte alternativa de inóculo do vírus e reservatório do ácaro vetor.

AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi financiada pela FAPESP, EMBRAPA e CNPq.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baker CA & Zettler FW (1988) Viruses infecting wild and cultivated species of the Commelinaceae. *Plant Disease* 72: 513-518.
- Bastianel M, Novelli VM, Kubo KS, Kitajima EW, Bassanezi R, Machado MA & Freitas-Astúa J (2010) Citrus Leprosis: Centennial of an unusual mite-virus pathosystem. *Plant Disease* 94: 284-292.
- Calegario RF, Kitajima EW, Salaroli RB, Rezende JAM & Locali-Fabris EC (2010) Immunofluorescence studies on the distribution of Citrus leprosis virus (CiLV-C) antigen leaf lesions. *Citrus Research & Technology* 31(3): 55.

- Castillo II, Diaz FD, Mendez W, Otero-Colina G, Freitas-Astúa J, Locali-Fabris EC, de Moraes GA, Calegario RF, Tassi AD & Kitajima EW (2011) Confirmation of the presence of the Citrus leprosis virus C (CiLV-C) in Southern Mexico. *Tropical Plant Pathology* 36: (6) 400-403.
- Childers CC, Rodrigues JCV & Welbourn WC (2003) Host plants of *Brevipalpus californicus* B. *obovatus* and *B. phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) and their potencial involvement in the spread of viral diseases vectored by these mites. *Experimental and Applied Acarology* 30: 29-105.
- Chivasa S, Ekpo EJA & Hicks RGT (2001) New hosts of *Turnip mosaic virus* in Zimbabwe. *New Disease Reports* 4: 5.
- Colariccio A, Lovisollo O, Chagas CM, Galletti SR, Rossetti V & Kitajima EW (1995) Mechanical transmission and ultrastructural aspects of citrus leprosis disease. *Fitopatologia Brasileira* 20: 208-213.
- Dominguez FS, Bernal A, Childers CC & Kitajima EW (2001) First report of citrus leprosis on Panama. *Plant Disease* 85(2): 228.
- Dragone D, Rodrigues JCV, Neves EM & Nogueira NL (2003) Viabilidade econômica do controle da leprose em variedades de laranja e lima da pérsia. *Laranja* 24(2): 311-327.
- Freitas-Astúa J, Fadel AL, Antonioli-Luizon R, Bastianel M, Novelli VM, Kitajima EW & Machado MA (2009). The remote citroid fruit tree *Glycosmis pentaphylla* is a host of *Citrus leprosis virus C* and exhibits novel leprosis symptoms. *Journal of Plant Pathology* 91 (2):499.
- Garita-Zalazar L, Tassi AD, Calegario RR & Kitajima EW (2012) Amplia-se a lista de hospedeiras experimentais do vírus da leprose C (*Citrus leprosis virus C* CiLV-C). Anais XXXV Congresso Paulista de Fitopatologia, p.25.
- Gibbs A & Mackenzie A (1997) A primer pair for amplifying part of the genome of all potyvirids by RT-PCR. *Journal of Virological Methods* 63: 9-16.
- Gómez EC, Vargas MR, Rivadameira C, Freitas-Astúa J, Astúa-Monge G, Locali EC, Rodrigues JCV, Cobo NCM & Kitajima EW (2005) First report of the leprosis virus cytoplasmic type (CiLV-C) in Santa Cruz, Bolivia. *Plant Disease* 89: 686.
- Groot TVM, Freitas-Astúa J & Kitajima EW (2006) *Brevipalpus phoenicis* transmits Citrus leprosis virus, cytoplasmic type (CiLV-C) to common bean (*Phaseolus vulgaris*) under experimental conditions. *Virus Reviews & Research* 11 (suppl. 1): 67-68.
- Holm LG, Plucknett DL, Pancho JV & Herberger JP (1997) The world's worst weed: Distribution and Biology, University Press of Hawaii. Honolulu. 609 p.
- Kitajima EW, Calegario RF, Locali-Fabris EC, Novelli VM, Freitas-Astúa J, & Francischini F (2008) *In situ* detection of CiLV-C in the mite vector *Brevipalpus phoenicis*, evidence for a circulative type of virus/vector relationship and a model for the virus circulation in the mite. *Tropical Plant Pathology* 33:289.
- Kitajima EW, Chagas CM & Rodrigues JCV (2003) Citrus leprosis virus vectored by *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) on citrus in Brazil. *Experimental and Applied Acarology* 30: 161-179.
- Kitajima EW, Chagas CM, Harakava R, Calegario RF, Freitas-Astúa J, Rodrigues JCV & Childers CC (2011) Citrus leprosis in Florida, USA, appears to have been caused by the nuclear type of *Citrus leprosis virus* (CiLV-N). *Virus Review & Research* <http://www.virusreviewsandresearch.com/volume16nr1,2/R9_CITRUS_LEPROSIS.pdf> acesso em 11 abril 2011.
- Kitajima EW, Müller GW, Costa AS & Yuki V (1972) Short rod-like particles associated with citrus leprosis. *Virology* 50: 254-258.
- Kondo H, Maeda T & Tamada T (2003) Orchid fleck virus: *Brevipalpus californicus* mite transmission, biological properties and genome structure. *Experimental and Applied Acarology* 30: 215-223.
- Kubo KS, Arena GD, Kitajima EW, Machado MA & Freitas-Astúa J (2010) Transmission of *Citrus leprosis virus C* (CiLV-C) to *Arabidopsis thaliana*

- by *Brevipalpus phoenicis* mites. *Citrus Research & Technology* 31: (suplemento) 85.
- León GA, Realpe CE, Garzon, PA, Rodriguez JA, Moreno MG, Childers CC, Achor D, Freitas-Astúa J, Antonioli-Luizon R, Salaroli SB, Cobo NCM & Kitajima EW (2006) Occurrence of citrus leprosis virus in Llanos Orientales, Colombia. *Plant Disease* 90:682.
- León, MG, Becerra CH, Freitas-Astúa J, Salaroli RB & Kitajima EW (2008) Natural infection of *Swinglea glutinosa* by the *Citrus leprosis virus* cytoplasmic Type (CiLV-C) in Colombia. *Plant Disease* 92: 1364-1364.
- Locali EC, Freitas-Astúa J, Souza AA, Takita MA, Antonioli R, Kitajima EW & Machado MA (2003) Development of molecular tool for the diagnosis of leprosis a major threat to citrus production in the Americas. *Plant Disease* 87: 1317-1321.
- Locali-Fabris EC, Freitas-Astúa J & Machado MA (2012) Genus *Cilevirus*. In: *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses* In: King AMQ, Adams MJ, Carstens EB & Lefkowitz EJ (Eds) Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego: Elsevier, p. 1139-1142.
- Locali-Fabris EC, Freitas-Astúa J, Souza AA, Takita, MA, Astúa-Monge G, Antonioli-Luizon R, Rodrigues V, Targon MLPN & Machado MA (2006) Complete nucleotide sequence, genomic organization and phylogenetic analysis of Citrus leprosis virus cytoplasmic type. *Journal of General Virology* 87: 2721-2729.
- Maia OMA & Oliveira CAL (2005) Transmissibilidade do vírus da leprose de cercas-vivas, quebra-ventos e plantas daninhas para laranjeiras através de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes). *Bragantia* 64: 417-422.
- Moraes GJ & Flechtmann CHW (2008) Manual de acarologia. *Acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil*. Ribeirão Preto: Holos, 288 p.
- Novelli VM, Freitas-Astúa J, Locali-Fabris EC, Bastianel M, Antonioli-Luizon R, Ribeiro BM & Machado MA (2007) Detecção do vírus da leprose dos citros no ácaro vetor. *Laranja*, 28: (1-2) 39-46.
- Nunes MA (2007) Transmissão do vírus da leprose dos citros por *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) para plantas associadas a pomares cítricos. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 68p.
- Nunes MA, Bergamini M, Coerini LF, Bastianel M, Noveli MV, Kitajima EW & Freitas-Astúa J (2012a) *Citrus leprosis virus C* infecting *Commelina benghalensis* a prevalent weed orchards in Brazil. *Plant Disease* 96 (5):770.
- Nunes MA, Oliveira CAL, Oliveira ML, Kitajima EW, Hilf ME, Gottwald TR & Freitas-Astúa (2012b) Transmission of *Citrus leprosis virus C* by *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) to alternative host plants found in citrus orchard. *Plant Disease* 96(7):968-972.
- Pascon RC, Kitajima JP, Breton MC, Assumpção L, Greggio C, Zanca AS, Okura VK, Alegria MC, Camargo ME, Silva GG, Cardozo JC, Vallim MA, Franco SF, Silva VH, Jordão Júnior H, Oliveira F, Giachetto PF, Ferrari F, Aguilar-Vildoso CI, Franchiscini FJB, Silva JMF, Arruda P, Ferro JA, Reinach F & Silva ACR (2006) The complete nucleotide sequence and genomic organization of Citrus leprosis associated virus, cytoplasmic type (CiLV-C). *Virus Genes* 32: 289-298.
- Price AJ, Runion GB, Prior SA, Rogers HH & Torber HA (2009) Tropical spiderwort (*Commelina benghalensis* L.) increases growth under elevated atmospheric carbon dioxide. *Journal of Environmental Quality* 38: 730-733.
- Pritchard AE & Baker EW (1958) The false spider mites (Acarina: Tenuipalpidae). University of California Publications on Entomology 14 (3): 175-274.
- Prostko EP, Culpepper AS, Webster TM & Flanders JT (2004) Tropical spiderwort identification and control in Georgia field crops. Georgia Cooperative Extension Publication. < <http://www.georgiainvasives.org/pubs/C884.pdf>> acesso em 28 junho 2011.
- Rocha DC, Rodella RA & Martins D (2000) Ocorrência de *Commelina villosa* como planta daninha em área agrícolas no estado do Paraná-PR. *Planta Daninha* 18: 161-167.

Rodrigues JCV, Locali EC, Freitas-Astúa J & Kitajima EW (2005) Transmissibility of Citrus leprosis virus by *Brevipalpus phoenicis* to *Solanum violaefolium*. Plant Disease 89:911.

Webster MW, Burton MG, Culpepper AS, York AC & Prostko EP (2005) Tropical spiderwort (*Commelina benghalensis*): A tropical invader threatens agroecosystems of the southern United States. Weed Technology 19: 501–508.

Welbourn WC, Ochoa R, Kane EC & Erbe EF (2003) Morphological observations on *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) including comparisons with *B. californicus* and *B. obovatus*. Experimental and Applied Acarology 30: 107-133

Wilson AK (1981) Commelinaceae - A review of the distribution, biology and control of the important weeds belonging to this family. Tropical Pest Management, London 27(3):405-418.

*Recebido: 16/12/2011 – Aceito: 18/06/2012
(CRT 042-11)*