

Via de transmissão

Mudas contaminadas são a principal forma de propagação do vírus das caneluras da macieira (*Apple stem pitting virus*), responsável por severos prejuízos diretos e também por motivar a imposição de barreiras comerciais que prejudicam as exportações de frutas

Flávio Gassen



Repetidamente, empresas gaúchas e catarinenses, exportadoras de maçã, deparam-se com problemas normativos impostos pelos importadores às maçãs brasileiras, exigindo certificados de ausência de *Apple stem pitting virus* (ASPV) no produto exportado. Este requisito parece aleatório e inócuo se for considerada a ampla disseminação deste vírus nas principais regiões produtoras de macieiras e pereiras em todos os continentes, envolvendo as principais e mais relevantes cultivares comerciais atualmente em uso. Os dados disponíveis não permitem avaliar se as restrições são aplicadas somente à introdução de maçã em regiões onde o ASPV é praga quarentenária presente (A2).

Os níveis de infecção variam consideravelmente, podendo chegar a cerca de 80%-90% de todo o material analisado, caracterizando o ASPV como um agente endêmico em praticamente todo o mundo, para o que contribui,

principalmente, sua latência em variedades comerciais de *Malus*, *Pyrus* e *Cydonia*. Em face desta situação, parece pertinente fazer algumas considerações sobre a relevância econômica, disseminação geográfica, características físico-químicas, sorológicas, moleculares e biológicas do ASPV.

Apple stem pitting virus (ASPV), o vírus das caneluras do tronco da macieira, pertence ao gênero Foveavirus, família Betaflexiviridae. Seu genoma monoparticulado possui RNA de fita simples, senso positivo, com partículas filamentosas e flexíveis, de 12nm a 15nm de espessura e 800nm de comprimento. Os genomas de dez isolados estão depositados em www.ncbi.nlm.nih.gov. O tamanho do gene da proteína capsidial pode permanecer, entre isolados, em cerca de 100 nucleotídeos e codifica um único tipo de proteína de aproximadamente 42kDa a 44kDa.

O ASPV infecta hospedeiros como *Malus* spp., *Pyrus communis* (pera europeia), *P. serotinia*

var. culta (pera japonesa), *P. ussuriensis* (pera chinesa), *Cydonia oblonga* (marmelo), *Crataegus* spp. e *Sorbus* spp. O ASPV não induz sintomas visíveis a olho nu nas principais variedades e combinações comerciais de copas e porta-enxertos de macieiras, mas é grande o potencial de redução da produtividade e do favorecimento de infecções fúngicas por infecções complexas de vários vírus latentes. Várias doenças foram associadas ao ASPV, como, por exemplo, o “amarelamento das nervuras de pera” (inglês: *pear vein yellows*) em peras europeias, o “descascamento de *Platycarpa*” (inglês: *Platycarpa scalybark*), o “nanismo de *Platycarpa*” (inglês: *Platycarpa dwarf*) em *Malus platycarpa*, “epinastiae declínio” em macieira Spy 227, o “empedramento dos frutos” da pereira (inglês: *pear stony pit*), caneluras e manchas necróticas e cloróticas, necrose e deformação foliares produzidas em cultivares suscetíveis, como as macieiras ornamentais *Virginia crab*, *Radiant crab* (e no híbrido *Pyrionia veitchii*) (*Pyrus communis* x *Cydonia oblonga*) (Figura 1).

Em marmeleiros, que são importantes porta-enxertos de pereiras, destacam-se a “deformação dos frutos” e a “mancha anelar ferruginosa do marmeleiro”, associadas ao ASPV, mas a relação de patogenicidade do agente etiológico ainda não foi definitivamente confirmada. Em 2013 um variante de ASPV ou um novo vírus com organização genômica similar aos Foveavirus foi associado à “ruga verde” da macieira (inglês: *apple Green crinkle*). *Cydonia japonica*, *Pyrus calleryana* e *P. amygdaliformis* foram relatadas recentemente como novos hospedeiros naturais de ASPV.

O vírus é transmitido de planta a planta exclusivamente por enxertia, produzindo reação visível em cultivares suscetíveis de ornamentais de *Malus* spp. Como *Radiant crab*, *Virginia crab*, Spy 227, *Malus platycarpa*, pereiras europeias (*Pyrus communis*) como Jules d'Airolles, Le Curd, Nouveau Poiteau, Beurrré Hardy e em *Pyrionia veitchii*. As plantas apresentam uma gama de sintomas como caneluras na madeira do tronco,

galhos e ramos menores, necrose na união da enxertia, descascamento do tronco, epinastia e ondulações foliares, clareamento e necrose de nervuras. Foi relatada a eficiência da transmissão do ASPV por inoculação mecânica de macieiras e pereiras para *Nicotiana occidentalis*, *N. occidentalis* 37B e *N. occidentalis* sub sp. *obliqua*. Os sintomas também podem se expressar como lesão local necrótica, folhas necróticas e amarelamento das nervuras. Foi relatada a retrotransmissão ASPV destas herbáceas para macieiras e pereiras. As *Nicotianas* são importantes hospedeiros experimentais. Não são conhecidos vetores deste vírus. O mesmo não se transmite naturalmente no pomar, exceto pelo contato de raízes, forma de transmissão muito menos comum do vírus. A disseminação geográfica do ASPV é similar à de ASGV (*Apple stemgrooving virus*) e ACLSV (*Apple chlorotid leaf spot virus*), e frequentemente ocorrem juntos em pomares comerciais.

O diagnóstico de ASPV pode ser feito por indexagem biológica em indicadores lenhosas ou inoculação mecânica em plantas herbáceas, testes sorológicos ou imunoenzimáticos do tipo Elisa e suas variantes, e testes moleculares tipo RT-PCR convencional, RT-PCR em tempo real e suas múltiplas variantes e misturas imunomoleculares como a IC-(imunocaptura) RT-PCR,

que agrega praticidade. Exceto a indexagem, todos são laboratoriais e diferenciam-se na sua sensibilidade e especificidade.

O *Apple stem pitting virus* está disseminado mundialmente em todas as regiões onde se produzem maçãs, peras e marmelos, incluindo Estados Unidos e Canadá, Brasil, Uruguai e Argentina na América do Sul, Europa e Ásia, incluindo China, Japão, Índia e Austrália. Relatos de detecção da doença em vários continentes em *Malus* e *Pyrus* spp. por meio de indexagem biológica foram revisados por vários autores. A ampliação da oferta de técnicas de diagnóstico molecular a partir de 1990 confirmam aqueles relatos. Na Índia, o ASPV foi encontrado no estado de Himachal Pradesh, em 45 amostras de 13 variedades incluindo Fuji e Gala. Plantas afetadas mostravam caneluras, deformação de frutos e declínio. Em projeto conjunto entre Itália e Índia, foram encontrados os vírus latentes comuns em macieiras e pereiras, incluindo ASPV em variedades comuns e locais de pereiras e macieiras em áreas de produção no norte da Índia. A identidade da sequência de nucleotídeos entre os isolados italianos e indianos de ASPV foi de 83% a 86%. A análise filogenética revelou que isolados italianos e indianos agrupam-se em dois subgrupos distintos. Os autores concluíram que isolados chineses e indianos de ASPV são muito próximos geneticamente. Eles registraram uma incidência de ASPV em tecidos de maçãs de 36,7%. Esta ampla disseminação de ASPV na Índia tem paralelo com o que ocorre na Austrália,

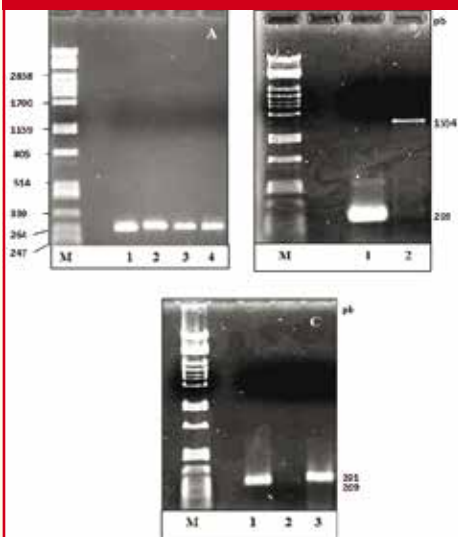
onde pesquisadores constataram que 87,9% das plantas analisadas estavam infectadas por ASPV. Estudos realizados no noroeste do Himalaia e na Índia constataram a presença da doença da sobre-enxertia em seis cultivares já estabelecidas e em várias cultivares recentemente introduzidas naquele país. A doença, anteriormente relatada no Japão, é associada a ACLSV, ASGV ou ASPV, dependendo do porta-enxerto usado. Outros autores registraram a ocorrência de ASPV e outros vírus latentes e viroides em macieiras na região de Palampur, no Himalaia ocidental. Também na China a presença do ASPV foi relatada, observando-se que as infecções complexas afetam severamente o cultivo de macieiras e pereiras, reduzindo a qualidade e a quantidade dos frutos e levando a severas perdas econômicas.

A constatação do ASPV em todo o mundo é corroborada por inúmeros relatos em publicações científicas de vários países com base em indexagem biológica nas publicações dos anos 1980 e mais recentemente por RT-PCR, o método atualmente preferido e reconhecido pela sua sensibilidade e especificidade. Ocasionalmente também o teste Elisa foi usado nas análises avaliadas.

Diante da ausência de vetores naturais que transmitam o vírus, a via principal da disseminação é a propagação vegetativa de material contaminado. Assim, uma certa distância entre lotes de material propagativo "certificado" e viveiros com baixo grau de sanidade é altamente recomendada (Eppo, 1999). Partes de plantas infectadas como estacas e borbulhas/gemas usadas na propagação são a causa principal de disseminação do vírus em pomares comerciais. Considerando-se que a distribuição de ASPV em macieiras e pereiras é desuniforme, mas sistêmica, frutos também podem estar infectados. Entretanto, não se utilizam frutos na propagação dessas espécies por enxertia, o que os tornam instrumento irrelevante de transmissão de ASPV planta a planta. O uso de material sadio livre de ASPV na produção de mudas é a mais eficiente forma de controle do ASPV. ©

Figura 1 - Análise de diferentes produtos da RT-PCR de pereiras com *Apple stem pitting virus*, eletroforese em gel de agarose 1,2%. M, DNA λ /PstI. 1.A. amostras infectadas, cvs. 1. Starkrimson; 2, cv. Abate Fetel; 3, cv. Kousui; 4, cv. Housui. 1.B. 1, cv. Housui; 2, cv. Abate Fetel. 1.C. 1, cv. Housui; 2, controle sadio, porta-enxerto Pyrodwarf; 3. *Nicotiana occidentalis* 37B, hospedeiro experimental; pb, pares de bases

Paula Radaelli



Sintomas de ASPV. Amarelamento e bandejamento de nervuras em folhas de pereira

Osmar Nickel e Thor V.M. Fajardo,
Embrapa Uva e Vinho