EFEITO DE CHOQUE TÉRMICO NA EXPRESSÃO DE SINTOMAS
DA SOROSE DOS CITROS EM QUATRO LARANJAS
DOCES INDICADORAS

NIVALDO GUIRADO
Engenheiro Agrônomo

Orientador: Dr. Gerd Walter Müller

Dissertação apresentada à Es-
cola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiroz", da Univer-
sidade de São Paulo, para ob-
tenção do grau de Mestre em
Agronomia, Área de Concentra-
ção: Fitopatologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Agosto - 1992

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCARP/U5P

Guirado, Nivaldo

G965e Efeito de choque térmico na expressão de sintomas da sorose dos citros em quatro laranjas doces indicadoras. Piracicaba, 1992.
59p. ilustr.

Diss.(Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Laranja - Doença 2. Sorose dos citros - Sintoma - Efeito de choque térmico 3. Virus fitopatogênico I. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba

CDD 632.8
634.31

EFEITO DE CHOQUE TÉRMICO NA EXPRESSÃO DE SINTOMAS
DA SOROSE DOS CITROS EM QUATRO LARANJAS
DOCES INDICADORAS

NIVALDO GUIRADO

Aprovado em: 09/10/92

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Hiroshi Kimati

ESALQ/USP

Dr. Gerd Walter Müller

IAC-Campinas

Dr. Hugo Kuniyuki

IAC-Campinas

A handwritten signature in cursive script, reading "Gerd Walter Müller". The signature is written in dark ink on a light background.

Dr. GERD WALTER MÜLLER

Orientador

*A minha esposa Cecilia
Aos meus filhos Gustavo e Gisele*

pelo amor, estímulo e compreensão

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

- Ao Sr. Dr. Gerd Walter Müller, pela orientação no desenvolvimento deste trabalho.

- Aos Srs. Drs. Álvaro Santos Costa e Jorge Alberto Marques Rezende pelas sugestões.

- Ao Horto Florestal de Limeira, em especial ao Dr. Ariovaldo Greve, Dr. Valmir Prada e Dr. João José Carcaioli pelas facilidades propiciadas na realização deste trabalho.

- Ao amigo Marco Galli pelo incentivo e apoio.

- Aos amigos José Luiz Silvério e Sr. Andréas Savióli pelos cuidados com as plantas.

- Ao Sr. Dr. Joaquim Teófilo Sobrinho pelo fornecimento de sementes e borbulhas indicadoras.

- Aos colegas e funcionários da Seção de Virologia pela ajuda e estímulo.

- Ao ex-Diretor Geral do Instituto Agronômico Dr. Ariovaldo Brunini, por nos permitir participar do Curso de Mestrado em Fitopatologia.

- À minha esposa e filhos pelo amor e incentivo.

- A todos aqueles que direta ou indiretamente participaram do desenvolvimento deste trabalho, agradeço.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	xi
SUMMARY	xiii
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1. Trabalhos pioneiros	03
2.2. Distribuição geográfica e importância eco- nômica	04
2.3. Sintomatologia	05
2.4. Agente causal	06
2.5. Transmissão e epidemiologia	07
2.6. Diagnóstico	08
3. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1. Obtenção do porta-enxerto	15
3.2. Fonte de inóculo	18
3.3. Indicadoras	18
3.4. Coleta e transporte das fontes de inóculo e indicadoras	19
3.5. Enxertia	20
3.6. Exposição das plantas à diferentes tempe- raturas	21
3.7. Avaliação	25
4. RESULTADOS	27
4.1. Laranja Baianinha inoculada com duas fon- tes da sorose	27

4.1.1. Submetida à temperatura de 15°C ...	27
4.1.2. Submetida à temperatura de 20°C ...	28
4.1.3. Submetida à temperatura de 25°C ...	33
4.1.4. Mantida em temperatura ambiente ...	33
4.2. Laranja do Céu inoculada com duas fontes fontes da sorose	34
4.2.1. Submetida à temperatura de 15°C ...	34
4.2.2. Submetida à temperatura de 20°C ...	35
4.2.3. Submetida à temperatura de 25°C ...	36
4.2.4. Mantida em temperatura ambiente ...	36
4.3. Laranja Madame Vinous inoculada com duas fontes da sorose	37
4.3.1. Submetida à temperatura de 15°C ...	37
4.3.2. Submetida à temperatura de 20°C ...	38
4.3.3. Submetida à temperatura de 25°C ...	38
4.3.4. Mantida em temperatura ambiente ...	39
4.4. Laranja Baianinha enxertada com borbulhas de quatro laranjas doces suspeitas de es- tarem infectadas pela sorose	39
4.4.1. Submetida à temperatura de 15°C ...	39
4.4.2. Mantida em temperatura ambiente ...	43
4.5. Laranja do Céu enxertada com borbulhas de quatro laranjas doces suspeitas de estarem infectadas pela sorose	43
4.5.1. Submetida à temperatura de 15°C ...	43
4.5.2. Mantida em temperatura ambiente ...	44
4.6. Laranja Madame Vinous enxertadas com bor- bulhas de quatro laranjas doces suspeitas de estarem infectadas pela sorose	44
4.6.1. Submetida à temperatura de 15°C ...	44
4.6.2. Mantida em temperatura ambiente ...	45

4.7. Laranja Caipira enxertada com borbulhas de quatro laranjas doces suspeitas de estarem infectadas pela sorose	45
4.7.1. Submetida à temperatura de 15°C ...	45
4.7.2. Mantida em temperatura ambiente ...	46
5. DISCUSSÃO	47
6. CONCLUSÕES	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

LISTA DE FIGURAS

FIGURA N.º		Página
01	Plantas utilizadas nos experimentos. A - Em vaso de barro. B - Em saco plástico .	17
02	Câmara de crescimento utilizada para indução de sintomas da sorose	23
03	Folhas de laranja doce mostrando intensidades variáveis de sintomas da sorose. A - Folha sadia. B. Sintoma fraco. C - Sintoma médio. D - Sintoma forte	26

LISTA DE TABELAS

TABELA N°		Página
01	Efeito de diferentes temperaturas na manifestação e intensidade de sintomas da sorose na primeira brotação de três indicadores de laranja doce inoculadas com duas fontes do vírus	29
02	Efeito de diferentes temperaturas na manifestação de sintomas da sorose na segunda brotação de três indicadores de laranja doce inoculadas com duas fontes do vírus	30
03	Número médio de dias entre o início do tratamento térmico e o aparecimento de sintomas da sorose na primeira brotação de três indicadores de laranja doce inoculadas com duas fontes do vírus após exposição às temperaturas indicadas	31
04	Número médio de dias entre o início do tratamento térmico e o aparecimento de sintomas da sorose na segunda brotação de três indicadores de laranja doce inoculadas com duas fontes do vírus, após exposição às temperaturas indicadas	32
05	Efeito do choque térmico na manifestação de sintomas da sorose em quatro indicadores de laranja doce enxertadas com borbulhas de quatro plantas suspeitas de estarem infetadas com este vírus	40

TABELA N.º

Página

06	Efeito de choque térmico na intensidade de sintomas da sorose em quatro indicadores de laranja doce enxertadas com borbulhas de quatro plantas suspeitas de estarem infetadas com este vírus	41
07	Número médio de dias entre o início do tratamento térmico e o aparecimento de sintomas da sorose em quatro indicadores de laranja doce enxertadas com borbulhas de quatro plantas, suspeitas de estarem infetadas com este vírus, submetidas à choque térmico	42

EFEITO DE CHOQUE TÉRMICO NA EXPRESSÃO DE SINTOMAS
DA SOROSE DOS CITROS EM QUATRO LARANJAS DOCES INDICADORAS

Autor: NIVALDO GUIRADO

Orientador: Dr. GERD WALTER MÜLLER

RESUMO

Os testes de indexação biológica para a sorose dos citros estão baseados em sintomas foliares específicos. Em São Paulo, estes testes são limitados pela ocorrência de alta temperatura que prevalece na maior parte do ano, e, devido a este fato, sintomas só podiam ser observados durante a brotação da primavera com temperatura amena ($\pm 20^{\circ}\text{C}$).

Visando determinar a possibilidade de que os sintomas da sorose pudessem vir a ser expressados também nos períodos quentes do ano, foram realizados dois experimentos. No primeiro utilizou-se plantas indicadoras de laranjas doces (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) das variedades 'Baianinha', 'do Céu' e 'Madame Vinous' enxertadas sobre limão 'cravo' (*Citrus limonia* (L.) Osbeck) e inoculadas com isolados do vírus da sorose procedentes das laranjas doces 'Natal' e 'Folha Murcha'. As plantas foram formadas em casa-de-vegetação a 30°C , aí permanecendo até que apresentassem em seu ramo de 3 a 4 folhas com 3 a 4 cm de

comprimento, sendo nesta fase transferidas para câmaras de crescimento com luminosidade igual e constante, 16 horas por dia fornecida por 8 lâmpadas HO de 85 Watts cada tipo luz do dia e 5 lâmpadas incandescentes de 40 Watts cada. A temperatura das câmaras foi regulada para 15°C, 20°C e 25°C. Observou-se que o choque térmico a 15°C por 3 a 6 dias proporcionou a melhor expressão sintomatológica da sorose; que as CVS 'Baianinha' e 'do Céu' são melhores indicadoras do que a 'Madame Vinous'; e que a procedência do vírus influi na severidade dos sintomas.

No segundo experimento, foram empregadas as laranjas doces 'Baianinha', 'do Céu', 'Madame Vinous' e 'Caipira', que foi indicadora padrão em São Paulo. Essas indicadoras foram preparadas de maneira semelhante às do primeiro experimento, enxertadas com borbulhas de plantas de laranja 'Pera', 'Natal', 'Valência' e 'Hamlin' suspeitas de estarem infectadas pelo vírus da sorose e submetidas a choque térmico de 15°C. Os resultados obtidos indicaram também nesse caso que o choque térmico de 15°C por 3 a 6 dias comprovou ser o mais adequado para a expressão sintomatológica da sorose; que as laranjas 'Baianinha' e 'do Céu' se mostraram mais eficientes do que a 'Madame Vinous' e 'Caipira'; que das 4 laranjas doces suspeitas, apenas a 'Valência' achava-se infectada pelo vírus, estando as demais ('Pera', 'Natal' e 'Hamlin') sadias.

THERMAL SHOCK EFFECT ON PSOROSIS SYMPTOMS EXPRESSION
IN FOUR SWEET ORANGE INDICATORS

Author: NIVALDO GUIRADO

Adviser: Dr. GERD WALTER MÜLLER

SUMMARY

Biological indexing for citrus psorosis is based on particular foliar symptoms. In the State of São Paulo, the indexing is limited by the occurrence of high temperatures during the most part of the year, and, because of this, the symptoms can only be seen during the spring growth flush when mean temperatures are around 20°C.

In order to induce psorosis symptoms on the indicator plants during the warm periods, two experiments were carried out. The indicator plants for the first experiment were sweet oranges (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) cv. 'Baianinha', 'do Céu' and 'Madame Vinous', grafted on lime (*Citrus limonia* (L.) Osbeck) cv 'Rangpur'. These plants were graft inoculated with psorosis infected buds collected from 'Natal' and 'Folha Murcha' sweet oranges. The plants were kept under greenhouse conditions (average temperature of 30°C) until they had developed 3-4 leaves with 3-4 cm long. The plants were then transferred to - growth chambers with 16 hours of light and temperatures

adjusted to 15°C, 20°C and 25°C, respectively. Light was supplied by 8 H0 lamps of 85 watts and 5 incandescent lamps of 40 watts. It was observed that plants exposed to 15°C for 3-6 days showed the best symptoms of psorosis and that 'Baianinha' and 'do Céu' sweet oranges were better indicator for psorosis than 'Madame Vinous'. Also, the origin of the psorosis virus isolate affected the severity of the symptoms.

For the second experiment the same indicator plants mentioned above were used with addition of the 'Caipira' sweet orange which was the standard indicator plant for psorosis in São Paulo. The plants were prepared as described before. Buds from 'Pera', 'Natal', 'Valência', and Hamlin sweet oranges suspected to be infected by psorosis virus were used as source of inoculum. Plants were placed in a growth chamber at 15°C and same luminosity as in the first experiment. The results of this experiment confirmed that the thermal shock at 15°C for 3 to 6 days was the most adequate for symptoms expression of psorosis. It was also observed that 'Baianinha' and 'do Céu' sweet oranges were better indicator for psorosis than 'Madame Vinous', and 'Caipira' sweet oranges. Among the four sweet oranges suspected to be infected by psorosis virus, only 'Valência' was found infected.

1. INTRODUÇÃO

Testes de indexação são imprescindíveis para evidenciar a presença ou ausência de vírus conhecidos em plantas suspeitas. Para tal, os testes biológicos, através de plantas indicadoras são bastante usados no Estado de São Paulo. A maioria deles está baseada em sintomas foliares específicos induzidos pelos vários vírus, sendo verdadeiro também no caso das viroses dos citros. FAWCETT (1934) foi o primeiro pesquisador a associar sintomas foliares aos diversos sintomas verificados no tronco das variedades cítricas agrupados com o nome de sorose.

No Brasil, trabalhos inicialmente realizados para detectar a presença do vírus da sorose, utilizaram a laranjeira 'Caipira' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) enxertada sobre limão 'Cravo' (*Citrus limonia* (L.) Osbeck) como indicadora para detectar sintomas foliares. GUIRADO et alii (1986b) visando determinar o comportamento de diversos tipos de citros em relação a laranja 'Caipira' como indicadora para a sorose, apontam as laranjas doces 'Baianinha' e 'do

Céu' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) como indicadoras mais sensíveis do que a laranja 'Caipira' para este vírus.

O teste de indexação para a sorose, nas condições de São Paulo, tem o inconveniente de ser limitado pela ocorrência de altas temperaturas na maior parte do ano, uma vez que no Estado os sintomas nas folhas das plantas indicadoras somente podem ser observados na brotação de primavera, quando a temperatura está mais amena ($\pm 20^\circ$). Caso isto não ocorra, torna-se necessário aguardar a próxima primavera para observar sintomas.

Visando contornar essa dificuldade, procurou-se desenvolver uma técnica para que sintomas também fossem obtidos nos períodos quentes que abrangem a maior parte do ano. Tal foi conseguido através de um trabalho preliminar de choque térmico, sendo os resultados bastante promissores (GUIRADO et alii, 1986a). Visando aprimorar esta linha de pesquisa, foi desenvolvido o presente trabalho, o qual teve como objetivos: A) determinar em que condições de temperatura as plantas indicadoras devem ser submetidas para que a expressão máxima dos sintomas venha a ser obtida nos períodos mais quentes do ano; B) aperfeiçoar os testes de indexação biológica através de indicadoras para o vírus da sorose dos citros, visando determinar as mais sensíveis e/ou que apresentem sintomas mais nítidos em menos tempo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Trabalhos pioneiros

O nome sorose é utilizado para designar um grupo de doenças de vírus dos citros, que tem como uma das características comuns, produzir sintomas em folhas novas de plantas de qualquer idade. Esse nome foi usado pela primeira vez por SWINGLE & WEBBER (1896), quando descreveram uma doença, que formava lesões na casca, conhecida na Flórida, Estados Unidos como "gummosis" e na Califórnia como "scaly bark".

FAWCETT (1932) deu o nome de "sorose A" à forma de manifestação mais comum da doença, distinguindo-a da "sorose B", considerada como uma forma severa. Fawcett e colaboradores descreveram ainda, quatro outros tipos ou formas de sorose respectivamente: a gomose côncava, a sorose alveolar, o encrepamento das folhas e a variação infecciosa (FAWCETT, 1932; FAWCETT & BITANCOURT, 1943; FAWCETT & KLOTZ, 1938; 1939; 1948). Essas doenças, conforme mencionado

acima, foram tratadas como um grupo pelas características em comum que possuem, no entanto, o encrespamento das folhas e a variegação infecciosa foram mais recentemente, retirados do grupo por serem transmitidas mecanicamente e ter sido identificado um "Ilarvírus" do grupo "Tobacco streak virus" como o responsável por essas doenças (GARNSEY, 1974; CALVERT et alii, 1986; UYEDA & MINK, 1983).

2.2. Distribuição geográfica e importância econômica

A sorose foi inicialmente observada na Flórida e Califórnia (Estados Unidos), mas, parece ser originária do Oriente, onde está amplamente distribuída, tendo-se disseminado mundialmente através de material de propagação vegetativa (LEE, 1923; FAWCETT, 1936). Depois de ser descrita nos Estados Unidos, a sorose "A" e outras formas da sorose foram descritas ocorrendo em todas as áreas de cultivo de citros do mundo. Em muitas dessas áreas, a sorose foi descrita como principal fator limitante da produção de citros em vários países (LAROCCA, 1984).

No Brasil, a sorose foi constatada em todos os estados produtores de citros. A primeira menção de sua ocorrência em nosso país foi no Estado de São Paulo, por BITANCOURT (1934), que relata tê-la visto em pés de laranja Azeda (*Citrus aurantium* L.). A sorose também foi descrita

afetando plantas no Estado do Rio de Janeiro e Minas Gerais por FAWCETT et alii (1936). Nos Estados de Pernambuco, Bahia, São Paulo e Rio Grande do Sul por FAWCETT & BITANCOURT (1937).

2.3. Sintomatologia

Os sintomas foliares ocorrem em plantas de citros de qualquer idade, infectadas com qualquer uma das formas consideradas associadas a sorose. Aparecem sintomas durante o fluxo de crescimento, que podem variar grandemente em extensão e intensidade em plantas individuais num determinado período.

FAWCETT (1933) foi quem descreveu pela primeira vez os sintomas foliares da sorose, tendo-se aprofundado posteriormente no assunto (FAWCETT & BITANCOURT, 1943; FAWCETT & KLOTZ, 1938; 1939, 1948; WALLACE, 1945; 1957). Os sintomas foram descritos como pequenas áreas cloróticas alongadas, de cor verde mais claro que a folha, paralelas às nervuras secundárias que são mais facilmente visíveis contra a luz. As áreas cloróticas podem ocorrer sobre toda a folha ou então somente em parte desta. Às vezes, a maioria das folhas de mesmo tamanho mostram os sintomas, em outras ocasiões no entanto, relativamente poucas folhas são afetadas. Folhas novas, de árvores infetadas

com a forma de sorose conhecida como gomose côncava, apresentam outro tipo de mancha clorótica, com a forma dos contornos da folha de carvalho.

Em países de clima quente como é o caso do Brasil, os sintomas somente são visíveis nas folhas novas, próximas à completa expansão, na brotação de primavera, quando a temperatura fica mais amena. Os sintomas foliares gradativamente desaparecem, à medida que as folhas amadurecem.

2.4. Agente causal

O agente causal da sorose e doenças associadas como sendo deste grupo, ainda não foi totalmente caracterizado, mas há evidências de que seja de natureza viral.

GARCIA et alii (1991), estudando a sorose dos citros na Argentina, verificaram que a moléstia estava associada à partículas de um vírus bipartite cujo material genético é representado por uma fita simples de RNA. Observaram ainda que a infectividade do agente causador da sorose estava associada ao material genético e a uma proteína estrutural de 50 KDa.

LEVY & GUMPF (1991) na Califórnia, Estados Unidos, estudando um isolado de sorose A, verificaram ser o

agente causal, um vírus alongado, medindo 660-665 x 12 nm. Devido a diversas semelhanças entre as partículas do vírus estudado e aquelas dos Carlavírus os autores levantaram a possibilidade de ser o vírus da sorose um membro desse grupo.

2.5. Transmissão e epidemiologia

A sorose é transmitida normalmente por união de tecidos, tendo sido FAWCETT (1933) o primeiro pesquisador a demonstrar sua natureza transmissível. A sorose "B" já foi transmitida mecanicamente. Transmissão da gomose côncava através da semente já foi descrita em citrange 'Carrizo' (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck) por BRIDGES et alii (1965), Citrange 'Troyer' (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck) por PUJOL (1966) e em 'Trifoliata' (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) por CAMPIGLIA et alii (1976). A disseminação natural da sorose no campo foi relatada em Concórdia na Argentina por BENATENA & PORTILLO (1984), e por PASSOS et alii (1974) na Bahia - Brasil havendo suspeita de possíveis vetores.

2.6. Diagnose

A condição climática é de fundamental importância na expressão de sintomas para o vírus da sorose. No Brasil, a dificuldade em se observar sintomas nas folhas novas das indicadoras, está diretamente relacionada à temperatura, que no verão chega a atingir $\pm 40^{\circ}\text{C}$ por várias horas do dia, principalmente em casas de vegetação e teladões. Temperaturas contínuas desta ordem são suficientes para inativar o vírus da sorose, ou ainda, evitar o estabelecimento do vírus em tecidos jovens, ainda que o mesmo esteja estabelecido em tecidos mais velhos conforme foi demonstrado por GRANT (1957).

FAWCETT & BITANCOURT (1937) mencionaram a sorose como a doença dos citros mais importante do Estado da Bahia, Brasil. Esses autores observaram que, embora existentes, os sintomas nas folhas novas eram difíceis de serem encontrados, sugerindo que o fato era devido à temperatura mais elevada, própria da região. A ausência de sintomas foliares típicos da sorose da Bahia foi também verificada por PASSOS (1965), que não conseguiu observar sintomas, seja em brotações novas de árvores adultas de laranjeira 'Bahia' e 'Pera' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) que apresentavam sintomas típicos de sorose da casca, que tinham sido podadas para forçar a brotação, ou em brotações de gemas de laranja 'do Céu', enxertadas em diversos cavalos, originários de

plantas existentes na Estação Experimental "Sylvio Moreira" do IAC - São Paulo, que mostraram conspícuos sintomas foliares nessa última.

No Estado de São Paulo, GUIRADO et alii (1986a) enfrentando dificuldades para obter sintomas de sorose nas folhas da indicadora laranja 'do Céu' devido a elevada temperatura prevalente durante o verão neste Estado, trabalharam com plantas infetadas da indicadora acima citada, sendo um grupo de plantas mantido em casa de vegetação e um outro colocado em uma sala com temperatura constante de 20°C e sob 10 horas de iluminação diária, fornecida por 2 lâmpadas fluorescentes de 40W, do tipo luz do dia, situadas no teto, à cerca de 3 metros das plantas. Após 2 dias, uma das plantas apresentou áreas cloróticas alongadas, de cor verde claro, paralelas às nervuras secundárias, características da virose. Cinco dias após o início do tratamento, as demais plantas infetadas apresentaram fortes sintomas foliares, conforme descrito acima e linhas cloróticas formando desenhos do tipo folha de carvalho. As plantas infetadas que permaneceram na casa de vegetação, bem como os controles sadios, não exibiram sintomas.

Na Venezuela, MALAGUTI & STONER (1954) observaram a presença de sintomas associados ao vírus da sorose em condições de campo. No entanto tentando induzir sintomas em indicadoras MALAGUTI & KNORR (1961) concluíram que não haviam evidências para confirmar a presença da soro-

se nas plantações citrícolas da Venezuela, ou mesmo através de estudos de transmissão em casa de vegetação utilizando a laranja doce como indicadora.

CALAVAN et alii (1978) explicaram que as dificuldades encontradas na Venezuela para obtenção de sintomas da sorose se deve ao clima tropical, cuja temperatura é inadequada para a manifestação de sintomas, além disso, as casas de vegetação utilizadas nesse país foram desenhadas para regiões de outras latitudes, não sendo, portanto, adequadas para os testes de diagnose da sorose.

MONTEVERDE et alii (1980), visando determinar a presença do vírus da sorose nas plantações citrícolas da Venezuela, inocularam seedlings de laranja doce cv. 'Hamlin' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) a partir de uma árvore da laranja doce cv. 'Washington Navel' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), suspeita de estar infetada com o vírus da sorose. As plantas após a inoculação foram colocadas em uma câmara de crescimento iluminada com tubos fluorescentes tipo Gro-Lux a 156 W/m^2 , a uma temperatura de $19 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e umidade relativa de 70-90%. Na sexta semana após a inoculação, 20% das plantas indicadoras mostraram sintomas positivos e na décima semana 90% das plantas mostraram sintomas, confirmando experimentalmente pela primeira vez a presença do vírus da sorose na Venezuela.

Outros autores relataram em seus trabalhos a importância da temperatura na manifestação de sintomas da sorose. Nos Estados Unidos, WALLACE (1945) descreveu que, para detecção do vírus da sorose no campo, nas regiões subtropicais, a leitura dos sintomas deve ser feita durante a brotação de primavera, quando ocorrem as temperaturas baixas favoráveis a indução de sintomas.

ROISTACHER (1976), descreve que a temperatura nas quais as plantas estão se desenvolvendo, tem um efeito muito significativo na expressão de sintomas de viroses. Classifica as manifestações dos sintomas das viroses dos citros como condicionadas por temperaturas altas e baixas, enquadrando nesta última, a sorose A e a gomose côncava. Este autor, trabalhando com estas duas viroses, inoculou seedling de 'tangor Dweet' e laranja doce 'Pineapple' com dois isolados de sorose A e um de gomose côncava, colocando-as à temperatura de 38/24°C. A expressão de sintoma foliar de sorose A no primeiro fluxo de crescimento foi suprimida nas temperaturas mais quentes e os sintomas de gomose côncava não se manifestaram, enquanto que, nas temperaturas mais frias, as plantas apresentaram sintomas sendo que somente um tangor 'Dweet' produziu melhores sintomas na temperatura quente. Segundo este mesmo autor, as temperaturas nas quais as plantas são submetidas para expressão de sintomas são muito importantes para a diagnose. Assim, os sintomas da tristeza, sorose A, gomose côncava, variação infecciosa,

nanismo da satsuma e enação foliar, são mais acentuados em temperatura baixa, enquanto que os sintomas da exocorte e xiloporose se manifestam melhor em temperatura mais elevada. Por estas razões, o uso de casa de vegetação em um único ambiente para detectar os diversos patógenos dos citros, não é recomendado.

Além da temperatura adequada para a manifestação de sintomas da sorose dos citros, a escolha da planta indicadora é de fundamental importância. No entanto, poucos foram os estudos visando selecionar indicadoras que dessem sintomas mais nítidos em menor tempo. Na maioria dos casos, as plantas escolhidas para os testes de indexação são aquelas que apresentam alguns sintomas foliares em condições de campo.

Nos Estados Unidos, ROISTACHER & NAUER (1964) compararam dez variedades de laranja doce e uma tangerina como plantas indicadoras para a sorose "A" e duas estirpes de gomose côncava. A laranja doce 'Pineapple' foi considerada a melhor indicadora, seguida pela 'Madame Vinous', 'Olivelands' e 'Parson Brown', também variedades de laranja doce, que exibiram sintomas nítidos para a Sorose "A" e para a estirpe Californiana de Gomose Côncava. Nove das dez variedades de laranja doce testadas foram satisfatórias para detectar uma estirpe muito branda de Gomose Côncava, enquanto que a tangerina 'King' inoculada com esta estirpe mostrou sintomas tipo "folha de carvalho". As variedades de

laranja doce 'Mediterranean' e 'Dillar' foram consideradas como indicadoras pouco sensíveis para os vírus testados.

CHIARAPPA (1966) escreveu sobre as principais plantas indicadoras utilizadas para testes de indexação no mundo, separando-as por países e instituições de pesquisa. Para o teste de indexação biológica para a sorose, as indicadoras mais utilizadas são as do grupo das laranjas doces, e entre elas a 'Madame Vinous', 'Pineapple', 'Koe-then' e 'Hamlin' são as mais utilizadas.

WALLACE (1958), ROISTACHER & BLUE (1968), nos Estados Unidos, descreveram as tangerinas e híbridos de tangerinas como as melhores indicadoras para o vírus da sorose, devido essas variedades terem apresentado sintomas característicos da sorose quando inoculadas com estirpes fracas deste vírus.

CALAVAN et alii (1978) citam as tangerinas 'Kara', 'King' e 'Dancy' como boas indicadoras para o vírus da sorose e doenças deste grupo e consideram o tangor 'Dweet', como a indicadora mais sensível.

No Brasil, GUIRADO et alii (1986b) compararam sete variedades de laranjas doces (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) e duas tangerinas (*Citrus reticulata*, Blanco), incluindo como padrão a laranja doce 'Caipira', utilizada nos testes de indexação para matrizes de citros no Estado de São Paulo. Os resultados obtidos mostraram sintomas evidentes e característicos da doença nas laranjas doces

'Baianinha' e 'do Céu'; sintomas fracos nas laranjas doces 'Hamlin', 'Pineapple' e 'Caipira'; já a laranja 'Azeda' e as tangerinas 'Kara' e 'King' não exibiram sintomas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos para avaliar o efeito das diferentes temperaturas na manifestação de sintomas do vírus da sorose foram conduzidos na Seção de Virologia Fitotécnica do Instituto Agronômico de Campinas, SP.

3.1. Obtenção do porta-enxerto

O porta-enxerto usado em ambos experimentos foi o limão 'Cravo' (*Citrus limonia* (L.) Osbeck). Para sua formação, foram coletados frutos de uma única planta da Estação Experimental "Sylvio Moreira", do Instituto Agronômico - Cordeirópolis - SP, dos quais as sementes foram retiradas, lavadas em água corrente, espalhadas sobre folha de jornal e postas para secar à sombra. Uma vez secas, foram tratadas com fungicida à base de PCNB 75%, na dosagem de 300 g do produto comercial para 100 kg de semente.

Uma parte das sementes (metade) foi semeada em março de 1990, em bandejas de poliestireno expandido (isopor da Eucatex), com 72 cavidades, contendo substrato completo para semeadura à base de vermiculita, matéria orgânica, mais macro e micronutrientes (Plantmax da Eucatex). Após a emergência das plântulas, contando estas com 2 meses de idade, foram transplantadas para vasos de barro com as seguintes dimensões: 16 cm de diâmetro na borda superior, 17 cm de altura e 11 cm de diâmetro na borda inferior, contendo terra misturada com adubo orgânico de origem animal na proporção 3:1. Os porta-enxertos foram conduzidos em casa-de-vegetação, recebendo tratos culturais e fitossanitários adequados (Figura 1,A).

Em maio de 1991, o restante das sementes foi semeado em tubetes de formato piramidal com capacidade de 50 ml, contendo substrato Plantmax da Eucatex. Após a emergência das plântulas e contando estas com 2 meses de idade, foram transplantadas para sacos plásticos com as dimensões de 10 cm de diâmetro e 19 cm de altura contendo o mesmo substrato, a fim de facilitar um adequado desenvolvimento do porta-enxerto (Figura 1,B).

Figura 1. Plantas utilizadas nos experimentos. A - Em vaso de barro. B - Em saco plástico.

3.2. Fonte de inóculo

Serviram como fonte de inóculo, plantas da coleção de vírus da Seção de Virologia Fitotécnica do Instituto Agronômico, que em exames anteriores apresentaram nítidos sintomas de sorose. Duas fontes foram escolhidas para este trabalho, devido aos sintomas característicos de sorose que induziram nas folhas novas das plantas indicadoras. Uma foi a laranja 'Natal' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), de clone velho com 31 anos de idade, e a segunda foi a laranja 'Folha Murcha' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck).

Para o experimento instalado em maio de 1971, foram utilizadas borbulhas de quatro plantas de laranja doce, respectivamente 'Pera', 'Valência', 'Natal' e 'Hamlin', de uma coleção de citros mantida na Estação Experimental de Citricultura de Bebedouro, da Fundação de Pesquisa Agroindustrial de Bebedouro, SP, suspeitas de estarem infetadas pelo vírus da sorose.

3.3. Indicadoras

Todas as borbulhas das plantas indicadoras selecionadas para o experimento foram coletadas de plantas de clone nucelar existentes na Estação Experimental "Sylvio Moreira" do IAC em Cordeirópolis, SP.

Para o primeiro experimento, foram escolhidas como indicadoras três laranjas doces, a saber: 'Baianinha' e 'do Céu' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), indicadas por J. Pompeu Jr. (comunicação verbal) e comprovadas experimentalmente por GUIRADO et alii (1986a) como indicadoras bastante sensíveis para as nossas condições. A terceira indicadora escolhida foi a laranja 'Madame Vinous' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) selecionada por ROISTACHER et alii (1964) e citada por CHIARAPPA (1966), como sendo muito sensível, e que é normalmente utilizada na indexação da sorose à nível mundial.

Para o segundo experimento foram utilizadas as 3 indicadoras anteriormente citadas acrescidas da laranja 'Caipira' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck).

3.4. Coleta e transporte das fontes de inóculo e indicadoras

Foram coletadas dez estacas ao acaso, ao redor de cada árvore inóculo ou indicadora, situada no campo na Estação Experimental Sylvio Moreira, Cordeirópolis, SP, contendo cada uma delas dez a doze gemas. Para o transporte das estacas da Estação Experimental em questão até a Seção de Virologia, onde foi realizado o experimento, as mesmas foram acondicionadas em jornal previamente umedecido em

água, a fim de protegê-las contra a perda de turgescência e sua consequente inviabilidade, sendo ainda, para uma maior segurança, colocado o jornal contendo os ramos, dentro de um saco plástico e este, em uma caixa de isopor com gelo. Na Seção de Virologia, as borbulhas foram guardadas em geladeira doméstica à 4°C, dentro de saco plástico, até o momento de serem utilizadas.

3.5. Enxertia

A técnica utilizada no preparo das plantas para o teste de indexação da sorose no primeiro experimento foi a chamada de dupla enxertia, que consistiu em enxertar duas borbulhas do inóculo a 10 cm acima do colo da planta, e em sentido oposto uma da outra, sendo realizada em dezembro de 1990, quando o porta-enxerto contava com 9 meses de idade e cerca de 1 cm de diâmetro. Para as indicadoras, utilizou-se uma única borbulha por planta, sendo a enxertia efetuada 5 cm acima dos inóculos, em janeiro de 1991, ou seja, 20 dias após a enxertia dos inóculos, tempo verificado por PRICE (1968), suficiente para que houvesse a invasão do vírus nos tecidos da planta. Tanto para os inóculos como também para as indicadoras, as enxertias foram feitas na forma de "T" invertido, onde foram inseridas as borbulhas e em seguida amarradas com fitilho de enxertia, o qual foi

retirado 20 dias após a enxertia, sendo este tempo o suficiente para que ocorresse união de tecidos (pegamento).

No segundo experimento, foram utilizados porta-enxertos com 4 meses de idade (setembro 1991) e com um diâmetro em torno de 0,4 cm. A técnica utilizada foi também a de dupla enxertia, através de escudagem embutida, a 5 cm acima do colo da planta, devido ao seu pequeno porte. Simultaneamente foram enxertadas as indicadoras 5 cm acima dos inóculos, também por escudagem embutida. Após a realização de cada enxertia as borbulhas foram amarradas com fitilho de enxertia, o qual foi retirado 20 dias após.

Todas as plantas do experimento permaneceram em casa-de-vegetação até que as brotações das indicadoras apresentassem de 3 a 4 folhas em fase de expansão com mais ou menos 3 a 4 cm de comprimento sendo nesta fase submetidas as diversas temperaturas para expressão de sintomas.

3.6. Exposição das plantas à diferentes temperaturas

Em fevereiro de 1991, quando as indicadoras do primeiro experimento apresentaram a primeira brotação contendo no seu ramo 3 a 4 folhas em fase de expansão, um total de 180 plantas foram submetidas a diferentes temperaturas. Três grupos de 60 plantas de cada indicadora foram subdivididas em grupos de 15 plantas, constituídos respectivamente por 5 plantas inoculadas com isolado procedente da

laranja 'natal'; 5 plantas com isolado procedente da laranja 'Folha Murcha' e 5 plantas controles sadios. Quatro diferentes temperaturas foram utilizadas: 15, 20 e 25°C e ambiente em casa de vegetação.

As temperaturas 15, 20 e 25°C, foram obtidas em câmaras de crescimento da marca PERCIVAL, modelo PGC-78 com luminosidade igual e constante 16 horas por dia, sendo fornecida por oito lâmpadas HO de 85 watts cada, tipo luz do dia e cinco lâmpadas incandescentes de 40 watts cada, as quais ficaram a uma altura de 50 cm acima das plantas (Figura 2). A temperatura média ambiente variou entre 35,1°C (média máxima), 25,2°C (média mínima) durante a primeira brotação e 33,7°C (média máxima) a 24,3°C (média mínima) na segunda brotação.

As plantas em câmaras de crescimento aí permaneceram do dia 22/02/91 ao 01/03/91. Após este período, foram retiradas, devido às folhas terem ultrapassado a fase considerada adequada para expressão de sintomas, e então retornadas para casa de vegetação onde procedeu-se a poda da copa a fim de estimular uma segunda brotação. Em abril de 1991, quando com nova brotação, as plantas indicadoras foram novamente levadas as câmaras de crescimento para receberem um segundo choque térmico.

Figura 2. Câmara de crescimento utilizada para indução de sintomas da sorose.

No segundo experimento, procurou-se verificar a sanidade de quatro plantas dos cultivares: laranja 'Natal', laranja 'Valência', laranja 'Pera' e laranja 'Hamlin', mantidas na coleção da Estação Experimental de Citricultura de Bebedouro-SP. Para tal, um total de 200 plantas indicadoras de sorose, perfazendo 4 grupos de 50 plantas de cada indicadora (laranja 'do Céu', 'Baianinha', 'Madame Vinous' e 'Caipira') foram divididas em subgrupos de 25, constituídos respectivamente por cinco plantas enxertadas com borbulhas da planta suspeita laranja 'Natal', cinco com laranja 'Pera', cinco com 'Valência', cinco com 'Hamlin' e cinco controles sadios. Em outubro de 1991, quando as indicadoras apresentaram a primeira brotação contendo no ramo três a quatro folhas em fase de expansão, foram submetidas a choque térmico. Neste segundo experimento, duas temperaturas foram empregadas: um grupo de 100 plantas foi submetido à temperatura de 15°C e, um outro grupo de 100 plantas, que permaneceu em casa de vegetação, tiveram sua temperatura que variou entre 35°C (média máxima) e 23°C (média mínima) sendo a temperatura média no período de 29°C. O choque térmico à 15°C foi obtido com a câmara de crescimento, descrita anteriormente. As plantas permaneceram do dia 18 a 29 de outubro de 1991 na câmara de crescimento, período após o qual foram retiradas, por apresentarem suas folhas com expansão máxima de crescimento.

3.7. Avaliação

Os parâmetros utilizados para determinação do mais adequado teste de indexação biológica para a sorose no presente trabalho basearam-se em: ocorrência e intensidade de sintomas, temperatura à qual as plantas ficaram expostas, plantas indicadoras, primeira ou segunda brotação das mesmas, isolados do vírus e número de dias para o aparecimento de sintomas. A avaliação foi realizada utilizando-se a seguinte escala de notas: 0 = sem sintomas (Figura 3,A); 1 = sintoma fraco: representado por folhas que apresentavam áreas cloróticas de cor verde-claro paralelas às nervuras secundárias, quase imperceptíveis, mesmo quando observadas contra a luz (Figura 3,B); 2 = sintoma médio: representado por folhas que apresentavam áreas cloróticas de cor verde-claro paralelas às nervuras secundárias, visíveis contra a luz (Figura 3,C); 3 = sintoma forte: representado por áreas cloróticas de cor verde claro paralelas às nervuras secundárias facilmente visíveis, mesmo sem serem observados contra a luz (Figura 3,D).

Figura 3. Folhas de laranja doce mostrando intensidades variáveis de sintomas de soroze. A - Folha sadia. B - Sintoma fraco. C - Sintoma médio. D - Sintoma forte.

4. RESULTADOS

Nas páginas seguintes são apresentados os resultados obtidos no presente trabalho, onde procurou-se avaliar o efeito de diferentes temperaturas, na expressão de sintomas do vírus da sorose em folhas de diversas indicadores.

4.1. Laranja 'Baianinha' inoculada com duas fontes da sorose

4.1.1. Submetida à temperatura de 15°C

A laranja 'Baianinha' utilizada como indicadora apresentou, quando submetida ao choque térmico de 15°C, 100% de plantas com sintomas nas folhas na primeira e segunda brotação, quando inoculadas com isolado procedente da laranja 'Natal' ou 'Folha Murcha' (Tabelas 1 e 2). Os controles sadios não apresentaram sintomas. Houve pequenas diferenças com esta indicadora quanto à intensidade dos sintomas, que mostraram-se mais acentuado na primeira bro-

tação do que na segunda, com o inóculo procedente da laranja 'Folha Murcha' recebendo nota média 2,4 na primeira brotação e 2,0 na segunda, sendo que, com o inóculo da laranja 'Natal', não houve diferença na intensidade de sintomas entre a primeira e segunda brotação, recebendo nos dois casos, a nota máxima 3. (Tabelas 1 e 2). O número de dias entre o início das exposições térmicas e o aparecimento dos sintomas também variou, sendo de 3 dias com o inóculo procedente da laranja 'Natal' na primeira e segunda brotação e, com o inóculo procedente da laranja 'Folha Murcha', 5 dias na primeira brotação e 4 dias na segunda (Tabelas 3 e 4).

4.1.2. Submetida à temperatura de 20°C

A laranja 'Baianinha' quando submetida a temperatura de 20°C também mostrou 100% de plantas com sintomas tanto na primeira como na segunda brotação com os isolados procedentes das laranjas 'Natal' e 'Folha Murcha' (Tabelas 1 e 2). A nota média dos sintomas foi de 2,2 e 1,8 na primeira brotação com inóculo procedente da laranja 'Natal' e 1,6 e 1,2 para o inóculo procedente da laranja 'Folha Murcha' (Tabelas 1 e 2). O número de dias entre o início do tratamento térmico e o aparecimento de sintomas foi de 5 dias da primeira e segunda brotação para os dois inóculos utilizados (Tabelas 3 e 4). Os controles sadios não apresentaram sintomas.

Tabela 1. Efeito de diferentes temperaturas na manifestação e intensidade de sintomas da sorose na primeira brotação de três indicadoras de laranja doce inoculadas com duas fontes do vírus.

Indicadoras	Temperatura de exposição (°C)	Laranja Natal ^a		L. Folha Murcha	
		Nº de plantas c/sint. inoc.	Nota média de sintomas ^b	Nº de plantas c/sint. inoc.	Nota média de sintomas
L. Baianinha	15	5/5	3,0	5/5	2,4
L. do Céu	15	5/5	3,0	5/5	2,0
L. Madame Vinous	15	5/5	2,2	4/5	1,5
L. Baianinha	20	5/5	2,2	5/5	1,6
L. do Céu	20	4/5	2,0	4/5	1,0
L. Madame Vinous	20	3/5	1,0	2/5	1,0
L. Baianinha	25	3/5	1,3	2/5	1,0
L. do Céu	25	3/5	1,0	1/5	1,0
L. Madame Vinous	25	0/5	0	0/5	0
L. Baianinha	ambiente	0/5	0	0/5	0
L. do Céu	ambiente	0/5	0	0/5	0
L. Madame Vinous	ambiente	0/5	0	0/5	0

^a Plantas doadoras de inóculo.

^b Notas 1, 2 e 3 correspondem a sintomas fracos, médios e fortes da sorose, respectivamente.

Tabela 2. Efeito de diferentes temperaturas na manifestação e intensidade de sintomas da sorose na segunda brotação de três indicadoras de laranja doce inoculadas com duas fontes do vírus.

Indicadoras	Temperatura de exposição (°C)	Laranja Natal ^a		L. Folha Murcha	
		Nº de plantas c/sint. inoc.	Nota média de sintomas ^b	Nº de plantas c/sint. inoc.	Nota média de sintomas
L. Baianinha	15	5/5	3,0	5/5	2,0
L. do Céu	15	5/5	2,6	5/5	1,8
L. Madame Vincous	15	5/5	2,0	5/5	1,2
L. Baianinha	20	5/5	1,8	5/5	1,2
L. do Céu	20	5/5	1,8	4/5	1,0
L. Madame Vincous	20	4/5	1,0	2/5	1,0
L. Baianinha	25	2/5	1,0	2/5	1,0
L. do Céu	25	3/5	1,0	2/5	1,0
L. Madame Vincous	25	0/5	0	0/5	0
L. Baianinha	ambiente	0/5	0	0/5	0
L. do Céu	ambiente	0/5	0	0/5	0
L. Madame Vincous	ambiente	0/5	0	0/5	0

^a Plantas doadoras de inóculo.

^b Notas 1, 2 e 3 correspondem a sintomas fracos, médios e fortes da sorose, respectivamente.

Tabela 3. Número médio de dias entre o início do tratamento térmico e o aparecimento de sintomas da sorose na primeira brotação de três indicadoras de laranja doce inoculada com duas fontes do vírus após exposição às temperaturas indicadas.

Indicadora	Temperatura de exposição (°C)	Nº médio de dias para manifestação de sintomas ^a	
		Laranja Natal ^b	L. Folha Murcha
L. Baianinha	15	3	5
L. do Céu	15	3	5
L. Madame Vinous	15	6	6
L. Baianinha	20	5	5
L. do Céu	20	6	6
L. Madame Vinous	20	7	8
L. Baianinha	25	6	7
L. do Céu	25	6	7
L. Madame Vinous	25	—	—
L. Baianinha	ambiente	—	—
L. do Céu	ambiente	—	—
L. Madame Vinous	ambiente	—	—

^a Período entre a data de exposição das plantas às temperaturas indicadas e o aparecimento de sintomas.

^b Plantas fornecedoras de inóculo.

Tabela 4. Número médio de dias entre o início do tratamento térmico e o aparecimento de sintomas da sorose na segunda brotação de três indicadoras de laranja doce inoculada com duas fontes do vírus após exposição às temperaturas indicadas.

Indicadora	Temperatura de exposição (°C)	Nº médio de dias para manifestação de sintomas ^a	
		Laranja Natal ^b	L. Folha Murcha
L. Baianinha	15	3	4
L. do Céu	15	3	4
L. Madame Vinous	15	5	6
L. Baianinha	20	5	5
L. do Céu	20	6	5
L. Madame Vinous	20	6	8
L. Baianinha	25	7	7
L. do Céu	25	6	6
L. Madame Vinous	25	-	-
L. Baianinha	ambiente	-	-
L. do Céu	ambiente	-	-
L. Madame Vinous	ambiente	-	-

^a Período entre a data de exposição das plantas às temperaturas indicadas e o aparecimento de sintomas.

^b Plantas fornecedoras de inóculo.

4.1.3. Submetida à temperatura de 25°C

Com a temperatura de 25°C, na primeira brotação com inóculo de laranja 'Natal', apenas 60% das plantas apresentaram sintomas foliares e na segunda brotação com este mesmo inóculo, 40% das plantas apresentaram folhas com sintomas. Com o isolado procedente da laranja 'Folha Murcha', 40% das plantas apresentaram sintomas na primeira e segunda brotação (Tabelas 1 e 2). Os controles sadios não apresentaram sintomas. A nota média dos sintomas foi de 1,3 e 1,0 com o inóculo procedente da laranja 'Natal' na primeira e segunda brotação respectivamente e nota média 1,0 nas duas brotações com o inóculo procedente da laranja 'Folha Murcha' (Tabelas 1 e 2). O número de dias entre o início do tratamento térmico e o aparecimento de sintomas, foi de 6 dias na primeira brotação e 7 dias na segunda quando inoculada com isolado da laranja 'Natal' e 7 dias na primeira e segunda brotação quando inoculada com o isolado da laranja 'Folha Murcha' (Tabelas 3 e 4).

4.1.4. Mantida em temperatura ambiente

A indicadora 'Baianinha' também inoculada com isolado da laranja 'Natal' e 'Folha Murcha', quando mantida em casa de vegetação com temperatura variando entre 25,2°C (média mínima) a 35,1°C (média máxima), sendo a temperatura

média, no período, de aproximadamente 30°C, durante a primeira brotação ocorrida em fevereiro de 1991; e 24,3 a 33,7°C (temperatura média mínima e máxima respectivamente), sendo a temperatura média, no período, de 29°C durante a segunda brotação, ocorrida no mês de abril de 1991, não apresentou sintomas foliares, assim como, os controles sadios não inoculados.

4.2. Laranja 'do Céu' inoculada com duas fontes da sorose

4.2.1. Submetida à temperatura de 15°C

Quando submetida ao choque térmico de 15°C, a laranja 'do Céu' utilizada como indicadora apresentou 100% de plantas com sintomas nas folhas, na primeira e segunda brotação, quando inoculadas com isolados da laranja 'Natal' ou 'Folha Murcha' (Tabelas 1 e 2). Os controles sadios não apresentaram sintomas. Houve diferenças com esta indicadora quanto à intensidade de sintomas, que foi maior na primeira brotação do que na segunda, tanto com o isolado da laranja 'Natal' com o qual recebeu nota média 3,0 na primeira brotação e 2,6 na segunda brotação, como com o isolado da laranja 'Folha Murcha', com o qual recebeu nota média 2,0 na primeira brotação e 1,8 na segunda brotação (Tabelas 1 e 2).

O intervalo entre o início do choque térmico e o aparecimento de sintomas foi de 3 dias tanto para a primeira como para a segunda brotação com o inóculo procedente da laranja 'Natal' e 5 dias para a primeira brotação e 4 dias para a segunda, com o inóculo procedente da laranja 'Folha Murcha' (Tabelas 3 e 4).

4.2.2. Submetida à temperatura de 20°C

Quando a temperatura utilizada foi de 20°C, 80% das plantas mostraram sintomas na primeira brotação e 100% na segunda, com o isolado da laranja 'Natal' e 80% na primeira e segunda brotação, com o isolado da laranja 'Folha Murcha' (Tabelas 1 e 2). Os controles sadios não apresentaram sintomas. A nota média dos sintomas foi de 3,0 e 2,6 na primeira e segunda brotação, respectivamente quando o inóculo utilizado foi o isolado da laranja 'Natal' e 2,0 e 1,8 com o isolado da laranja 'Folha Murcha' (Tabelas 1 e 2). O número de dias entre o início do tratamento térmico e o aparecimento de sintomas foi de 6 dias na primeira e segunda brotação quando o inóculo utilizado foi o isolado da laranja 'Natal' e 6 dias na primeira brotação e 5 dias na segunda com o isolado da laranja 'Folha Murcha'.

4.2.3. Submetida à temperatura de 25°C

Com a temperatura de 25°C apenas 60% das plantas mostraram sintomas, na primeira e segunda brotação com o inóculo de laranja 'Natal'. Quando o inóculo utilizado foi o isolado da laranja 'Folha Murcha', somente 20% das plantas inoculadas mostraram sintomas na primeira brotação, sendo que na segunda brotação a porcentagem de plantas inoculadas que mostraram sintomas foi de 40%. Os controles sadios não apresentaram sintomas. A nota média dos sintomas foi 1,0 na primeira e segunda brotação, quando utilizado o isolado da laranja 'Natal' e da laranja 'Folha Murcha' (Tabelas 1 e 2). O número de dias entre o início do tratamento térmico e o aparecimento de sintomas foi de 6 dias na primeira e segunda brotação quando o isolado utilizado foi da laranja 'Natal' e de 7 dias na primeira brotação e 6 dias na segunda com o isolado da laranja 'Folha Murcha'.

4.2.4. Mantida em temperatura ambiente

Em casa de vegetação, na temperatura média já descrita anteriormente, nenhuma planta apresentou sintomas, tanto quando foi utilizado isolado da laranja 'Natal' ou da laranja 'Folha Murcha', no mesmo período, assim como os controles sadios.

4.3. Laranja 'Madame Vinous' inoculada com duas fontes da sorose

4.3.1. Submetida à temperatura de 15°C

A laranja 'Madame Vinous', também utilizada como indicadora neste trabalho, quando submetida ao choque térmico de 15°C apresentou 100% de plantas com sintomas foliares na primeira e segunda brotação, quando inoculadas com isolados da laranja 'Natal' e 80% de plantas com folhas com sintomas na primeira brotação e 100% de plantas com folhas com sintomas na segunda brotação, com o isolado da laranja 'Folha Murcha' (Tabelas 1 e 2). Os controles sadios não apresentaram sintomas. A intensidade de sintomas foi maior na primeira brotação do que na segunda, tanto com o isolado de laranja 'Natal' com o qual recebeu nota média 2,2 na primeira brotação e 2,0 na segunda, como com o isolado da laranja 'Folha Murcha' com o qual recebeu nota média 1,5 na primeira brotação e nota média 1,2 na segunda brotação (Tabelas 1 e 2). O número de dias entre o início do choque térmico e o aparecimento de sintomas foi de 6 dias na primeira brotação e 5 dias na segunda, com o isolado da laranja 'Natal' e de 6 dias na primeira e segunda brotação, com o isolado da laranja 'Folha Murcha' (Tabelas 3 e 4).

4.3.2. Submetida à temperatura de 20°C

Quando as plantas foram submetidas à temperatura de 20°C, apenas 60% das plantas inoculadas apresentaram sintomas nas folhas da primeira brotação e 80% apresentaram sintomas na segunda brotação, quando o inóculo utilizado foi o isolado da laranja 'Natal' e somente 40% das plantas inoculadas na primeira e segunda brotação apresentaram sintomas nas folhas quando o inóculo utilizado foi o isolado da laranja 'Folha Murcha' (Tabelas 1 e 2). Os controles sadios não apresentaram sintomas. A nota média recebida foi 1,0 na primeira e segunda brotação, com o isolado da laranja 'Natal' e da 'Folha Murcha'. O número de dias entre o início do tratamento térmico e o aparecimento de sintomas foi de 7 dias na primeira brotação e 6 dias na segunda, quando o inóculo utilizado foi o isolado da laranja 'Natal' e de 8 dias tanto na primeira como na segunda brotação, com o isolado da laranja 'Folha Murcha'.

4.3.3. Submetida à temperatura de 25°C

Quando submetida à temperatura de 25°C, nenhuma das folhas das plantas da indicadora 'Madame Vinous' apresentou sintomas.

4.3.4. Mantida em temperatura ambiente

Em casa de vegetação, na temperatura média já descrita anteriormente esta indicadora não apresentou nenhuma folha com sintomas, tanto quando foi utilizado inóculo procedente da laranja 'Natal', ou da laranja 'Folha Murcha', assim como os controles sadios.

4.4. Laranja 'Baianinha' enxertada com borbulhas de quatro laranjas doces suspeitas de estarem infectadas pela sorose

4.4.1. Submetida à temperatura de 15°C

Esta indicadora apresentou na primeira brotação, quando submetida ao choque térmico de 15°C, 0% de plantas com sintomas quando enxertadas com material de clone velho suspeitos de estarem infetados pelo vírus da sorose, das seguintes variedades: laranja 'Natal', laranja 'Pera' e laranja 'Hamlin', tendo, entretanto, apresentado 100% de plantas com sintomas em folhas, quando enxertada com o clone velho também suspeito de estar infectado, da variedade laranja 'Valência' (Tabela 5). As plantas controles sadias, não apresentaram sintomas. A nota média dos sintomas apresentados foi 1,6 (Tabela 6). O tempo médio entre o início do tratamento térmico e o aparecimento de sintomas foi de 6 dias (Tabela 7).

Tabela 5. Efeito do choque térmico na manifestação de sintomas da sorose em quatro indicadoras de laranja doce enxertadas com borbulhas de quatro plantas suspeitas de estarem infetadas com este vírus.

Indicadoras	Temperatura de exposição (°C)	Nº de plantas com sintomas/inoculadas			
		Natal ^a	Pera	Valência	Hamlin
L. do Céu	15	0/5	0/5	5/5	0/5
L. Baianinha	15	0/5	0/5	5/5	0/5
L. Madame Vinous	15	0/5	0/5	4/5	0/5
L. Caipira	15	0/5	0/5	5/5	0/5
L. do Céu	ambiente	0/5	0/5	0/5	0/5
L. Baianinha	ambiente	0/5	0/5	0/5	0/5
L. Madame Vinous	ambiente	0/5	0/5	0/5	0/5
L. Caipira	ambiente	0/5	0/5	0/5	0/5

^a Plantas suspeitas de estarem infetadas com o vírus da sorose.

Tabela 6. Efeito do choque térmico na intensidade de sintomas da sorose em quatro indicadoras de laranja doce enxertadas com borbulhas de quatro plantas suspeitas de estarem infetadas com este vírus.

Indicadoras	Temperatura de exposição (°C)	Nota média dos sintomas apresentados por 5 plantas			
		Natal ^a	Pera	Valência	Hamlin
L. do Céu	15	0	0	1,6	0
L. Baianinha	15	0	0	1,4	0
L. Madame Vinous	15	0	0	1,0	0
L. Caipira	15	0	0	1,0	0
L. do Céu	ambiente	0	0	0	0
L. Baianinha	ambiente	0	0	0	0
L. Madame Vinous	ambiente	0	0	0	0
L. Caipira	ambiente	0	0	0	0

^a Plantas suspeitas de estarem infetadas com o vírus da sorose.

Tabela 7. Número médio de dias entre o início do tratamento térmico e o aparecimento de sintomas da sorose em quatro indicadoras de laranja doce, enxertadas com borbulhas de quatro plantas suspeitas de estarem infetadas com este vírus, submetidas à choque térmico.

Indicadoras	Temperatura de exposição (°C)	Nº médio de dias para manifestação de sintomas			
		Natal ^a	Pera	Valência	Hamlin
L. do Céu	15	-	-	5	-
L. Baianinha	15	-	-	6	-
L. Madame Vinous	15	-	-	7	-
L. Caipira	15	-	-	6	-
L. do Céu	ambiente	-	-	-	-
L. Baianinha	ambiente	-	-	-	-
L. Madame Vinous	ambiente	-	-	-	-
L. Caipira	ambiente	-	-	-	-

^a Plantas suspeitas de estarem infetadas com o vírus da sorose.

4.4.2. Mantida em temperatura ambiente

A indicadora laranja 'Baianinha' mantida em casa de vegetação, cuja temperatura média ambiente no período de 18 a 29 de outubro de 1991 variou de 35°C (média máxima) a 23°C (média mínima), sendo a temperatura média de 29°C, inoculada com material de clone velho conforme descrito no item 4.4.1., não apresentou sintomas em nenhuma das plantas (Tabela 5), o mesmo ocorrendo com os controles sadios.

4.5. Laranja 'do Céu' enxertada com borbulhas de quatro laranjas doces suspeitas de estarem infectadas pela sorose

4.5.1. Submetida à temperatura de 15°C

A laranja 'do Céu', utilizada como indicadora e submetida ao choque térmico de 15°C, inoculada com material de clone velho suspeitos de estarem infectados pelo vírus da sorose, apresentou 0% de plantas com sintomas, quando enxertada com a laranja 'Natal', laranja 'Pera' e laranja 'Hamlin'. Quando o material suspeito a ser testado, foi a laranja 'Valência', houve 100% de plantas com sintomas em folhas da indicadora (Tabela 5). As plantas controles sadias não apresentaram sintomas. A nota média dos sintomas

apresentados foi 1,6 (Tabela 6). O número médio de dias entre o início do tratamento térmico e o aparecimento de sintomas foi de 5 dias (Tabela 7).

4.5.2. Mantida em temperatura ambiente

A indicadora laranja 'do Céu' mantida em casa de vegetação, na temperatura média já descrita anteriormente, enxertada com material de clone velho suspeito de estar infectado pelo vírus da sorose, também descrito anteriormente, não apresentou sintomas em nenhuma das plantas (Tabela 5), o mesmo ocorrendo com os controles sadios.

4.6. Laranja 'Madame Vinous' enxertada com borbulhas de quatro laranjas doces suspeitas de estarem infectadas pela sorose

4.6.1. Submetida à temperatura de 15°C .

A indicadora laranja 'Madame Vinous' quando submetida ao choque térmico de 15°C, também apresentou 0% de plantas com sintomas nas folhas quando enxertada com material de clone velho suspeitos de estarem infetados pelo vírus da sorose, das seguintes variedades: laranja 'Natal', laranja 'Pera' e laranja 'Hamlin'; apresentou no entanto 80% de plantas com sintomas em folhas, quando enxertada com o

clone velho de laranja 'Valência' (Tabela 5). As plantas controles sadias não apresentaram sintomas. A nota média dos sintomas apresentados foi 1,0 (Tabela 6). O tempo médio entre o início do tratamento térmico e o aparecimento de sintomas foi de 7 dias (Tabela 7).

4.6.2. Mantida em temperatura ambiente

A indicadora laranja 'Madame Vinous' mantida em casa de vegetação, na temperatura média já descrita anteriormente, enxertada com material de clone velho conforme descrito no item 4.4.1, não apresentou sintomas em nenhuma das plantas (Tabela 5), o mesmo ocorrendo com os controles sadios.

4.7. Laranja 'Caipira' enxertada com borbulhas de quatro laranjas doces suspeitas de estarem infectadas pela sorose

4.7.1. Submetida à temperatura de 15°C

Esta indicadora quando submetida ao choque térmico de 15°C, também apresentou 0% de plantas com sintomas nas folhas, quando enxertada com material de clone velho das seguintes variedades: laranja 'Natal', laranja 'Pera' e laranja 'Hamlin' e 100% de plantas com sintomas em folhas quando enxertada com a laranja 'Valência' (Tabela 5).

As plantas controles sadias não apresentaram sintomas. A nota média dos sintomas apresentados foi 1,0 (Tabela 6). O tempo médio entre o início do tratamento térmico e o aparecimento de sintomas foi de 6 dias (Tabela 7).

4.7.2. Mantida em temperatura ambiente

A indicadora laranja 'Caipira' mantida em casa de vegetação, na temperatura média já descrita anteriormente, também enxertada com material de clone velho conforme descrito no item 4.4.1, não apresentou sintomas em nenhuma das plantas (Tabela 5), sendo o mesmo resultado também obtido com os controles sadios.

5. DISCUSSÃO

Nos países de climas subtropicais ou mediterrâneos como os Estados Unidos, Espanha, Itália e outros, a sintomatologia foliar da sorose dos citros é de fácil visualização nos pomares ou em plantas de casa de vegetação. Já em regiões com climas tropicais, a observação dos sintomas no campo ou em casa de vegetação é praticamente impossível durante todo o ano, devido as elevadas temperaturas prevalentes, como no caso da Venezuela e Nordeste brasileiro. Em regiões de clima tropical de altitude, como é o caso do Estado de São Paulo, somente na brotação de primavera que se desenvolve em temperatura amena ($\pm 20^{\circ}\text{C}$) é que os sintomas foliares da sorose são observáveis.

No presente trabalho ficou bem patente o efeito da temperatura na expressão de sintomas do vírus da sorose em folhas de plantas indicadoras. Demonstrou-se experimentalmente que temperaturas na faixa de 29 a 30°C são inadequadas à manifestação de sintomas foliares da sorose. Apenas as indicadoras mais sensíveis apresentaram sintomas fracos à 25°C. Com a temperatura a 20°C, a maioria das plan-

tas apresentou sintomas foliares classificados como médios, exceto a laranja 'Madame Vinous' que, embora seja muito utilizada em diversos países, como indicadora bastante sensível, neste experimento apresentou sintomas fracos. Com o choque térmico a 15°C, os sintomas foliares foram fortes na laranja 'Baianinha' e 'do Céu' e médio na 'Madame Vinous' (Tabelas 1 e 2). O fato da 'Madame Vinous' não apresentar sintomas a 25°C, apresentar sintoma fraco a 20°C e médio a 15°C, pode ser devido a luminosidade da câmara de crescimento, inadequada a esta indicadora ou mais provavelmente, à sua menor sensibilidade.

Os resultados mostraram que quanto mais baixa foi a temperatura, maior foi a intensidade de sintoma nas folhas das indicadoras. Seria de se esperar que em temperatura ainda mais baixas, os sintomas fossem se acentuando. Entretanto, é sabido que temperaturas na faixa de 12 a 13°C podem paralisar o crescimento das plantas cítricas (REUTHER, 1973). Esse é o principal motivo da escolha de 15°C como a temperatura mais baixa neste experimento.

Embora os resultados obtidos no primeiro e segundo experimentos apontem a baixa temperatura como principal fator de manifestação de sintomas em folhas das plantas indicadoras para o vírus da sorose, não houve como concluir se a baixa temperatura age sobre o vírus, aumentando a sua concentração e conseqüentemente a manifestação de sintomas, ou, se tem um efeito sobre a planta predispondo-a,

tornando-a mais sensível, ou, ainda se atua na interação de ambos. Investigações neste sentido são importantes, entretanto no presente difíceis de serem realizadas, uma vez que o vírus da sorose A não foi totalmente caracterizado.

O efeito da baixa temperatura na manifestação de sintomas é importante não só para a sorose dos citros, mas também, para outras viroses em culturas de importância no país. Assim, KUNIYUKI (1988) trabalhando com o vírus do mosaico das nervuras da videira, observou que os sintomas em plantas indicadoras mesmo fora de casa de vegetação, não se tornavam visíveis ou apareciam em poucas plantas, durante períodos prolongados de muito calor. O autor interpretou que, nestes períodos, as folhas jovens logo tornam-se rígidas e amareladas, principalmente nas plantas não bem estabelecidas em vasos ou mesmo no solo, impossibilitando a observação de sintomas. Menciona o autor, que experimentalmente, não é tarefa fácil demonstrar esse fato, mas, julga bastante provável, que assim seja, pois sintomas podem se manifestar em plantas de crescimento vigoroso mesmo no verão, quando sobreveem um período de temperatura amena. Conclui que a ocorrência de sintomas na brotação de primavera quando a temperatura está amena ($\pm 20^{\circ}\text{C}$) era devido possivelmente ao fato das folhas permanecerem sob condição jovem por um período de tempo maior. Esta conclusão é bastante razoável uma vez que nas plantas cítricas deste experimento com o vírus da sorose observou-se o mesmo fato.

Apesar de investigações visando demonstrar o efeito da baixa temperatura na manifestação de sintomas em folhas de plantas indicadoras para o vírus da sorose não terem sido feitas, encontramos na literatura um trabalho bastante interessante, mostrando o efeito da baixa temperatura na expressão de sintomas, relacionando-a com a concentração de vírus na cultura do melão. Este trabalho foi realizado por FOSTER & WEBB (1965), inoculando seis vírus individualmente em plantas jovens de melão (*Cucumis melo* L. var. *reticulatus* Naud, cv. PMR 45). Os vírus utilizados foram: vírus do mosaico da melancia-1, atualmente denominado vírus do mosaico do mamoeiro-estirpe melancia ("Papaya ringspot virus - type W"; vírus do mosaico da melancia-2 ("Watermelon mosaic virus-2"); vírus do mosaico da abóbora ("Squash mosaic virus"); vírus do mosaico do pepino ("Cucumber mosaic virus"); vírus latente das cucurbitáceas ("Cucurbit latent virus"), vírus da necrose estriada do melão ("Muskmelon necrotic fleck virus"). As plantas inoculadas com estes vírus, foram submetidas a três diferentes temperaturas constantes: de 18,3; 29,4 e 40,6°C. Entre quarenta e quarenta e oito dias após a inoculação, amostras de folhas jovens foram retiradas para verificação da concentração dos vírus. Através dos resultados obtidos, os autores concluíram que a temperatura é mais importante para a planta do que para o vírus, uma vez que as melhores expressões de sintomas foram obtidas na temperatura de

18,3°C para cinco dos seis vírus estudados, sendo que, com o vírus latente das cucurbitáceas não apareceram sintomas em nenhuma das plantas e a concentração dos vírus variaram de vírus para vírus, nas três temperaturas estudadas. Neste trabalho, os autores demonstraram portanto, não haver correlação entre a maior ou menor concentração do vírus com a intensidade de sintomas, e sim a temperatura predispondo a planta ao efeito do vírus, o que pode também ser verdadeiro no caso da sorose dos citros.

Além da temperatura, a planta indicadora e o isolado do vírus são fatores que determinam a intensidade de sintomas, conforme pode ser verificado nos resultados deste experimento (Tabelas 1, 2 e 6).

No caso do presente trabalho, as laranjas doces 'Baianinha' e 'do Céu' comportaram-se como indicadoras mais sensíveis quando comparadas com a laranja 'Caipira' e 'Madame Vinous', pois apresentaram manifestações e intensidade de sintomas superiores a estas outras duas indicadoras (Tabelas 1, 2, 5 e 6). Quanto aos isolados do vírus da sorose, estes devem fazer parte de um complexo, que contém variantes que causam sintomas mais fortes ou mais fracos podendo este fato ser constatado nos resultados do primeiro e segundo experimento, nos quais a mesma indicadora submetida a mesma temperatura, inoculada com isolados retirados de várias plantas, apresentaram intensidades de sintomas diferentes (Tabela 1, 2 e 6).

6. CONCLUSÕES

Os resultados do presente trabalho permitem que sejam tiradas as seguintes conclusões:

- a temperatura é um fator primordial na manifestação de sintomas foliares em plantas indicadoras inoculadas com o vírus da soróse dos citros;

- o choque térmico de 15°C durante um período de 3 a 6 dias mostrou-se o mais adequado para manifestação de sintomas;

- as laranjas doces 'Baianinha' e 'do Céu' são indicadoras bastantes sensíveis para testes de indexação biológica para o vírus da sorose, desde que submetidas ao choque térmico acima;

- A origem do isolado do vírus da sorose influenciou na intensidade de sintomas, nas condições do presente trabalho;

- testes de indexação biológica para o vírus da sorose nas condições de São Paulo podem também ser realizadas nas épocas quente do ano, desde que as plantas indicadoras sejam submetidas a choque térmico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENATENA, H.N.; PORTILLO, M.M. Natural spread of psorosis in sweet orange, seedlings. In: GARNSEY, S.M.; TIMMER, L.W.; DODDS, J.A. (ed.). Proc. 9th Conf. Inter. Organ. Citrus Virol. pp.159-64. Univ. California Press, Riverside, Califórnia, 1984.
- BITANCOURT, A.A. Relação das doenças e fungos parasitas observados na Seção de Fitopatologia durante os anos de 1931 a 1932. Arquivos do Instituto Biológico, 5: 185-96, 1934.
- BRIDGES, G.D.; YOUTSEY, C.O.; NIXON Jr., R.R. Observations indicating psorosis transmission by seed of Carrizo citrange. Proc. Fla. State Hortic. Soc., 78: 48-50, 1965.
- CALAVAN, E.C.; MATHER, S.M.; Mc EACHERN, E.H. Registration, Certification, and indexing of citrus trees, p.185-222. In: W. REUTHER, E.C. CALAVAN, G.E. CARMAN (eds.). The Citrus Industry, Vol. IV. Univ. Cal. Div. Agric. Sci. Berkeley, Califórnia, 1978.
- CALVERT, L.A.; LEE, R.F.; HIEBERT, E. Complementary DNA cloning of Citrus variegation virus characterization of the RNA species with these probes. In: Abstracts the 10th Conf. IOCV. p.114, Spain, 1986.

- CAMPIGLIA, H.G.; SILVEIRA, C.M.; SALIBE, A.A. Psorosis transmission through seeds of trifoliate orange. p.132-4. In: Proc. 7th Conf. IOCV Univ. Calif., Riverside, 1976.
- CHIARAPPA, L. A World Wide list of Virus-Indexed Propagating Material - Section II: Citrus. p.52. Plant Production and Protection-Division. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 1966.
- FAWCETT, H.S. New angles on treatment of bark diseases of citrus. California Citrograph., 17: 406-8, 1932.
- FAWCETT, H.S. New symptoms of psorosis indicating a virus disease of Citrus. Phytopathology, 23: 930, 1933.
- FAWCETT, H.S. Is psorosis of citrus a virus disease? Phytopathology, 24: 659-68, 1934.
- FAWCETT, H.S. Citrus diseases and their control. McGraw Hill Book Co., Inc., New York and London, 1936. 656p.
- FAWCETT, H.S.; GRILLO, H.V.S.; BITANCOURT, A.A.; MULLER, A.S. Relatório sobre as doenças dos citrus no Distrito Federal, Estado do Rio de Janeiro e Minas Gerais. Rodriguésia, 2: 329-344, 1936.
- FAWCETT, H.S. & BITANCOURT, A.A. Relatório sobre as doenças dos citrus nos Estados de Pernambuco, Bahia, São Paulo e Rio Grande do Sul. Rodriguésia, 10: 213-36, 1937.
- FAWCETT, H.S. & BITANCOURT, A.A. Comparative symptomatology of psorosis varieties on Citrus in California. Phytopathology, 33: 847-64, 1943.

FAWCETT, H.S. & KLOTZ, L.J. Types and symptoms of psorosis-like diseases of Citrus. *Phytopathology*, 28: 670, 1938.

FAWCETT, H.S. & KLOTZ, L.J. Infections variegation of Citrus. *Phytopathology*, 29: 911-2, 1939.

FAWCETT, H.S. & KLOTZ, L.J. Diseases and their control. Cap. XI. pp.495-596. In: L.D. BATCHELOR & H.J. WEBBER (eds.). *The Citrus Industry*, v.II. University of California Press,, Berkeley and Los Angeles, 1948.

FOSTER, R.E. & WEBB, R.E. Temperature effects on symptom expression and concentration of six muskmelon viruses. *Phytopathology*, 55: 981-5, 1965.

GARCIA, M.L.; ARRESE, E.L.; GRAU, O.; SARACHU, A.N. Citrus psorosis disease agent behaves as a two component ssRNA virus. pp.337-344. In: BRLANSKY, R.H.; LEE, R.F.; TIMMER, L.W.(eds.). *Proc. of the 11th Conf. of the Intern. Organization Citrus Virol. Univ. of California, Riverside, 1991.*

GARNSEY, S.M. Purification and serology of a Florida isolate of citrus variegation virus. pp.169-75. In: 6th Conf. IOCV Univ. Calif. Dir. Agr. Sci., Richmond, 1974.

GRANT, T.J. Effect of heat treatment on tristeza and psorosis viruses in citrus. *Plant Dis. Repr.*, 41(4): 232-4, 1957.

GUIRADO, N.; MÜLLER, G.W.; BETTI, J.A.; PRATES, H.S. Manifestação rápida de sintomas foliares do vírus da sorose dos citros em ambiente refrigerado. *Fitopatologia Brasileira*, 11: 336, 1986a.

- GUIRADO, N.; MÜLLER, G.W.; PRATES, H.S.; BETTI, J.A.; ARRUDA, H.B. Avaliação de 7 variedades de laranja doce e 2 tangerinas como indicadoras para o vírus da sorose dos citros. *Summa Phytopathologica*, 12: 30, 1986b.
- KUNIYUKI, H. Vírus do mosaico das nervuras da videira no Estado de São Paulo. Piracicaba, 1988. 96p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- LAROCCA, L.H. La citricultura en la provincia de Entre Rios. Actas Jornadas Técnicas XVI Fiesta Nacional de la Citricultura. INTA, 1984. p.42-51.
- LEE, H.A. Califórnia scaly bark and bark rot of citrus trees in Phylippines. *Philippine Agr. Rev.*, 16: 219-25, 1923.
- LEVY, L. & GUMPF, D.J. Studies on the psorosis disease of a flexuous virus associated with the disease. p.319-36. In: BRLANSKY, R.H.; LEE, R.F.; TIMMER, L.W. (eds.). Proc. of the 11th Conf. of the Intern. Organization Citrus Virol. Univ. of California, Riverside, 1991.
- MALAGUTI, G. & KNORR, L.C. Psorosis in Venezuela. An emendation. p.57-9. In: W.C. PRICE (ed.). Proc. and Conf. Intern. Organization Citrus Virol. Univ. Fla. Press Gainesville, 1961.
- MALAGUTI, G. & STONER, W.N. Psorosis de las citricas em venezuela. *Agron. Trop.*, Maracay, 4(3): 127-49, 1954.

- MONTEVERDE, E.; DELGADO, L.; RUIZ, J.R.; ESPINOZA, M. Sintomatología del virus de la Psorosis en el Cultivar de Naranja "Hamlin" (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) Bajo condiciones controladas en cámara de crecimiento. *Asociacion Latinoamericana de Fitopatologia*, 15(1): 73-7, 1980.
- PASSOS, O.S. Absence of young-leaf symptoms of psorosis in the State of Bahia, Brazil. p.167-9. In: W.C. PRICE (ed.). *Proc. 3th Conf. Intern. Organization Citrus Virol.* Univ. Florida Press, Gainesville, 1965.
- PASSOS, O.S.; COELHO, Y.S.; PINTO DA CUNHA SOBRINHO, A. More information on psorosis disease in Bahia, Brazil. In: WEATHERS, L.G.; COHEN, M. (eds.). *Proc. 6th Conf. IOCV.* University of California, Riverside, p.135-8, 1974.
- PRICE, W.C. Translocation of tristeza and psorosis viruses. In: CHILDS, J.F.L. (ed.). *Proc. 4th Conf. Intern. Organ. Citrus Virol.* p.52-8. Univ. Florida Press, Gainesville, 1968.
- PUJOL, A.R. Transmisión de Psorosis através de la semilla de Citrange Troyer, INTA, Cent. Reg. Entrerriano Ser. Téc. N° 10: 1-7, 1966.
- REUTHER, W. Climate and citrus behavior. In: *The Citrus Industry.* Univ. of California, vol. 3, p.280-337, 1973.
- ROISTACHER, C.N. Detection of Citrus Viruses by Graft transmission: A Review. pp.175-84. In: *Proc. 7th Conf. IOCV,* Riverside, 1976.

ROISTACHER, C.N. & BLUE, R.L. A psorosis like virus causing symptoms only on Dweet tangor. In: CHILDS, J.F.L. (ed.). Proc. 4th Conf. Intern. Organ. Citrus Virol., p.13-8. Univ. Fla. press, Gainesville, Fla. 1968.

ROISTACHER, C.N. & NAUER, E.M. A comparison of certain sweet orange varieties as indicators for concave gum and psorosis viruses. Plant Dis. Repr., 48: 56-9, 1964.

SWINGLE, W.T. & WEBBER, H.J. The principal diseases of citrus fruits in Florida, U.S. Dept. Agr. Div. Veg. Phys. & Path. Bull, 8: 1-42, 1896.

UYEDA, I. & MINK, G.I. Relationship among some ilarviruses: Proposed revision of subgroup A. Phytopathology, 73: 47-50, 1983.

WALLACE, J.M. Technique for hastening foliage symptoms of psorosis of citrus. Phytopathology, 35: 535-41, 1945.

WALLACE, J.M. Virus-strain interference in relation to symptoms of psorosis disease of citrus. Hilgardia, 27: 223-46, 1957.

WALLACE, J.M. Psorosis A, blind pocket, concave gum, crinkly leaf, and infectious variegation. In: CHILDS, J.F.L. (ed.). Indexing procedures for 15 virus diseases of citrus tress, pp.5-15. U.S. Dept. Agr. Res. Serv., Agr. Handbook 333. Washington, D.C., 1968.