

# Vírus da mancha amarela da gravioleira: transmissão, hospedeiros, purificação e produção de anti-soro<sup>1</sup>

## Soursop yellow blotch virus: transmission, hosts, purification and antiserum production

Maria do Carmo Lopes da Silva<sup>2</sup>, Carmem Dolores Gonzaga Santos<sup>3</sup>, Antonio Apoliano dos Santos<sup>4</sup>  
e José Albérico de Araújo Lima<sup>5</sup>

**Resumo** - A gravioleira, *Annona muricata* L., apresenta crescente demanda de frutos para a agroindústria no Nordeste brasileiro e estados da Amazônia e de Minas Gerais. A produtividade desta fruteira é função da variedade, dos tratamentos culturais recebidos e da sanidade das plantas. Dentre as enfermidades que afetam a cultura, destaca-se a mancha amarela da gravioleira, causada pelo rhabdovírus *Soursop yellow blotch virus* (SYBV), patógeno que compromete o desenvolvimento das plantas e afeta a produção da fruteira. Foram objetivos deste trabalho: estudar a transmissão do vírus por inoculação via extrato vegetal tamponado e por enxertia para variedades de gravioleiras e outras anonáceas; identificar hospedeiros alternativos do vírus, investigar a transmissão por instrumentos cortantes e por insetos em graviola; purificar e produzir anti-soro para o vírus. Os resultados mostraram que o vírus foi transmitido por seiva e por enxertia apenas para as gravioleiras 'AB', 'Crioula', 'Lisa' e 'Morada' e para as anonáceas *A. squamosa* L., e biribá, *Rollinia mucosa* (Jacq.) Bail. Não houve transmissão com emprego de instrumentos cortantes. Nas condições estabelecidas neste trabalho não foi possível a identificação do vetor desse rhabdovírus. A purificação do SYBV possibilitou a obtenção de anti-soro policlonal, o qual permitiu a detecção de infecção inicial tanto em plantas já estabelecidas no pomar como em mudas assintomáticas, contribuindo para a obtenção de mudas sadias.

**Termos para indexação:** *Annona muricata*, Soursop yellow blotch virus, Cytorhabdovirus.

**Abstract** - Soursop tree, *Annona muricata* L., presents an increasing industry demand in several regions of Brazil, particularly in the Northeast and Amazon and Minas Gerais states. The productivity of this fruit crop is highly dependent on the variety, on cultural practices and on the health of the crop. The yellow blotch is the main disease that affects the soursop tree. It's caused by the rhabdovirus *Soursop yellow blotch virus* (SYBV), which reduces the plant development and yield. The present work had the following objectives: study the transmission of SYBV for soursop and other anonaceae species by sap and graft transfusion; identify alternative hosts of the virus; investigate the transmission of the virus by cutting instruments and insects vectors; purify and raise a polyclonal antiserum specific for the virus. The results showed that SYBV was transmitted by sap and graft only to soursop trees (cvs. 'AB', 'Crioula', 'Lisa' and 'Morada') and to the anonaceae species sweetsop, *A. squamosa* L., and biriba, *Rollinia mucosa* (Jacq.) Bail). There was not transmission with cutting instruments and with three different insects under the conditions established in this work. The cleaning of the SYBV permitted to acquire a polyclonal antiserum, which was used to detect the virus in plants under orchards conditions, as well as in asymptomatic leaves of young infected plants. The antiserum contributes to get healthy seedlings for the vegetative propagation of soursop.

**Index terms:** *Annona muricata*, Soursop yellow blotch virus, Cytorhabdovirus.

<sup>1</sup> Recebido para publicação em 07/01/2005; aprovado em 06/12/2005.

Parte da dissertação do primeiro autor, financiada pela FUNCAP e apresentada ao Dep. de Fitotecnia, CCA/UFC para obtenção do grau de Mestre em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia.

<sup>2</sup> Eng. Agrônoma, Mestre em Fitotecnia pela UFC

<sup>3</sup> Eng. Agrônoma, D. Sc., Profa. do Dep. de Fitotecnia, CCA/UFC, Caixa Postal, 12.168, Campus do Pici, CEP 60.455-970, Fortaleza, CE, carmelo@ufc.br

<sup>4</sup> Eng. Agrônomo, D. Sc., Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, apoliano@cnpat.embrapa.br

<sup>5</sup> Eng. Agrônomo, Ph. D., Prof. do Dep. de Fitotecnia, CCA/UFC, Fortaleza, CE, albersio@ufc.br

## Introdução

A gravioleira (*Annona muricata* L.) é uma importante fruteira tropical, com crescente demanda de frutos para a agroindústria, principalmente no Nordeste Brasileiro e nos estados da Amazônia e Minas Gerais (Calzavara & Muller, 1987). A exploração da gravioleira consistia basicamente da obtenção de frutos para o preparo de refrescos e sorvetes e para o consumo *in natura*. No entanto, com o desenvolvimento da indústria de frutas no Nordeste, a gravioleira vem sendo cultivada em escala comercial por empresas ligadas ao setor (Lopes et al., 1994). Atualmente, grande parte da produção é comercializada para consumo *in natura*, especialmente nos mercados de Brasília, Fortaleza, Recife, Rio de Janeiro e São Paulo (José, 2003).

A produtividade da gravioleira no Brasil difere em função da variedade, dos tratamentos culturais recebidos e da tecnologia adotada pelos produtores (José, 2003). A cultura pode apresentar diversos tipos de problemas que comprometem a produção, merecendo destaque aqueles relacionados à ocorrência de pragas e doenças durante a fase de frutificação (Junqueira et al., 1996). Dentre as doenças que afetam esta anonácea, destaca-se a mancha amarela da gravioleira, causada pelo rhabdovírus *Soursop yellow blotch virus* (SYBV) (Martins et al., 1999).

O SYBV pertence ao gênero *Cytorhabdovirus* da família *Rhabdoviridae*, o qual se caracteriza pelas partículas baciliformes envoltas por envelope lipídico, cuja replicação e maturação ocorrem no citoplasma de células infectadas. Os rhabdovírus de plantas são transmitidos por afídeos, cigarrinhas, percevejos ou ácaros, havendo relatos de longos períodos de latência e de sua multiplicação no vetor (Van Regenmortel et al., 2000).

No Brasil, esta virose foi constatada pela primeira vez em 1988 em gravioleiras cultivadas na Estação Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Ceará (Epace), em Pacajus (Kitajima & Santos, 1989) e, atualmente está presente em plantios comerciais nos municípios de Barreiras, Cascavel, Fortaleza, Paracuru, Limoeiro do Norte e Itaitinga, todos localizados no Estado do Ceará (Cardoso et al., 2002). Em 2002, o vírus estava presente em 24% das plantas existentes na área experimental e a sintomatologia apresentada pelas plantas era a seguinte: folhas com clareamento de nervuras e manchas amareladas difusas sem contornos definidos, distorção foliar e redução de desenvolvimento das plantas (Kitajima et al., 1993). Posteriormente, Cardoso et al. (2002) observaram que os frutos das plantas infectadas apresentavam-se pequenos e deformados. Nas plantas adultas havia características de declínio, com folhas menores que as de plantas sadias e

um progressivo decréscimo na produção. Em plantios originados a partir de mudas da variedade Crioula infectadas com o SYBV já foram registrados 100% de perdas da produção na primeira safra (Santos et al., 2002). Casos de morte provocados pela virose, contudo, não foram ainda observados (Cardoso et al., 2002). Os sintomas descritos são considerados típicos do SYBV e uma outra infecção viral ainda não foi relatada nessa cultura.

Em virtude da crescente ameaça do SYBV para a gravioleira no Ceará e da importância que a disseminação do vírus representa para a cultura nas regiões produtoras, tornaram-se objetivos deste trabalho: estudar a transmissão do vírus por inoculação via extrato vegetal tamponado e por enxertia; para as variedades mais exploradas ('AB', 'Crioula', 'Lisa' e 'Morada') e para outras anonáceas; identificar hospedeiros alternativos do vírus, investigar a transmissão por instrumentos cortantes e por vetor em graviola, purificar e produzir anti-soro específico para o vírus.

## Material e Métodos

### Fonte de vírus

O isolado do SYBV utilizado neste trabalho foi obtido de plantas de gravioleiras 'Crioula' infectadas provenientes do Campo Experimental de Pacajus da Embrapa Agroindústria Tropical, exibindo manchas amarelas no limbo foliar características da virose (Cardoso et al., 2002). As mudas sadias das gravioleiras e demais anonáceas empregadas nos ensaios foram obtidas com a colaboração da Embrapa Agroindústria Tropical. Os ensaios experimentais e testes foram conduzidos em casa de vegetação e nos laboratórios de Virologia Vegetal da Universidade Federal do Ceará.

### Transmissão Artificial do Vírus

#### Inoculação Mecânica

Mudas sadias no estágio de duas a quatro folhas das gravioleiras 'AB', 'Crioula', 'Lisa' e 'Morada' e das anonáceas *A. squamosa* L., araticum (*A. crassiflora* Mart.), araticum do brejo (*A. glabra* L.), biribá (*Rollinia mucosa* (Jacq.) Bail), condessa (*A. reticulata* L.) e ylang-ylang (*Cananga odorata* (Lam.) Hook) foram inoculadas mecanicamente com extrato de folhas de 'Crioula' infectadas com SYBV. O inóculo foi preparado na presença de tampão de fosfato de sódio 0,01M pH 7,0 acrescido de 2-mercaptoetanol a 0,1% ou de sulfito de sódio a 0,1%, dada a presença de alcalóides na seiva, sendo friccionado na superfície adaxial das folhas polvilhadas com carborundum. O número de plantas inoculadas variou em razão das

anonáceas apresentarem dormência e variação no percentual de plantas germinadas.

Na investigação de espécies vegetais indicadoras de vírus, foram inoculadas *Chenopodium quinoa* Willd., *C. murale* L., *Nicandra physaloides* L., *Physalis floridana* Rydb, *Datura stramonium* L., *D. metel* L., *Solanum melongena* L., *Lycopersicon esculentum* Mill., *Cucumis melo* L., *Clitoria ternatea* L., *Macroptilium atropurpureum* (DC) Urban, *M. lathyroides* Urban, *Cassia occidentalis* L., *Centrosema brasilianum* L. e *Vigna unguiculata* (L.) Walp. O procedimento da inoculação mecânica foi similar ao anteriormente descrito. O extrato vegetal empregado nessas inoculações foi também inoculado em plantas jovens de ‘Crioula’ para controle da qualidade do inóculo. Para a avaliação dos resultados das indicadoras considerou-se o surgimento de infecção, principalmente do tipo localizada. Para a confirmação da infecção procedeu-se a retroinoculação em mudas de ‘Crioula’, decorridos 30 dias da inoculação nas plantas.

#### Inoculação por Enxertia

O inóculo utilizado foi proveniente de plantas de ‘Crioula’ infectadas com dois a três meses da inoculação. Na enxertia, utilizou-se lâmina esterilizada tanto para retirada dos fragmentos (seções de ramos e pecíolos) de plantas infectadas como para seccionar os ápices de mudas sadias. Enxertaram-se mudas de gravioleiras: ‘AB’, ‘Crioula’, ‘Lisa’ e ‘Morada’ e de ata, araticum, araticum do brejo, biribá, condessa e ylang-ylang no estágio de dez a 12 folhas. As seções foram fixadas ao ápice com auxílio de filme de PVC e de prendedores plásticos.

#### Inoculação por Instrumentos Cortantes

Nesse ensaio empregaram-se canivete, lâminas e tesoura de poda para efetuar cortes em mudas sadias de graviola ‘Crioula’, no estágio de oito a 12 folhas, utilizando-se duas formas de contaminação dos instrumentos. Na primeira, os instrumentos foram imersos em extrato vegetal obtido com solução tampão, o mesmo usado na inoculação mecânica, ferindo-se as mudas ao longo do caule. Na outra forma, os instrumentos foram contaminados com a seiva a partir de cortes efetuados diretamente no caule de plantas da variedade ‘Crioula’ infectadas com SYBV, ferindo-se, em seguida, o caule das mudas sadias, simulando tratamentos culturais em campo. Em ambos os experimentos, empregaram-se 10 mudas para cada instrumento num total de 60 plantas testadas.

#### Transmissão do Vírus por Inseto

Em ensaios visando a identificação do vetor do SYBV, foram utilizados os seguintes insetos: soldadinho - *Membrancis foliata* Richter (Homoptera: Membracidae), pulgão-verde da graviola - *Aphis* sp. (Homoptera:

Aphididae) e cigarrinha-verde - *Empoasca* sp. (Homoptera: Cicadellidae), pragas comuns a essa fruteira e nas quais formam colônias e se estabelecem. Os insetos foram coletados em gravioleiras sabidamente infectadas pelo SYBV no pomar do Campo Experimental de Pacajus da Embrapa Agroindústria Tropical, onde era elevado o índice de plantas afetadas pelo vírus. A coleta dos insetos foi realizada a partir de folhas de ramos jovens, as quais já exibiam as manchas amarelas típicas da infecção pelo rhabdovírus. Com o auxílio de um pincel fino, grupos de 10 a 15 insetos foram transferidos diretos para mudas de graviola ‘Crioula’ sadia (com duas a quatro folhas), onde permaneceram retidos por meio de gaiolas confeccionadas com tubos plásticos transparentes cobertos com escaline. As mudas com os insetos foram, em seguida, conduzidas para o laboratório permitindo-se um período de acesso de inoculação do vírus de quatro dias, após o qual afídeos, cigarrinhas e soldadinhos foram eliminados manualmente. A passagem direta dos insetos de ramos de plantas infectadas para mudas sadias foi adotada em virtude da frequência com que estes homópteros morriam sob manipulações consecutivas de plantas adultas para plantas jovens infectadas e destas para mudas sadias. Considerou-se ainda que insetos obtidos de colônias estabelecidas em plantas no campo possuem maior período de acesso de aquisição viral. As repetições dos testes de transmissão do vírus para mudas de graviola totalizaram cinco para pulgões e cigarrinha e três para soldadinhos. Em ensaios preliminares conduzidos com a mosca branca, *Bemisia tabaci* biótipo B (Homoptera: Aleyrodidae), observou-se 100% de morte dos indivíduos após 48 horas em folhas de gravioleira infectada, e por esta razão esse inseto foi excluído dos testes. A morte dos insetos ocorreu, provavelmente, em razão da gravioleira não ser boa hospedeira da mosca branca.

Todas as mudas inoculadas: via extrato e por enxertia, por instrumentos cortantes ou por insetos, juntamente com as respectivas testemunhas (mudas sem inoculação), foram transferidas para casa de vegetação (35-37°C e 65-70% UR) onde permaneceram de 30 a 60 dias para observação do surgimento de sintomas.

#### Purificação do Vírus e Produção de Anti-soro

O procedimento para a purificação do SYBV foi baseado no método adotado por Martins et al. (1999), porém, com modificações. Folhas jovens de graviola ‘Crioula’ com sintomas típicos do SYBV foram trituradas em liquidificador na presença de tampão I (Tris-HCl 50 mM pH 8,0; manitol 150 mM; MgCl 40 mM; Dieca 50 mM) na proporção 1:6 (p/v). Após filtrado, o extrato foi submetido a um ciclo de centrifugação diferencial (7.800 g por 10 min e 35.000 g por 30 min). A suspensão obtida a partir do “pellet” com o tampão I foi

disposta no topo de um gradiente de sacarose nas concentrações 10, 20, 30, 40 e 50% preparadas em tampão II (Tris-HCl 50 mM pH 8,0; Dieca 10 mM; EDTA 10 mM), procedendo-se, em seguida, a uma centrifugação a 53.000 g por 60 min. A banda viral, formada a 2/3 do topo do tubo, foi recolhida em tampão II e centrifugada a 35 000g por 60 minutos. O “pellet” obtido foi ressuspensão no tampão III (Tris-HCl 10 mM pH 7,8) e a preparação viral acondicionada a 5 °C.

O anti-soro para o SYBV foi obtido a partir de imunizações em coelho da raça Nova Zelândia. Para tanto, a preparação viral foi emulsificada com o adjuvante de Freund na proporção 1:1 (v/v) e injetada no animal mediante três injeções semanais via intramuscular e coxim-plantar. As sangrias semanais, em número de sete, foram iniciadas 30 dias após a primeira injeção do vírus no animal.

Considerando-se que o método de purificação não promove a eliminação total de proteínas vegetais (Martins et al., 1999), para evitar reações inespecíficas em testes sorológicos procedeu-se à absorção do anti-soro com extrato de planta sadia. Assim, a uma parte do anti-soro proveniente de cada sangria, adicionaram-se nove partes de extrato vegetal de gravioleira sadia obtido na presença de uma solução constituída de polivinilpirrolidona 2%, Dieca 0,17%, albumina 0,2% e azida sódica 0,02%. Após permanecer 1 h a 37 °C e 16 h a 5 °C a mistura foi centrifugada a 3.000 g por 10 min e os anti-soros, assim absorvidos, foram armazenados a -20 °C.

### Testes Sorológicos

#### Preparo do extrato e do anti-soro

O Elisa indireto (Almeida & Lima, 2001) foi empregado para a confirmação da infecção viral nas plantas inoculadas e também para investigação da presença de vírus em folhas ainda assintomáticas de gravioleira infectada.

Inicialmente os anti-soros foram testados nas diluições de 1:1.000, 1:2.000, 1:3.000, 1:4.000, 1:6.000 e 1:12.000 e o extrato vegetal da planta infectada nas diluições 1:10, 1:100, 1:200, 1:300, 1:400, 1:500, 1:1.000, 1:5.000 e 1:10.000 em diversas combinações. Uma vez definidas as melhores diluições, realizaram-se testes com os anti-soros obtidos das sete sangrias para verificar a qualidade dos mesmos e definir o seu emprego na detecção viral. Folhas novas (tenras e assintomáticas), intermediárias (com plenos sintomas, porém menos tenras) e velhas (com manchas amarelas, contudo, coriáceas) obtidas de um mesmo ramo de plantas de ‘Crioula’ com oito a dez meses de infectadas, foram testadas para a definição do melhor tipo de folha a ser usada nos testes sorológicos.

## Resultados e Discussão

Todas as variedades de gravioleira e outras duas espécies de anonáceas, ata e biribá, foram infectadas pelo SYBV. A infecção dessas plantas foi confirmada por Elisa. Em geral, a inoculação mecânica foi realizada com mais sucesso que a enxertia. As infecções foram mais frequentes nas variedades ‘Crioula’, ‘AB’ e ‘Morada’ que em ‘Lisa’ (Tabela 1). Os sintomas iniciais de clareamento de nervuras surgiram nas quatro gravioleiras duas semanas após a inoculação, em ambos os métodos empregados. Sintomas iniciais similares, porém surgidos de três a seis semanas, foram observados em gravioleiras inoculadas em estágio mais desenvolvido com o mesmo vírus por Kitajima et al. (1993), o que indica que a infecção precoce provavelmente está associada ao emprego de mudas mais jovens nas inoculações.

Em ‘Crioula’, 30 dias após a inoculação, foi possível observar a presença de algumas manchas amarelas em folhas intermediárias e velhas. Nas folhas mais novas essas manchas eram menos frequentes ou até mesmo ausentes, contudo o vírus pôde ser detectado. Redução no porte da planta e diversas manchas amarelas, típicas da virose, estabeleceram-se aproximadamente 60 dias após a inoculação (Figura 1a e b). Nas demais variedades a evolução dos sintomas foi similar àquela observada em ‘Crioula’, porém as manchas amarelas foram menos intensas. Sintomas de distorção foliar e morte não foram observados nas plantas durante toda a duração do experimento (15 meses). Este resultado difere do obtido por Martins et al. (1999), que relataram a ocorrência de necrose nas folhas e morte de gravioleiras doze meses após a infecção pelo SYBV.

Todas as plantas de ata infectadas pelo SYBV apresentaram pontuações cloróticas, manchas amarelas e redução do desenvolvimento, enquanto que em biribá nas plantas infectadas observou-se mosqueado, que evoluiu para mosaico com pontos necróticos nas folhas desenvolvidas após inoculação. Em ambos os casos, a infecção foi confirmada por sorologia. Resultados diferentes destes foram obtidos por Kitajima et al. (1993), os quais não observaram infecção do SYBV em plantas de ata e biribá inoculadas mecanicamente ou por enxertia. Plantas das demais anonáceas (araticum do brejo, araticum, condessa e ylang-ylang) não apresentaram sintomas de infecção pelo vírus com resultados negativos em Elisa. Resultados distintos foram observados por Martins et al. (1999), os quais verificaram a infecção viral em plantas de condessa inoculadas mecanicamente e por enxertia. A variação existente entre os dados relativos às hospedeiras e aos sintomas induzidos pelo SYBV obtidos neste trabalho com aqueles constatados por outros autores, sugere a ocorrência de estirpes do vírus

**Tabela 1** - Percentual de variedades de graviola e de outras anonáceas infectadas com o SYBV por inoculação mecânica e por enxertia.

Gravioleira ou Espécie vegetal	Inoculação via extrato tamponado		Inoculação por enxertia	
	Planta infectadas*/ plantas inoculadas	Percentual	Plantas infectadas*/ Plantas inoculadas	Percentual
Graviola Crioula	38/91	42	24/70	34
Graviola AB	16/41	39	5/22	23
Graviola Morada	13/44	30	6/24	25
Graviola Lisa	4/17	24	2/10	20
Ata	8/34	24	3/18	17
Biribá	14/36	39	5/19	26
Araticum do Brejo	0/28	0	0/18	0
Araticum	0/28	0	0/22	0
Condessa	0/20	0	0/20	0
Ylang-ylang	0/18	0	0/12	0

\* Plantas com sintomatologia definida após 30 dias da inoculação.



vido sugerido que a disseminação do SYBV no campo está associada a tratos culturais ou a ação de artrópodes (Santos et al., 2003). Contudo, nas 60 tentativas de transmissão do vírus para mudas de 'Crioula' com instrumentos cortantes realizadas neste trabalho, as plantas não foram infectadas. O insucesso da transmissão pode, em



**Figura 1** - Gravioleira 'Crioula' infectada com o *Soursop yellow blotch virus* apresentando: **A**- manchas amarelas em folhas intermediárias e velhas e folhas novas sem sintomas; **B**- detalhe de manchas amarelas típicas em 'Crioula' após 60 dias da inoculação.

da gravioleira ou interferência de fatores ambientais.

Em testes para investigação de plantas indicadoras do vírus não foi constatada nenhum tipo infecção localizada ou sistêmica em nenhuma das 15 espécies vegetais inoculadas, enquanto que as mudas de 'Crioula' inoculadas no mesmo dia, confirmaram a boa qualidade do inóculo viral. Por outro lado, as mudas de 'Crioula' retroinoculadas com extrato vegetal obtidos das indicadoras testadas, após um período de 30 dias, não exibiram nenhum tipo de sintoma viral, indicando a ausência do SYBV. Estes resultados estão de acordo com as informações de Kitajima et al. (1993) e do ICTV (2004), nas quais não foram relatadas hospedeiras do SYBV em outras famílias botânicas. Tem

parte, estar associado a uma instabilidade do vírus na seiva ou a não adequação do método utilizado. Também não foi observada a transmissão viral por meio de pulgão, cigarrinha ou soldadinho, impossibilitando, assim, a identificação do vetor nas condições experimentais estabelecidas neste trabalho. É possível que os insetos empregados nos testes não sejam realmente vetores do vírus, porém, considerando que registros de períodos de latência de rhabdovírus no vetor variando de três a 66 dias, já foram relatados anteriormente (Nault & Ammar, 1989), a hipótese de que o SYBV tenha um período de latência no vetor superior a quatro dias, tempo usado no trabalho, não deve ser descartada.

Em Elisa, os anti-soros policlonais obtidos da primeira à quarta sangria apresentaram resultados mais satisfatórios que os demais, principalmente nas diluições 1:1.000 e 1:2.000 combinados com as diluições 1:500 e 1:1.000 do extrato vegetal infectado com o SYBV, quando os valores da planta infectada foram, invariavelmente, pelo menos duas vezes superiores àqueles obtidos pelo extrato de planta sadia, possibilitando confirmar as infecções sistêmicas em gravioleiras, em ata e em biribá. Ressalta-se ainda que nas anonáceas não hospedeiras do vírus, os valores de absorvância observados em Elisa foram compatíveis, jamais superiores, aos valores do extrato vegetal sadio das respectivas anonáceas ou da gravioleira 'Criola', da qual o vírus foi purificado. Martins et al. (1999) obtiveram bons resultados em Elisa indireto com diluição do anti-soro de 1:3.000 detectando o vírus em diluição do extrato até 1:10.000. A absorção de anti-soro com extrato vegetal sadio visando evitar reações inespecíficas foi também adotada por esses autores.

A detecção viral ocorreu em três tipos de folhas, porém, de acordo com os resultados dos testes, o tipo ideal de folha para uso no Elisa foi a intermediária, tanto pela facilidade em triturá-la, como pela maior concentração viral em seu extrato, constatada pelos valores sempre mais elevados na absorvância a 405 nm. Além da confirmação dos resultados das inoculações, o Elisa com os anti-soros específicos para o SYBV possibilitou detectar a presença do vírus em folhas ainda assintomáticas de plantas em casa de vegetação ou obtidas de ramos jovens de gravioleiras adultas infectadas. Estes resultados indicam que se torna possível detectar infecção recente pelo SYBV em gravioleiras já estabelecidas no pomar, e também em mudas infectadas e ainda assintomáticas, viabilizando a produção de mudas sadias, o que contribui para reduzir a disseminação do SYBV, principalmente para regiões em início de exploração da gravioleira.

## Conclusões

De acordo com os resultados obtidos nas condições experimentais desta pesquisa, conclui-se que:

1. O vírus da mancha amarela da gravioleira infectou somente espécies da família Anonácea, sendo transmitido mecanicamente e por enxertia para ata, biribá e para todas as gravioleiras testadas;
2. Não foi possível identificar o tipo de transmissão associada a tratamentos culturais ou por insetos;
3. A purificação permitiu a obtenção de anti-soro policlonal para detecção do SYBV em plantas adultas e em mudas infectadas com folhas assintomáticas.

## Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, A. M. R. ; LIMA, J. A. A. (Ed.) **Princípios e técnicas de diagnose aplicados em fitovirologia**. Fortaleza: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2001. 186p.
- CALZAVARA, B. B.; MULLER, C. H. **Fruticultura tropical: a gravioleira (*Annona muricata* L.)**. Belém: EMBRAPA/CPATU, 1987. 36p. (Documentos, 47).
- CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P.; FREIRE, F. C. O.; SANTOS, A. A. Doenças. In: CARDOSO, J. E. (Ed.). **Graviola: fitossanidade**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2002. p.11-21. (Frutas do Brasil, 20).
- ICTV dB Descriptions. 62.U.P.0.052 Soursop yellow blotch virus. In: International Committee on Taxonomy of Viruses. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/62up0052.htm>>. Acesso: 30 set. 2004
- JOSÉ, A. R. S. **Cultivo e mercado da graviola**. Fortaleza: Instituto Frutal, 2003. 36p.
- JUNQUEIRA, N. T. V.; CUNHA, M. M. da; OLIVEIRA, M. A. S.; PINTO, A. C. Q. **Graviola para exportação: aspectos fitossanitários**. Brasília: MA-SDR-FRUPEX/ Embrapa-SPI, 1996. 67p.
- LOPES, J. G. V.; OLIVEIRA, F. M. M.; ALMEIDA, J. I. L. de. **A gravioleira**. Fortaleza: BNB / EPACE, 1994. 71p. (Documentos, 9).
- KITAJIMA, E. W.; MARTINS, C. R. F.; SANTOS, A. A. Identification of a rhabdovirus in soursop (*Annona muricata* L.). **Plant Disease**, v.77, n.3, p.276-278, 1993.
- KITAJIMA, E. W.; SANTOS, A. A. dos. Manchas amarelas em graviola (*Annona muricata* L.) causadas por um rhabdovirus. **Fitopatologia Brasileira**, v. 14, n.2, p.120, 1989. Edição dos Resumos do XXII Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Recife, 1989.
- MARTINS, C. R. F.; LIMA, M. I.; BARROS, T. S. L.; RESENDE, R. O.; KITAJIMA, E. W. Further characterization and serological properties of soursop yellow blotch rhabdovirus. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, n.3. p.410-415, 1999.
- NAULT, L. R.; AMMAR, EL DESOUKY. Leafhopper and planthopper transmission of plant viruses. **Annual Review of Entomology**, v.34, p.503-529, 1989.
- SANTOS, A. A.; CARDOSO, J. E.; VIDAL, J. C.; VIANA, F. M. P.; OLIVEIRA, J. N. **Incidência, severidade e danos causados pela mancha-amarela da gravioleira**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2002. 16p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 5). Disponível em: <[http://www.cnpq.br/home/down/index.php?pub/pd\\_5.pdf](http://www.cnpq.br/home/down/index.php?pub/pd_5.pdf)>
- SANTOS, A. A.; CARDOSO, J. E.; VIDAL, J. C.; VIANA, F. M. P.; OLIVEIRA, J. N. Mancha-amarela-da-gravioleira: análise espacial, temporal e quantificação de danos. **Revista Ciência Agronômica**, v.34, n.2, p.219-223, 2003.
- VAN REGENMORTEL, M. H. V.; FAUQUET, C. M.; BISHOP, D. H. L.; CARSTENS, E.; ESTES, M. K.; LEMON, S.; MANILOFF, J.; MAYO, M. A.; McGEOCH, D.; PRINGLE, C. R.; WICKNER, R. B. **Virus taxonomy**: seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. New York: Academic Press, 2000. 1121p.