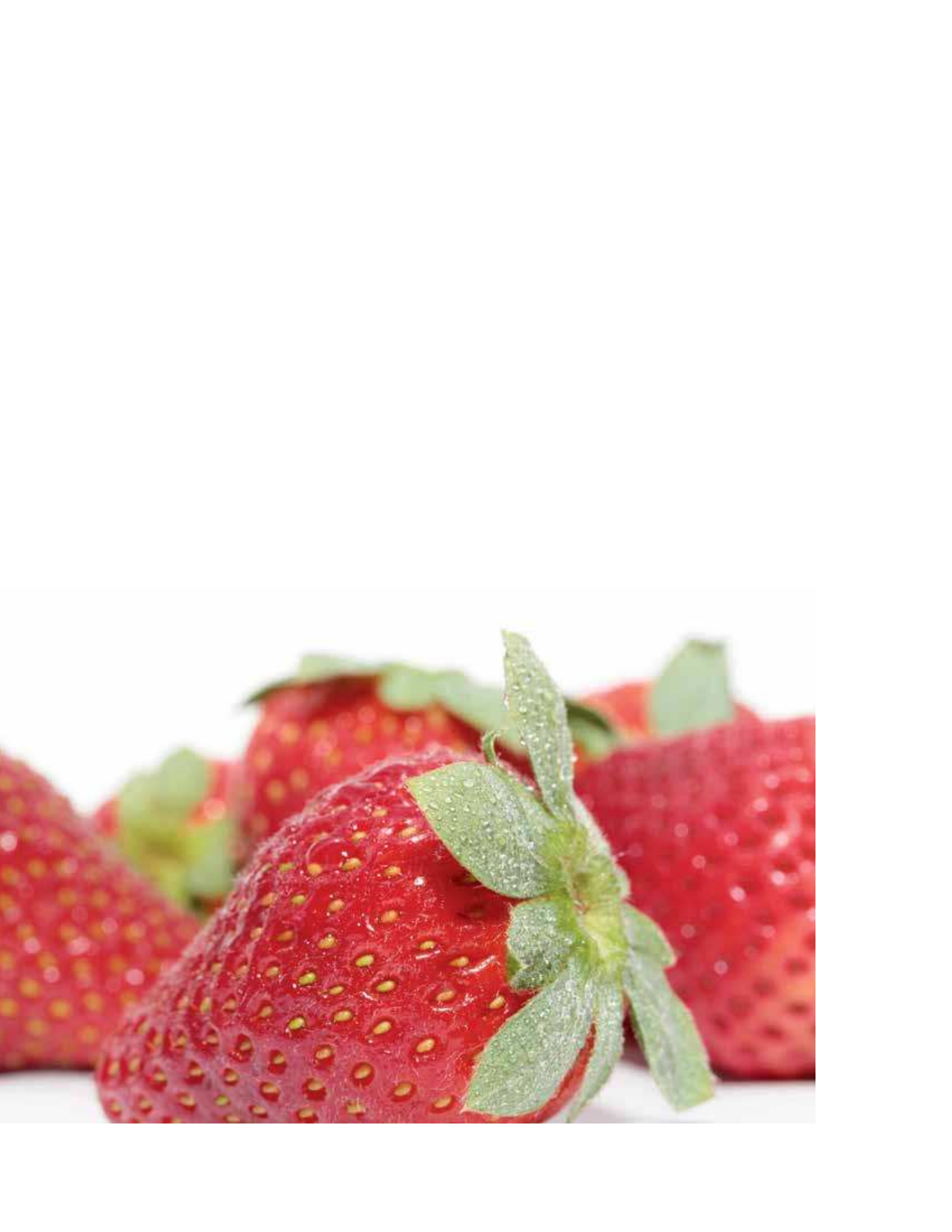


CAPÍTULO

18

Viroses

Osmar Nickel
Thor Vinicius Martins Fajardo



Introdução

O morango (*Fragaria x ananassa* Duchesne) é a espécie do grupo das pequenas frutas com maior área cultivada no País, estimada em cerca de 3.500 ha. Portanto, é um dos segmentos mais importantes da fruticultura de clima temperado. As áreas de produção de morangos estão concentradas nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Goiás e Distrito Federal. O Rio Grande do Sul tem quatro polos principais de produção, localizados no Vale do Caí, na Serra Gaúcha, nos Campos de Cima da Serra e em Pelotas.

As décadas compreendidas entre os anos 1940 e 1980 testemunharam, com interrupções, vários trabalhos de melhoramento genético para o desenvolvimento de cultivares de morangueiros adaptadas às condições climáticas no Brasil, os quais foram desenvolvidos no Instituto Agrônomo de Campinas (SP) e na antiga Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Estadual da Cascata, hoje Embrapa Clima Temperado (Pelotas, RS) (CASTRO, 2004). Esses esforços coincidiram com os primeiros estudos sobre vírus de morangueiros no País, principalmente sobre o mosqueado do morangueiro e o bandeamento de nervuras do morangueiro (CARVALHO; COSTA, 1961; KITAJIMA et al., 1971, 1973), que já se destacavam como responsáveis por severos danos à cultura do morango, desde São Paulo até o Rio Grande do Sul (BETTI et al., 1973; CARVALHO; COSTA, 1961; DANIELS; ASSIS, 1979; KITAJIMA et al., 1971).

A qualidade das mudas atualmente em uso no Brasil melhorou em comparação com o cenário descrito acima, graças, entre outros fatores, à produção de matrizes e mudas por meio do cultivo de meristemas in vitro, de matrizes micropropagadas, do tratamento de material básico por termoterapia e da criteriosa seleção e avaliação sanitária de matrizes. Atualmente, porém, como há uma rotação intensa de cultivares, novos germoplasmas entram rapidamente no mercado e cultivares antigas perdem espaço, o que pode levar ao aumento do nível de contaminação por vírus. Levantamentos realizados entre 2005 e 2009 em plantios comerciais nos Campos de Cima da Serra, na Serra Gaúcha e no Vale do Caí, RS, revelaram, por meio de testes moleculares, biológicos e por microscopia eletrônica, uma porcentagem significativa de plantas infectadas por *Strawberry crinkle virus* (SCV), *Strawberry mild yellow edge virus* (SMYEV) e *Strawberry mottle virus* (SMoV) em amostras de cultivos comerciais de oito municípios das três regiões produtoras do Estado, envolvendo as cultivares Aromas, Burkley, Camarosa, Camino Real, Comanche, Dover, Diamante, Oso Grande, Serrana, Sweet Charly, Tudla, Ventana e Verão (NICKEL et al., 2009; SILVA et al.,

2006). Entretanto, não foi possível determinar se as infecções tiveram origem nas mudas importadas. Pelo aspecto legal, houve avanço no País: a produção, a comercialização e a utilização de mudas, além das atividades de empresas certificadoras, foram regulamentadas por lei e decreto específicos (de 2003 a 2005) e por instruções normativas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa).

No mundo, o morangueiro é afetado por cerca de 30 espécies virais, em infecções individuais ou complexas, que causam um amplo espectro de sintomas, resultando em fraco vigor vegetativo e baixa produção. Estima-se que muitos vírus ainda estão por ser descobertos e caracterizados em *Fragaria* spp. Aqui serão abordadas as espécies virais economicamente mais importantes (Tabela 1).

Vírus transmitidos por pulgões

Sete espécies de vírus de morangueiros transmissíveis por afídeos (pulgões) já foram relatados até este momento. Desses, o encrespamento [*Strawberry crinkle virus* (SCV), família *Rhabdoviridae*, gênero *Cytorhabdovirus*] (HUNTER et al., 1990; SCHOEN et al., 2004),

Tabela 1. Doenças virais em morangueiros.

Nome do vírus (acrônimo)/ nome comum	Gênero do agente causal	Sintomas em cultivares comerciais	Deteção ⁽¹⁾
Transmitidos por pulgões			
<i>Strawberry crinkle</i> (SCV)	<i>Cytorhabdovirus</i>	Nenhum ou severo em infecções complexas	RT-PCR, indicadores
<i>Strawberry mottle virus</i> (SMoV)	<i>Secoviridae</i> "não classificado"	Nenhum ou isolados fortes reduzem vigor; severo em infecções complexas	RT-PCR, indicadores
<i>Strawberry mild yellow edge</i> (SMYEV)	<i>Potexvirus</i>	Nenhum; severo em infecções complexas	ELISA, RT-PCR, indicadores
<i>Strawberry veinbanding</i> (SVBV)	<i>Caulimovirus</i>	Nenhum; severo em infecções complexas	PCR, indicadores
<i>Strawberry chlorotic fleck-associated virus</i> (StCFV)	<i>Closterovirus</i>	Nenhum	RT-PCR

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Nome do vírus (acrônimo)/ nome comum	Gênero do agente causal	Sintomas em cultivares comerciais	Detecção ⁽¹⁾
Transmitidos por nematoides, pólen e sementes			
Tomato ringspot virus (ToRSV)	Nepovirus	Nenhum ou sintomas de murcha de <i>Verticilium</i> , enfezamento, mosqueado, manchas difusas	ELISA, RT-PCR, indicadoras
Strawberry latent ringspot virus (SLRSV)	Secoviridae “não classificado”	Severos em infecções complexas, manchas anelares	
Arabid mosaic (ArMV)	Nepovirus	Nanismo, clorose em algumas cultivares ou nenhum	
Tomato black ring virus (TBR)	Nepovirus	Salpicado clorótico, manchas anelares e mosqueado	
Raspberry ringspotvirus (RpRSV)	Nepovirus	Enrolamento foliar, manchas anelares, salpicado clorótico ou nenhum	
Transmitidos por tripses, pólen e sementes			
Strawberry necrotic shock virus (SNSV)	Ilarvirus	Nenhum; perda de vigor e queda de produção de frutas	ELISA, RT-PCR, indicadoras
Apple mosaic virus (ApMV)	Ilarvirus	Nenhum	
Fragaria chiloensis latent virus (FCILV)	Ilarvirus	Nenhum	
Transmitidos por mosca-branca			
Strawberry pallidosis-associated virus (SPaV)	Crinivirus	Nenhum; leve em algumas cultivares, declínio em infecções complexas	RT-PCR, indicadoras
Beet pseudo yellows virus (BPYV)	Crinivirus		
Transmitidos por fungo do solo			
Tobacco necrosis virus (TNV)	Necrovirus	Nanismo, necrose de folhas e raízes	ELISA, RT-PCR, indicadoras

⁽¹⁾RT-PCR: teste molecular feito em laboratório; indicadoras: plantas suscetíveis que reagem com sintomas virais após inoculação mecânica ou por transmissão de vírus através de enxertia.

Fonte: adaptado de Moyer et al. (2010).

a clorose marginal [*Strawberry mild yellow edge virus* (SMYEV), família *Betaflexiviridae*, gênero *Potexvirus*] (JELKMANN et al., 1992; LAMPRECHT ; JELKMANN, 1997), o mosqueado [*Strawberry mottle virus* (SMoV), família *Sequiviridae*, gênero *Sadwavirus*] e o bandejamento das nervuras [*Strawberry vein banding virus* (SVBV), família *Caulimoviridae*, gênero *Caulimovirus*] (STENGER et al., 1988) são os vírus mais disseminados e de maior importância econômica em todas as regiões produtoras de morango do mundo. SMoV tem uma organização genômica similar ao tipo *Nepovirus*, mas, contrariamente a esses, é transmitido por pulgões. A espécie consta como “não classificada” na família *Secoviridae* de vírus de RNA biparticulados (CONVERSE 1987; THOMPSON et al., 2002). A ocorrência dos quatro vírus de morangueiros transmitidos por pulgões no Rio Grande do Sul foi relatada anteriormente (BETTI et al., 1973).

A associação de SMYEV com um *Luteovirus* na década de 1980 baseou-se em vários relatos (SPIEGEL et al., 1986; YOSHIKAWA et al., 1984). A transmissão de um *Potexvirus* de forma persistente pelo vetor *Chaetosiphon fragaefolii* é surpreendente, porque, geralmente, os *Potexvirus* não são transmissíveis por pulgões. Os autores conjecturaram (JELKMANN et al., 1990) que o *Potexvirus* seria transmitido com a ajuda do *Luteovirus*, como “vírus auxiliar”, no mecanismo da transmissão de SMYEV por pulgões, ou, então, que SMYEV poderia ser transmitido com base em mecanismo ainda desconhecido. A sequência de nucleotídeos obtida de um fragmento 3'-terminal de 26K do gene da suposta proteína capsidial (CP) do isolado MY-18 de SMYEV não apresentava homologia com proteínas de *Luteovirus*, e um antissoro preparado contra uma proteína de fusão contendo a suposta CP reagiu fortemente com SMYEV. Concluiu-se que existe uma clara associação entre a clorose marginal e SMYEV, sendo este último proposto como novo *Potexvirus* (JELKMANN et al., 1990). Um construto contendo um clone infeccioso completo de SMYEV foi utilizado para inocular *Fragaria vesca* 'Alpine' pela via biobalística e agroinoculação, e *Chenopodium quinoa* e *Chenopodium foetidum* pela via mecânica. As plantas inoculadas produziram sintomas que não se distinguiram daqueles de plantas-controle inoculadas por enxertia ou transmissão de SMYEV por afídeos. O *Potexvirus* inoculado com o construto não é transmissível de *F. vesca* por *C. fragaefolii*, sugerindo a necessidade de um “vírus auxiliar” para a transmissão por vetor (LAMPRECHT; JELKMANN, 1997)

Biologia dos vírus transmitidos por afídeos

Os principais vírus de morangueiros ocorrem em estreita associação com a colonização do morangueiro por pulgões, espécie já relatada em morangueiros no Brasil (BERTELS;

BAUCKE, 1966), principal vetor dos vírus de morangueiros. Os vetores mais importantes dos vírus do morangueiro transmitidos por pulgões são espécies pertencentes ao gênero *Chaetosiphon*, destacando-se a espécie mais comum *C. fragaefolii* (Cock.) (antes denominado *Pentatrachopus fragaefolii* e *Capitophorus* spp.), responsável pela maior parte da transmissão natural desses vírus. Há outras espécies vetoras: *C. tomasi* (H. R. L.), *C. minor* (Forbes) e *C. jacobii* (H. R. L.), *Aphis gossypii* (Glover), afídeo cosmopolita e polífago, e outras espécies dos gêneros *Aphis*, *Acyrtosiphon* (antes denominado *Macrosiphum*), *Amphorophora*, *Aulacorthum*, *Myzaphis*, *Myzus*, *Nectarosiphon* e *Rhodobium*. Estudo recente sobre afídios que colonizam o morangueiro no Paraná revelou que *C. fragaefolii* é a espécie predominante, e que *Aphis gossypii* e *A. forbesi* (Weed) ocorrem com menor frequência (ARAÚJO et al., 2010). Em áreas em que *Chaetosiphon* predomina, o potencial de transmissão simultânea de outros vírus pode levar a infecções múltiplas, causadoras de sintomas severos e perda de produção, e a complexos com vírus transmitidos por moscas-brancas, como SPaV e BPYV, que levam as plantas ao declínio.

SVBV, o vírus de menor frequência de ocorrência em morangos, e SMoV, o mais comum dos vírus que infectam morangos, ocorrem naturalmente no gênero *Fragaria*. Ambos são vírus do tipo semipersistente. Curtos períodos de aquisição e transmissão (minutos) são características da relação vírus-vetor. O status de vetores virulíferos, depois da aquisição do vírus, persiste nos vetores apenas por algumas horas. O vírus é adquirido pela sucção, acumula-se no canal alimentar, mas não passa para a hemolinfa. O vetor não permanece virulífero depois da ecdise. O fato de que a probabilidade da transmissão aumenta com o tempo de aquisição sugere que o vírus se acumula no vetor pela sucção prolongada. SVBV é adquirido por *Chaetosiphon* spp. em 30 minutos de sucção, e o vetor mantém-se virulífero por cerca de 24 horas depois da aquisição do vírus (FRAZIER, 1955).

Indivíduos de *Chaetosiphon fragaefolii* e de *Aphis gossypii* (Glov.), além das espécies *C. tomasi* e *C. minor*, são capazes de adquirir SMoV de uma planta infectada e transmiti-los para uma planta sadia, em poucos minutos de aquisição e transmissão. Outras espécies relatadas como vetores de SMoV pertencem aos gêneros *Acyrtosiphon*, *Amphorophora*, *Myzaphis* e *Myzus*.

SMYEV, um dos mais amplamente disseminados, e SCV, um dos mais destrutivos vírus que afetam morangueiros cultivados, são transmitidos eficientemente por pulgões, de forma persistente. A relação vírus-vetor do tipo persistente requer longos períodos de aquisição e transmissão dos vírus, de dias e até mesmo semanas, e um longo período de latência depois da aquisição, durante o qual o vetor não é capaz de transmitir o vírus.

O vírus é ingerido através de sucção da planta infectada, invade a hemolinfa, atravessando a parede do intestino, e chega às glândulas salivares, de onde pode ser transmitido para outras plantas. Vírus transmitidos de forma persistente também são denominados de propagativos quando há replicação do vírus no vetor. Depois do período de latência, os insetos retêm o status de virulíferos por toda a sua vida, isto é, os vírus persistem de forma infecciosa no vetor.

Várias espécies do gênero *Chaetosiphon*, além de espécies dos gêneros *Myzus* e *Acyrtosiphon* (*Macrosiphum*), transmitem SMYEV. A depender das espécies do vetor, são necessárias de 8 horas a 2 dias de sucção para o vetor adquirir o vírus de plantas infectadas, um período de latência de até 40 horas e 8 dias de sucção para transmiti-lo para plantas saudáveis (ENGELBRECHT, 1967; KRCZAL, 1979).

SCV, por sua vez, além de possuir um período de latência em *C. fragaefolii* de 10 a 19 dias, que pode ser mais longo em períodos frios e reduzir-se a eficiência da transmissão, multiplica-se no vetor, o que equivale a uma “infecção” pelo vírus, permitindo sua replicação no “hospedeiro” animal. Com um período de incubação (tempo da inoculação até a aparição de sintomas nas plantas) no morangueiro de 2 a 4 semanas, o ciclo total de transmissão de SCV pode durar 75 dias. A depender da espécie do vetor, o período de latência de SCV alcança 59 dias. Essas características biológicas da relação vírus-vetor permitem, portanto, sua exploração no âmbito de estratégias de controle. É plausível assumir que a eficiência de transmissão do vírus em latitudes tropicais/subtropicais aumente em decorrência da redução do período de latência no vetor (KRCZAL, 1982).

Vírus transmitidos por moscas-brancas

Os *Crinivirus* (família *Closteroviridae*, gênero *Crinivirus*) são, aparentemente, um problema emergente na agricultura mundial da última década. Eles possuem os maiores genomas de RNA de fita simples e senso positivo conhecidos em vírus de plantas e são transmitidos por espécies de moscas-brancas dos gêneros *Bemisia* e *Trialeurodes*, de forma semipersistente. Dois desses vírus foram, recentemente, associados à doença palidose do morangueiro: *Strawberry pallidosis-associated virus* (SPaV) e *Beet pseudo yellows virus* (BPYV) (TZANETAKIS et al., 2004a). A palidose, uma doença que provavelmente se originou nos Estados Unidos, causa palidez e amarelamento das plantas. Alguns clones de *Fragaria vesca* var. *semperflorens* e UC-5, utilizados como indicadores, reagem de forma assintomática à palidose. Já os clones de *Fragaria virginiana* UC-10 são sensíveis.

Historicamente, a palidose foi associada a sintomas de declínio do morangueiro quando em conexão com outros vírus transmissíveis por pulgões. Considerada uma raridade nos EUA, a palidose revelou-se amplamente distribuída depois de ter sido diagnosticada como a mais disseminada das doenças de morangos transmissíveis pela enxertia, em Maryland e na Califórnia, EUA, tendo infectado cerca de 70% a 90% dos cultivos investigados. A doença, que adquiriu destaque recentemente, é um problema que foi subestimado, até 2003, nas regiões produtoras de morangos dos EUA. Hoje, a doença está amplamente disseminada no Leste dos EUA e na Califórnia. A relevância do SPaV e o do BPYV em todo o mundo deve aumentar no futuro, tanto em decorrência da expansão do território ocupado, quanto em virtude da fecundidade das moscas-brancas (MARTIN et al., 2001), no Oeste do Canadá, onde causa severas perdas. Em plantas de casa de vegetação, a palidose produz clorose, reduz a produção de estolões e afeta, portanto, a produção de mudas. Há poucos sintomas diagnosticados dessa doença. Resumem-se na expressão “palidez”. Enfezamento e, às vezes, declínio e morte de plantas podem ser indicativos de infecção viral complexa, por vírus transmissíveis por pulgões, que podem reduzir o vigor e a produção, mas, geralmente, não são perceptíveis em infecções individuais.

Sintomas de palidose assemelham-se a deficiências minerais e a outras disfunções abióticas. O diagnóstico visual de palidose no campo é difícil. Seu maior impacto se percebe na infecção múltipla de SPaV e/ou BPYV com qualquer um dos outros vírus de morangos. Nesse caso, a doença causa matizes de vermelho das folhas adultas, reduz o desenvolvimento radicular em 15% a 20%, reduz o número e o peso das frutas e leva ao enfezamento, ao declínio e à morte das plantas (WINTERMANTEL, 2004). A palidose em *Fragaria chiloensis* ocorre também no Chile, ao longo da costa do Pacífico, nas Américas do Sul e do Norte, exceto nos trópicos. Como, no Brasil, é comum a importação de mudas de morangos do Chile, da Argentina e também dos EUA, virozes como a palidose do morango devem merecer especial atenção para evitar que seja introduzida. Espécies de moscas-brancas dos gêneros *Trialeurodes* e *Bemisia* ocorrem no Brasil. Plantios comerciais norte-americanos contaminados são, geralmente, assintomáticos. Decorre daí seu caráter de agente potencial de danos devastadores à produção de morangos, com a sua introdução.

A ocorrência de declínio do morangueiro é, geralmente, associada à presença da mosca-branca *Trialeurodes vaporariorum*, assim como à presença de pulgões que possam transmitir os outros vírus do morangueiro, provavelmente associados a essa doença. A presença somente de SPaV e BPYV, os vírus associados à palidose, não é, aparentemente, suficiente para produzir o declínio do morangueiro. Essa doença apresenta grande semelhança

com o “vermelhão”, que ocorre atualmente em vários estados no Brasil, geralmente na proximidade de plantios de tomate, colonizados por moscas-brancas (comunicação pessoal)¹. A presença do “vermelhão”, sem populações significativas de moscas-brancas, pode indicar que o material de plantio pode ter sido infectado por palidose, na sua origem.

Vírus transmitidos por nematoides

Um grupo de cinco vírus de morangueiros é transmitido por nematoides dos gêneros *Xiphinema* e *Longidorus*, como também por pólen e sementes. Sua presença, relatada no Hemisfério Norte, pode causar danos significativos a cultivos de morango quando presentes em complexos virais. Quatro desses vírus – *Tomato ringspot virus* (ToRSV), *Tomato black ring virus* (TBRV), *Arabidopsis mosaic virus* (ArMV) e *Raspberry ringspot virus* (RRSV) – pertencem ao gênero *Nepovirus* (família *Comoviridae*). *Strawberry latent ringspot virus* (SLRSV) consta como espécie “não classificada” na família *Secoviridae* de vírus de RNA biparticulados (THOMPSON et al., 2002).

Esse grupo de vírus engloba espécies virais que, em geral, são facilmente transmissíveis mecanicamente, e comumente induzem a formação de manchas anelares (anéis cloróticos) em plantas indicadoras. ToRSV tem um amplo espectro de hospedeiras, entre fruteiras e plantas herbáceas. Seus sintomas tanto podem ser imperceptíveis quanto podem se manifestar sob a forma de nanismo, perda de vigor, redução de estolões e mosqueado. Em *F. vesca*, pode produzir mosqueado e manchas difusas similares aos produzidos pelos vírus transmissíveis por pulgões. Enquanto, na Europa, o SLRSV é tido como agente patogênico de importância secundária, estima-se que, nos EUA, ele possa causar redução substancial da produção. SLRSV causa, geralmente, como os *Nepovirus* mencionados anteriormente, infecções latentes (sem sintomas perceptíveis) na maioria das cultivares comerciais de morangos. Algumas cultivares reagem, com mosqueado e declínio. O SLRSV é um patógeno que infecta um grande número de espécies de plantas ornamentais e fruteiras, como a amoreira-preta, a groselheira, a cerejeira, a videira, a ameixeira europeia e o pessegueiro, além de um grande número de plantas invasoras, entre as quais estão várias espécies de ocorrência comum em pomares de fruteiras arbóreas e nas proximidades dos plantios de morangos.

¹ Comunicação pessoal, via e-mail, dr. Hécio Costa, Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, ES, 10/9/2008 a 3/10/2008.

A relevância restrita desses vírus em diversas fruteiras no Brasil, apesar do caráter cosmopolita dos nematoides vetores, decorre, provavelmente, da ausência ou da baixa incidência das espécies transmissoras, o que se deduz, por exemplo, do fato de não haver confirmação de ocorrência desses vetores no País, especialmente do nematoide *Xiphinema diversicaudatum*.

O *Tobacco necrosis virus* (TNV) (família *Tombusviridae*, gênero *Necrovirus*) é transmitido pelo fungo oomiceto *Oplidium brassicae*. O patógeno induz sintomas similares a SMYEV e SPMYEV em indicadoras *Fragaria* spp. Há pouca informação sobre danos causados por TNV em plantios comerciais; a ocorrência de nanismo e podridão de folhas e raízes foi relatada (MOYER et al., 2010). O vírus tem um amplo espectro de plantas hospedeiras, é transmissível por via mecânica para indicadoras herbáceas e pode estar presente em *Fragaria* spp., sem sintomas (FRÁNOVÁ-HONETSLEGROVÁ et al., 1998). Em caso de suspeita de infecção, a inoculação mecânica de *C. quinoa* é recomendável em virtude da ocorrência de sorotipos distintos e fraca reação cruzada, e da ocorrência do vírus com RNA livre, o que torna o teste ELISA passível de produzir falsos negativos (CONVERSE et al., 1987).

Vírus sem vetores conhecidos

Alguns *Ilarvirus* (família *Bromoviridae*) (Tabela 1) são conhecidos em morangueiros, mas sem relatos de danos causados. Como são vírus transmitidos pelo pólen e pelas sementes, representam um grande desafio ao desenvolvimento de estratégias para prevenir ou impedir sua disseminação nos plantios. *Strawberry necrotic shock virus* (SNSV) foi, desde os anos 1950, considerado um isolado de *Tobacco streak virus* (TSV), o membro-tipo do gênero *Ilarvirus*. Entretanto, há uma série de evidências que questiona essa relação: a) diferenças de expressão de sintomas entre isolado-tipo de TSV de *Fragaria vesca* e outros de amora-preta, feijão, fumo e trevo-branco; b) diferenças sorológicas; c) ausência de proteção cruzada; e d) ausência de hibridação em *Northern blots* entre isolados de morangueiro e amoreira-preta e os outros isolados (STENGER et al., 1987). Sequências de TSV isolado-tipo não permitiram a detecção do vírus em pequenas frutas via RT-PCR. A sequência de nucleotídeos de um isolado de TSV de morangos agrupou-se com outros isolados de morangueiros, revelando baixa identidade com a sequência do TSV-tipo. Nenhuma dessas plantas, portanto, estava infectada com TSV. Aparentemente, TSV não é um patógeno de *Fragaria* spp. Em decorrência dessa constatação, o isolado sequenciado recebeu seu antigo nome, SNSV (MARTIN; TZANETAKIS, 2006; STACE-SMITH et al., 1987; TZANETAKIS et al.,

2004b). *Fragaria chiloensis latent virus* (FCILV), originário do Chile, está presente, geralmente, de forma assintomática, nas Américas do Sul e do Norte, ao longo da costa do Pacífico, onde ocorre *Fragaria chiloensis*. A sequência completa de nucleotídeos do genoma viral foi determinada (TZANETAKIS; MARTIN, 2005b).

Um terceiro *Ilarvirus*, com sintomas de enrolamento de folhas foi encontrado em *F. vesca*. A clonagem e o sequenciamento, a partir de RNA de fita dupla, revelaram que as plantas estavam infectadas naturalmente por três vírus: *Apple mosaic virus* (ApMV), além de SpaV e BPYV (TZANETAKIS; MARTIN, 2005a) – as duas últimas espécies virais estão envolvidas no complexo viral palidose e vermelhão, já mencionados. Descrevendo os sintomas, Frazier (1987) suspeitava que o enrolamento das folhas do morangueiro parecia ser causado por um complexo de pelo menos três agentes patogênicos, com distintas formas de infecção e disseminação. ApMV pertence ao grupo 3 do gênero *Ilarvirus*, é um agente cosmopolita, com um amplo espectro de plantas hospedeiras. A disseminação de ApMV via pólen, em cultivos comerciais, aliada à dificuldade de manejo, pode ter impacto econômico significativo. Análises de ApMV como componente latente podem ser relevantes na avaliação de plantios e plantas-matrizes, e contribuir para a prevenção de perdas na produção.

Vírus de morangueiros são, geralmente, latentes em germoplasmas das cultivares comerciais de morangueiros atualmente em uso – a infecção não é perceptível visualmente na maioria das cultivares comerciais de morangos, em virtude de o melhoramento visar à obtenção de cultivares com alto nível de tolerância a vírus. Algumas exceções são as cultivares mais sensíveis, como Cascata, Pelotas e IAC Mantiqueira; ou as cultivares mais recentes, como Camarosa (Figura 1). As cultivares Marshall, Tioga, Carlsbad, Gaviota, Cuesta, Pacífica e Selva (EUA) são sensíveis ao SVBV, resultando em redução da produção de estolões e frutas e em perda da qualidade. As cultivares Hood, uma das mais sensíveis, e Marshall desenvolvem nanismo, clorose marginal, distorção de folhas e frutas pequenas quando infectadas por SMYEV (MARTIN; TZANETAKIS, 2006).

Como parasitas obrigatórios, vírus de plantas não “crescem” em meios artificiais, pois não podem prescindir da célula viva para suas ativação e replicação. Ao longo do processo de infecção, em que a “máquina” metabólica da planta é “manipulada” para produzir as substâncias requeridas pelos parasitas virais, a planta reage com inúmeros sintomas. Eles são muito variáveis e complexos, assim como também é complexa a mistura de agentes patogênicos. A reação das plantas infectadas é o resultado da interação da cultivar, dos vírus e isolados virais envolvidos e das condições ambientais, especialmente a temperatura. Em suma, infecções virais produzem redução de vigor vegetativo e perda de produção



Fotos: Osmar Nickel

Figura 1. Morangueiro da cultivar Camarosa de plantio comercial em Farroupilha, RS, com deformação foliar, enfezamento, manchas cloróticas, causados por uma infecção de pelo menos dois vírus, SMYEV e SCV, diagnosticados por indexagem biológica e RT-PCR.

em certas combinações de vírus (MAHMOUDPOUR, 2004; MARTIN; TZANETAKIS, 2006). Em geral, sintomas como os listados abaixo são indicativos de infecção viral:

- Lesões cloróticas, margens das folhas amareladas: tecido em que a síntese de clorofila é inibida, áreas verde-claras ou amarelas.
- Bandeamento/clareamento: clorose de nervuras e faixas cloróticas ao longo das nervuras primárias e secundárias dos folíolos. Salpicado clorótico.
- Lesões necróticas: manchas localizadas de tecido morto; podem se originar a partir de manchas cloróticas.
- Mosaicos: áreas com limites definidos por distintos matizes.
- Mosqueados: áreas com limites indefinidos, de distintos matizes de verde e verde-clorótico ou amarelado.
- Manchas anelares: manchas cloróticas em forma de anéis.
- Deformação, distorção e enfezamento: crescimento irregular, nanismo, folíolos pequenos, retorcidos, enrolamento e epinastia de folíolos.

Um grupo de espécies, híbridos e clones de *Fragaria* spp. sensíveis a vírus de morangueiros reage fortemente, apresentando, às vezes, sintomas característicos, que permitem a diferenciação de espécies virais. Neste trabalho, foram utilizadas as plantas indicadoras

clone UC-5, um híbrido complexo de *Fragaria vesca*, *F. chiloensis* e *F. virginiana*, e o clone UC-10 de *F. virginiana*.

Na indicadora UC-5, SMYEV produz manchamento e salpicado cloróticos, manchas cloróticas e anelares, mosaico, enrolamento de folhas para baixo, clorose marginal e epinastia de folíolos jovens. Em UC-10, observa-se clorose marginal em folhas jovens (Figura 2).

Fotos: Giovani Capra

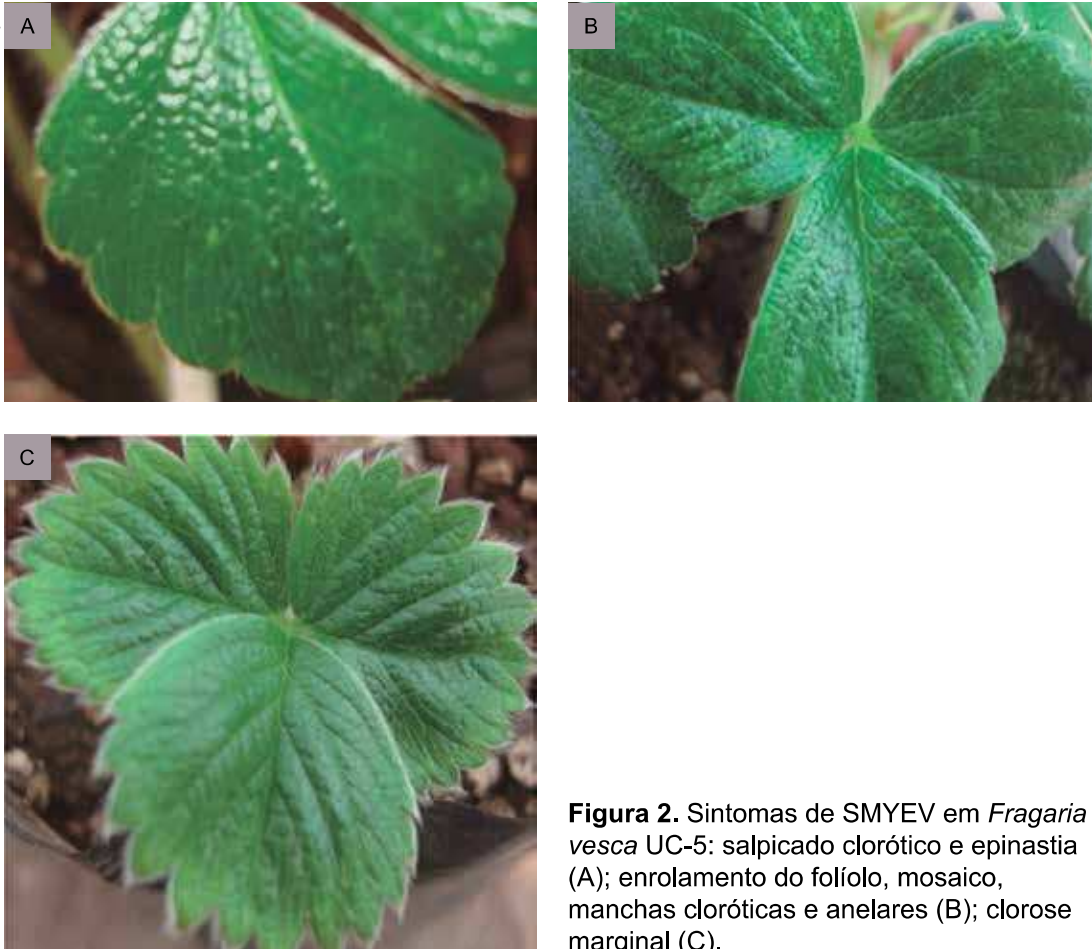


Figura 2. Sintomas de SMYEV em *Fragaria vesca* UC-5: salpicado clorótico e epinastia (A); enrolamento do folíolo, mosaico, manchas cloróticas e anelares (B); clorose marginal (C).

O clone UC-10 reage a SCV com a formação de manchas cloróticas e necróticas associadas às nervuras, encrespamento, distorção e deformação de folhas. Alguns isolados de SCV induzem manchas necróticas em estolões, pétalas e pecíolos foliares, além da formação de estrias necróticas. Em UC-5, observam-se mosaico, assimetria e epinastia foliares (Figura 3).

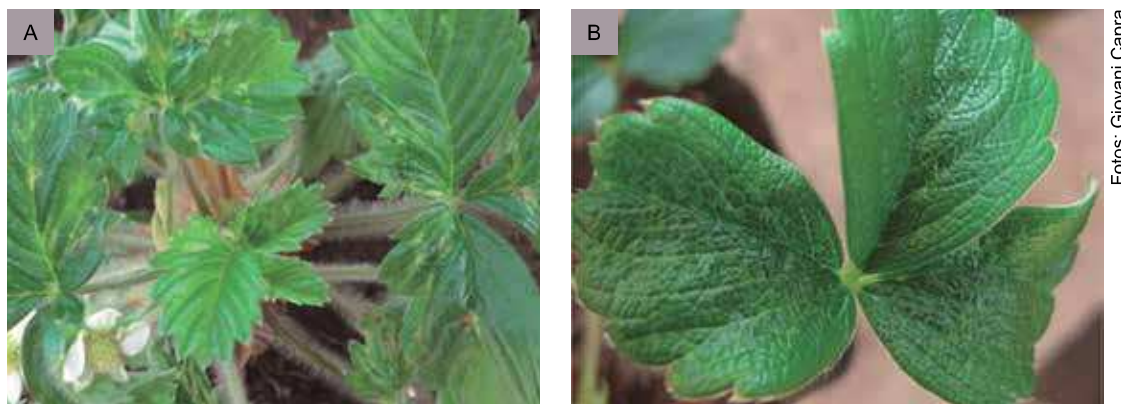


Figura 3. Sintomas de SCV em *F. virginiana* UC-10, manchas cloróticas e necroses, clorose associada às nervuras, encrespamento e distorção de folíolos, deformação e epinastia foliar (A). Sintomas de SCV em *F. vesca* UC-5, mosaico e epinastia de folíolos (B).

Em UC-5, o sintoma predominante de SMOV é um salpicado de manchas cloróticas desuniformes e diminutas; os folíolos tornam-se levemente epinásticos. Em UC-10, um isolado da Alemanha provocou clareamento de nervuras, manchas, anéis e salpicado cloróticos e mosqueado. Em fase avançada da infecção, as plantas nanizadas apresentam folíolos pequenos, distorção de folhas, necrose de nervuras principais e definham (Figura 4).

O SVBV induz em *F. virginiana* clone UC-10 um típico bandeamento clorótico ou faixas cloróticas ao longo de nervuras principais e secundárias (Figura 5), folíolos assimétricos, encrespamento e clareamento de nervuras.

A característica do morangueiro de cultura semiperene de propagação vegetativa nos trópicos e subtropicais torna-o sujeito a infecções múltiplas, causadas por vários vírus transmissíveis por vetores alados. Nos sistemas pluri- anuais de produção, essas infecções podem atingir 100% das plantas e reduzir substancialmente a produção e a qualidade das frutas. Em consequência, torna-se praticamente impossível um diagnóstico visual de disfunções virais em morangueiros, em plantios comerciais.

Alterações de cor da folhagem, como o “vermelhão”, mistura de matizes de vermelho-vinho e crescimento desuniforme, com o “coração” da planta permanecendo verde, frutas pequenas, deformação de folíolos e declínio de plantas podem ser indicativos da presença de palidose no plantio, em complexo com um ou mais vírus de morangueiros, transmitidos por pulgões. Enquanto infecções individuais produzem, em diferentes cultivares, alguns dos sintomas já mencionados, infecções por vários vírus geralmente levam ao declínio das

Fotos: Giovani Capra



Figura 4. Sintomas de SMOV em *F. virginiana* UC-10: encrespamento (A); mosqueado, manchas e salpicado cloróticos (B). Sintomas crônicos: folíolos pequenos, planta nanizada (C); planta sadia e planta com enfezamento (planta menor) (D).

plantas. O “vermelhão”, com seus outros componentes sintomáticos já mencionados, é um problema recorrente nas regiões produtoras de Minas Gerais, São Paulo e Espírito Santo na cultivar Camino Real. Os sintomas aparecem cerca de 30 a 50 dias depois do plantio em março/abril, para atingir de 30% a 60% das plantas em outubro/novembro. Em virtude da proximidade de plantios de tomate, é forte a presença de moscas-brancas nas lavouras de

morangos. Os sintomas (Figura 6) intensificam-se a cada novo plantio (comunicação pessoal)². Essas características sugerem a possível associação do vírus da palidose do morangueiro com vírus transmitidos por pulgões.

Em face da tolerância a vírus pela grande parte das cultivares comerciais de morangueiros atualmente em uso, a manifestação de sintomas diagnósticos de vírus é escassa, particularmente aquela indicativa de infecção viral individual. Em determinadas cultivares, os vírus transmissíveis por pulgões em infecções individuais geralmente reduzem o vigor e a produção. Nessas cultivares, os vírus transmissíveis por pulgões em infecções individuais geralmente reduzem o vigor e a produção. Daí decorre a necessidade de avaliar criteriosamente a sanidade das plantas destinadas ao uso como matrizes para a produção de mudas via indexagens biológicas e testes sorológicos e moleculares.

Desde os primórdios do cultivo comercial de morangueiros em todos estados do Sul do País, infecções virais vinculadas à presença de pulgões tiveram papel de destaque na indução de expressivos danos econômicos. No Rio Grande do Sul, foi relatada a ocorrência de quatro vírus de morangueiros transmitidos por pulgões: SMYEV, SMoV, SVBV e SCV (BETTI et al., 1973).



Foto: Giovani Capra

Figura 5. Sintomas de SVBV em *F. virginiana* UC-10: bandeamento clorótico de nervuras.



Foto: Hécio Costa

Figura 6. Folhagem vermelha (sintoma chamado de “vermelhão” pelos produtores), frutas pequenas, clorose marginal e declínio de plantas, brotação nova permanece verde no centro da planta na cultivar Camino Real, em plantio comercial, Vitória, ES.

² Comunicação pessoal, via e-mail, dr. Hécio Costa, Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, ES, 10/9/2008 a 3/10/2008.

Utilizando material básico isento de vírus, “certificado”, multiplicado e mantido em telados e campos isolados, além de material “comum”, não testado e mantido sem nenhuma proteção contra afídios, observou-se, em plantios formados de mudas comuns, a redução de produção de 45% e a presença de vírus em 83,8% das plantas, enquanto as plantas de mudas certificadas apresentavam uma incidência de vírus de 6,3%. Supõe-se que, além de SMoV, as plantas também estivessem infectadas por SMYEV. Ademais, as frutas das parcelas certificadas alcançavam melhor qualidade e melhor preço na comercialização (BETTI, 1972). Num experimento de produção com a cultivar Campinas, Betti et al. (1979) observaram que, isoladamente, as infecções individuais (SMoV, SVBV ou SMYEV) não afetaram significativamente o vigor, a quantidade e o peso médio das frutas. A infecção dupla (SMoV + SMYEV) reduziu a produção precoce de frutas, de maior valor comercial, em 26%, e em 15% a produção total obtida em 31 semanas de colheita. A infecção múltipla (SMoV, SMYEV e SVBV) reduziu a produção precoce e total em 78% e 68%, respectivamente. Embora geralmente se considere que infecções mistas são as que provocam mais danos ao morangueiro, há relatos de danos significativos causados por infecções individuais (MARTIN; TZANETAKIS, 2006; THOMPSON et al., 2003). Horn e Carver (1962) demonstraram redução significativa de produção de frutas de morangueiros ‘Hardliner’ inoculados, respectivamente, com SVBV e SMoV, de cerca de 66%. Aparentemente, a ocorrência de dano também decorre da virulência do isolado viral, do número de espécies virais presentes na infecção e da cultivar de morangueiro em questão. Na Polônia, isolados severos de SMoV reduziram a produção de morangos em 30% (MELLOR; KRCZAL, 1987). Certas cultivares geralmente tolerantes a vírus suportam uma infecção dupla de SMYEV e SMoV ou SVBV, mas sucumbem diante de infecções causadas por isolados severos desses três vírus (MARTIN ; TZANETAKIS, 2006). A presença de SMoV na mistura dos agentes presentes na infecção parece ser codeterminante do aumento da severidade dos danos (BARRITT ; LOO, 1973). Numa região de forte pressão de inóculo viral e ausência de controle de vetores, Daniels e Assis (1983) estabeleceram três lotes de morangueiros de acordo com a distância de uma fonte de inóculo (plantio infectado): 1) contíguos; 2) de 50 m a 300 m; e 3) a mais de 500 m de distância. Observaram, então, uma incidência média de vírus de 23%, 6% e 3%, respectivamente, no período de 7 a 9 meses do experimento. Em um dos lotes contíguos, a infecção alcançou 60% das plantas.

A transmissão por pulgões, portanto, comprovadamente, faz com que novos plantios sejam rapidamente recontaminados quando estabelecidos na proximidade de plantios antigos ou contaminados. Geralmente, as seguintes medidas são muito eficientes para evitar a infecção de lotes sadios: a) na produção de mudas, utilizar matrizes (plantas-mãe)

sadias, livres de vírus; b) produzir matrizes a partir de matrizes básicas oriundas de cultivo de meristemas; c) indexar as matrizes básicas em plantas indicadoras e analisá-las por testes laboratoriais e biológicos; d) propagar as matrizes básicas em telados à prova de pulgões; e) multiplicar as matrizes; e f) produzir mudas em locais afastados de plantios comerciais de morangos (BETTI, 1991; BETTI et al., 1992).

A propagação vegetativa do morangueiro e as características da relação vírus-vetores determinam a ocorrência de infecções múltiplas, que provocam a degenerescência, caracterizada por redução do vigor vegetativo, redução do crescimento radicular e definhamento da planta. Decorre desse fato a necessidade de renovação periódica dos plantios com mudas sadias, para garantir a rentabilidade do plantio comercial.

Entre as estratégias de controle de doenças virais utilizadas no mundo atualmente, destaca-se a produção de material básico isento de vírus. Desse material derivam-se as matrizes produtoras de mudas sadias. O método mais utilizado para isso é a cultura de ápices meristemáticos *in vitro*. O meristema é uma cúpula de tecido não vascularizado, em ativa divisão celular, no ápice de raízes, hastes e brotações laterais das plantas. Embora, na prática, explantes de cerca de 0,1 mm a 1 mm sejam removidos para cultivo *in vitro*, explantes axilares ou apicais de estolões de morangueiros, de tamanho médio de 0,3 mm a 0,7 mm, geralmente resultam em maior sobrevivência e maior proporção de platinhas regeneradas livres de vírus (SLACK, 1980).

Há inúmeros relatos de eliminação de vírus via cultivo de meristemas em morangueiros. Depois de ter sido demonstrado, na metade do século passado, que os vírus de plantas eram inativados pelo calor, o procedimento passou a ser usado amplamente no estabelecimento de blocos nucleares de material básico isento de vírus. Na sequência, vários autores relataram que a combinação do cultivo de ápices meristemáticos com o tratamento térmico confere aumento da eficácia de eliminação de vírus, e os morangueiros regenerados desenvolvem-se mais rapidamente do que os controles virosados (CIESLINSKA, 2002; MULLIN et al., 1974; SOBCZYKIEWICZ, 1979). Em estudo de eliminação de SMYEV de morangueiros da cultivar Hood, foram observados os seguintes resultados: a) relação linear direta entre o tempo de exposição das plantas a 38 °C e a taxa de eliminação de SMYEV nas plantas regeneradas; e b) a infecção por SMYEV nas plantas regeneradas de meristemas excisados de plantas submetidas ao tratamento térmico diminuiu quando diminuiu o tamanho do explante (CONVERSE; TANNER, 1984; MULLIN et al., 1976). Os autores observaram que os dois tratamentos atuam de forma independente para reduzir a incidência de SMYEV. Entretanto,

não há uma regra geral – o efeito de ambos os procedimentos pode variar conforme a cultivar, a temperatura, o tempo de tratamento, o isolado viral e a espécie do vírus.

Regeneradas as plantas tratadas, segue-se a fase de avaliação de sua sanidade. Pouco tempo depois do reconhecimento da relevância prática do cultivo de ápices meristemáticos, meio século atrás, constatou-se que, ao contrário do que se assumia geralmente como válido, meristemas podem não estar completamente livres de vírus. Walkey e Webb (1968) demonstraram a presença de partículas e túbulos de SLRSV (Tabela 1) em meristemas de *Chenopodium quinoa* e *Cucumis sativus*. *Raspberry bushy dwarf virus* (RBDV) invade primórdios foliares e todos os tecidos meristemáticos da framboesa (WANG et al., 2008). As evidências da presença de vírus em meristemas acumulam-se em vários estudos. Entretanto, há relatos de que meristemas nos quais se constatou infecção viral deram origem a plantas saudas, após contato dos meristemas com o meio de cultivo (QUAK, 1977).

Esses fatos fundamentam a necessidade de que os métodos de avaliação de sanidade, além de serem sensíveis e específicos, fossem complementares. A confiabilidade da seleção de plantas saudas, testadas por testes imunoenzimáticos e moleculares, após a termoterapia, é afetada pelo título viral. Depois do tratamento térmico, algumas plantas regeneradas de meristemas podem apresentar absorbância (A_{405nm}) próxima ao controle negativo ou ter título viral abaixo do limite de detecção por ELISA, que, na sequência da termoterapia, volta a subir (CONVERSE; TANNE, 1984; GILLES; VERHOYEN, 1992; KNAPP et al., 1995; MILLER ; BELKENGREN, 1963). Disso resulta que a definição do que é uma reação negativa deve ser muito criteriosa. Reduzir o valor da relação positivo/negativo para avaliar reações positivas ou negativas pode, por exemplo, reduzir a probabilidade de resultado falso negativo (WANG et al., 2008).

Os testes biológicos de sanidade utilizam espécies, híbridos e clones de morangueiros silvestres, como *F. vesca*, *F. vesca* var. *semperflorens*, *F. virginiana* e *F. chiloensis*, nos quais se realiza enxertia de folhas com material proveniente da planta a ser indexada (CONVERSE, 1987). Três indexagens negativas, independentes e separadas são recomendadas para a seleção de matriz básica livre de vírus detectáveis. Daí ser pertinente inserir, na avaliação, uma inoculação mecânica em plantas hospedeiras herbáceas.

Testes moleculares, iniciadores de PCR e protocolos de PCR, RT-PCR e IC-RT-PCR estão estabelecidos para a maior parte dos principais vírus de morangueiros (KADEN-KREUZIGER

et al., 1995; MAHMOUDPOUR, 2004; MARTIN; TZANETAKIS, 2013; SCHOEN; LEONE, 1995; THOMPSON et al., 2003; THOMPSON; JELKMANN, 2003; TZANETAKIS et al., 2003). Antes de serem recomendados, iniciadores de reação devem ser validados para o diagnóstico de um amplo espectro de isolados virais, já que, provavelmente, só uma porção pequena da sequência viral é conservada e adequada para a detecção de todos ou da maior parte dos isolados de um vírus. O mesmo é válido para ELISA e as diversas variantes do teste imunoenzimático, nas quais tanto anticorpos monoclonais quanto policlonais podem falhar na captura do antígeno, em virtude da especificidade dos anticorpos. Wang et al. (2006) relatam que sondas biotinizadas de cDNA em hibridação *dot-blot* apresentam maior sensibilidade e especificidade do que ELISA na avaliação de plantas submetidas a termoterapia/cultivo de meristemas para a eliminação de vírus. Testes moleculares envolvendo *Fragaria* spp. devem ser cercados de precaução. Espécies desse gênero são especialmente recalcitrantes para a extração de ácidos nucleicos e vírus, provavelmente por causa do seu alto teor de metabólitos secundários, como taninos, polifenóis e polissacarídeos. Os problemas gerados por esses compostos levam comumente a inconsistências nas reações de detecção de vírus por (RT-) PCR, falsos negativos e dificuldades na reprodução de resultados relatados por vários autores (MRAZ et al., 1999; POREBSKI et al., 1997; POSTHUMA et al., 2001). Nesses casos, a passagem do inóculo para uma hospedeira herbácea pode ser necessária (RICHARDSON; SYLVESTER, 1988; SCHOEN; LEONE, 1995; THOMPSON et al., 2003).

Avaliações de sanidade de matrizes de morangueiros devem ser repetidas regularmente, considerando-se que plantas submetidas à eliminação de vírus não são imunes à infecção e podem, então, ser reinfetadas. Para reduzir esse risco, especialmente no caso de vírus transmitidos por vetores alados, é importante estabelecer um isolamento entre a produção de matrizes destinadas à produção de mudas e a zona de plantio comercial. A proteção de matrizes básicas por telados com tela antiafídica impede o acesso de vetores de vírus e a reinfecção. O uso de material micropropagado contribui para reduzir a presença de patógenos, como fungos de folhas e raízes, bactérias e nematoides.

O Grupo Internacional de Trabalho sobre Pequenas Frutas, da International Society of Horticultural Science (MARTIN, 2004), fez os testes laboratoriais e apresentou recomendações precisas sobre as plantas indicadoras recomendadas para a avaliação de sanidade do material básico de morangos.

Referências

- ARAÚJO, E.; BENATTO, A.; KUHN, T. M.; MOGOR, A. F.; ZAWADNEAK, M. A. C. Afídeos associados à cultura do morangueiro em sistema orgânico na região metropolitana de Curitiba. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 5.; ENCONTRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 4., Pelotas, 2010. **Palestras e resumos...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. p. 205.
- BARRITT, B. H.; LOO, H. Y. Effects of mottle, crinkle and mild yellow edge viruses on growth and yield of Hood and Northwest strawberries. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 53, n. 3, p. 605-607, 1973.
- BERTELS, A.; BAUCKE, O. Segunda relação das pragas das plantas cultivadas no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 1, p. 17-46, 1966.
- BETTI, J. A. Incidência do vírus do mosqueado em plantações de morangueiro no Estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia**, v. 5, p. 150-152, 1972.
- BETTI, J. A. Obtenção de material propagativo vegetal testado livre de vírus. In: CROCOMO, O. J.; SHARP, W. R.; MELO, M. **Biotechnology para produção vegetal**. Piracicaba: Centro de Biotecnologia Agrícola-Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiróz, 1991. p. 145-170.
- BETTI, J. A.; CAMARGO, A. S.; COSTA, A. S.; ALVES, S. Efeito isolado de três vírus e de dois complexos de vírus no vigor e na produção do morangueiro cultivar Campinas. **Summa Phytopathologica**, v. 5, n. 3/4, p. 159-164, 1979.
- BETTI, J. A.; COSTA, A. S.; PASSOS, F. A. Indexação de viroses de germoplasma de morangueiro introduzido no Instituto Agrônomo de 1983-1989. **Summa Phytopathologica**, v. 18, n. 1, p. 45, 1992. Resumo 70.
- BETTI, J. A.; KITAJIMA, E. W.; COSTA, A. S.; SANTOS, A. M. Determinação de 4 viroses no morangueiro 'Pelotas', cultivado no Rio Grande do Sul. **Fitopatologia**, v. 8, n. 3, p. 288, 1973. Resumo.
- CARVALHO, A. M. B.; COSTA, A. S. Ocorrência do vírus do mosqueado do morangueiro no Estado de São Paulo. **Bragantia**, v. 20, n. 19, p. 563-578, 1961.
- CASTRO, R. L. de. Melhoramento genético do morangueiro: avanços no Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2.; ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS, 1., 2004, Pelotas. **Palestras...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p. 21-35.
- CIESLINSKA, M. Elimination of *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV) from pear by in vitro thermotherapy and chemotherapy. **Acta Horticulturae**, v. 596, p. 481-484, 2002.
- CONVERSE, R. H. Detection and elimination of virus and viruslike diseases in strawberry. In: CONVERSE, R. H. (Ed.). **Virus diseases of small fruits**. Washington, DC: United States Department of Agriculture, 1987. p. 2-10.
- CONVERSE, R. H.; MARTIN, R. R.; TANNER, E.; SPIEGEL, S. *Tobacco necrosis virus* in strawberry. In: CONVERSE, R. H. (Ed.). **Virus diseases of small fruits**. Washington, DC: United States Department of Agriculture, 1987. p. 64-66.
- CONVERSE, R. H.; TANNER, E. Heat therapy and stolon apex culture to eliminate *Mild yellow edge* virus from Hood strawberry. **Phytopathology**, v. 74, n. 11, p. 1315-1316, 1984.
- DANIELS, J.; ASSIS, M. de. **Reinfecção de morangueiros por vírus no município de Pelotas-RS**. Pelotas: EMBRAPA-UEPAE de Cascata, 1983. 5 p. (EMBRAPA-UEPAE de Cascata. Comunicado Técnico, 36).
- DANIELS, J.; ASSIS, M. Incidência de viroses em morangais da encosta do sudeste do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, v. 4, p. 103, 1979. Suplemento.
- ENGELBRECHT, D. Studies on virus diseases of strawberries in the western Cape Province: II. The latent period of mild yellow-edge and crinkle viruses in the vector *Chaetosiphon fragaefolii* (Ckll). **South African Journal of Agricultural Science**, v. 10, p. 575-582, 1967.

- FRÁNOVÁ-HONETSLEGROVÁ, J.; SPAK, M.; ERBENOVÁ, J.; NEBESÁROVÁ, J.; MARTIN, R. R. Detection and identification of *Tobacco necrosis virus* in strawberry leaves in the Czech Republic. **Acta Horticulturae**, v. 471, p. 39-43, 1998.
- FRAZIER, N. W. Strawberry leafroll. In: CONVERSE, R. H. (Ed.). **Virus diseases of small fruits**. Washington, DC: United States Department of Agriculture, 1987. p. 61-62.
- FRAZIER, N. W. *Strawberry vein banding virus*. **Phytopathology**, v. 45, p. 307-312, 1955.
- GILLES, G. L.; VERHOYEN, M. **Viroses et maladies apparentées des arbres fruitiers et ornementaux: assainissement et selection**. Bruxelles: Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture, 1992. 166 p.
- HORN, N. L.; CARVER, R. G. Effect of three viruses on plant production and yields of strawberries. **Plant Disease Reporter**, v. 46, p. 762-775, 1962.
- HUNTER, B. G.; RICHARDSON, J.; DIETZGEN, R. G.; KARU, A.; SYLVESTER, E. S.; JACKSON, A. O.; MORRIS, T. J. Purification and characterization of *Strawberry crinkle virus*. **Phytopathology**, v. 80, n. 3, p. 282-287, 1990.
- JELKMANN, W.; MAISS, E.; MARTIN, R. R. The nucleotide sequence and genome organization of strawberry mild yellow edge-associated potexvirus. **Journal of General Virology**, v. 73, p. 475-479, 1992.
- JELKMANN, W.; MARTIN, R. R.; LESEMANN, D.-E.; VETTEN, H.-J.; SKELTON, F. A new potex virus associated with strawberry mild yellow edge disease. **Journal of General Virology**, v. 71, p. 1251-1258, 1990.
- KADEN-KREUZIGER, D.; LAMPRECHT, S.; MARTIN, R. R.; JELKMANN, W. Immunocapture polymerase chain reaction assay and ELISA for the detection of strawberry mild yellow edge associated potexvirus. **Acta Horticulturae**, v. 385, p. 33-38, 1995.
- KITAJIMA, E. W.; BETTI, J. A.; COSTA, A. S. Isometric, virus-like particles in leaf tissues of *Fragaria vesca* L. infected with *Strawberry mottle virus*. **Ciência & Cultura**, v. 23, n. 5, p. 649-655, 1971.
- KITAJIMA, E. W.; BETTI, J. A.; COSTA, A. S. Strawberry vein-banding virus, a member of the cauliflower mosaic virus group. **Journal General Virology**, v. 20, p. 117-119, 1973.
- KNAPP, E.; HANZER, V.; WEISS, H. H.; MACHADO, A. da C.; WEISS, B.; WANG, Q.; KATINGER, H.; MACHADO, M. L. da C. New aspects of virus elimination in fruit trees. **Acta Horticulturae**, v. 386, p. 409-417, 1995.
- KRCZAL, H. Investigations on the biology of the strawberry aphid (*Chaetosiphon fragaefolii*) the most important vector of strawberry viruses in West Germany. **Acta Horticulturae**, v. 129, p. 63-68, 1982.
- KRCZAL, H. Transmission of the strawberry mild yellow edge and crinkle virus by the strawberry aphid *Chaetosiphon fragaefolii*. **Acta Horticulturae**, v. 95, p. 23-30, 1979.
- LAMPRECHT, S.; JELKMANN, W. Infectious cDNA clone used to identify strawberry mild yellow edge-associated potexvirus as causal agent of the disease. **Journal of General Virology**, v. 78, p. 2347-2353, 1997.
- MAHMOUDPOUR, A. Diagnosis and quantification of *Strawberry vein banding virus* using molecular approaches. **Acta Horticulturae**, v. 656, p. 69-74, 2004.
- MARTIN, R. R. Recommended procedures for detection of viruses of small fruit crops. **Acta Horticulturae**, v. 656, p. 199-207, 2004.
- MARTIN, R. R.; HOKANSON, S. C.; MAAS, J. L.; HEFLEBOWER, R. F.; ROUSE, R. Survey of strawberry viruses occurring in commercial plantings in the State of Maryland, USA. **Acta Horticulturae**, v. 551, p. 71-74, 2001.
- MARTIN, R. R.; TZANETAKIS, I. E. Characterization and recent advances in detection of strawberry viruses. **Plant Disease**, v. 90, n. 4, p. 384-396, 2006.
- MARTIN, R. R.; TZANETAKIS, I. E. High risk strawberry viruses by region in the United States and Canada: implications for certification, nurseries, and fruit production. **Plant Disease**, v. 97, n. 10, p. 1358-1362, 2013.

- MELLOR, F. C.; KRCZAL, H. Strawberry mottle. In: CONVERSE, R. H. (Ed.). **Virus diseases of small fruits**. Washington, DC: United States Department of Agriculture, 1987. p. 10-16.
- MILLER, P. W.; BELKENGREN, R. O. Elimination of yellow edge, crinkle, and veinbanding viruses and certain other virus complexes from strawberries by excision and culturing of apical meristems. **Plant Disease Reporter**, v. 47, n. 4, p. 298-300, 1963.
- MOYER, C.; WHITAKER, V. M.; PERES, N. **Viral diseases of strawberries**. Gainesville: University of Florida, 2010. p. 1-7. (PP273).
- MRAZ, I.; PETRZIK, K.; CHVALOVA, D.; SIP, M.; FRANOVA, J. Experiences with testing of *Strawberry veinbanding virus* in strawberries by PCR and dot-blot hybridization. **Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, v. 106, n. 3, p. 231-236, 1999.
- MULLIN, R. H.; FRAZIER, N. W.; SCHLEGEL, D. E. Heat treatment increases the success of strawberry meristem tip culture. **Proceedings of the American Phytopathological Society**, v. 2, p. 116, 1976. Resumo.
- MULLIN, R. H.; SMITH, S. H.; FRAZIER, N. W.; SCHLEGEL, D. E.; MCCALL, S. R. Meristem culture frees strawberries of mild yellow edge, pallidosis and mottle diseases. **Phytopathology**, v. 64, p. 1425-1429, 1974.
- NICKEL, O.; SILVA, S. W. da; FAJARDO, T. V. M. *Strawberry crinkle virus* em morangueiros. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, p. S267, 2009. Suplemento. Resumo 901.
- POREBSKI, S.; BAILEY, L. G.; BAUM, B. R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 15, n. 1, p. 8-15, 1997.
- POSTHUMA, K. I.; HONG, Y. G.; ADAMS, A. N. Molecular detection of *Strawberry crinkle virus*. **Acta Horticulturae**, v. 551, p. 75-79, 2001.
- QUAK, F. Meristem culture and virus-free plants. In: REINER, J.; BAJAJ, Y. P. S. **Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture**. New York: Springer Verlag, 1977. p. 598-615.
- RICHARDSON, J.; SYLVESTER, E. S. Successful juice inoculation of the aphid-vectored strawberry crinkle virus. **California Agriculture**, v. 42, n. 5, p. 6-7, 1988.
- SCHOEN, C. D.; LEONE, G. Towards molecular detection methods for aphid-borne strawberry viruses. **Acta Horticulturae**, v. 385, p. 55-63, 1995.
- SCHOEN, C. D.; LIMPENS, W.; MOLLER, I.; GROENEVELD, L.; KLERKS, M. M.; LINDNER, J. L. The complete genomic sequence of *Strawberry crinkle virus*, a member of the *Rhabdoviridae*. **Acta Horticulturae**, v. 656, p. 45-49, 2004.
- SILVA, F. N. da; NICKEL, O.; BOGO, A.; FAJARDO, T. V. M. Ocorrência de viroses em morangos no Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. S144, 2006. Suplemento.
- SLACK, S. A. Pathogen-free plants by meristem-tip culture. **Plant Disease**, v. 64, n. 1, p. 14-17, 1980.
- SOBCZYKIEWICZ, D. Heat treatment and meristem culture for the production of virus-free strawberry plants. **Acta Horticulturae**, v. 95, p. 79-82, 1979.
- SPIEGEL, S.; COHEN, J.; CONVERSE, R. H. Detection of *Strawberry mild yellow edge virus* by serologically specific electron microscopy. **Acta Horticulturae**, v. 186, p. 95-96, 1986.
- STACE-SMITH, R.; CONVERSE, R. H.; JOHNSON, H. A. *Tobacco streak virus* in strawberries. In: CONVERSE, R. H. (Ed.). **Virus diseases of small fruits**. Washington, DC: United States Department of Agriculture, 1987. p. 57-60.
- STENGER, D. C.; MULLIN, R. H.; MORRIS, T. J. Characterization and detection of the strawberry necrotic shock isolate of *Tobacco streak virus*. **Phytopathology**, v. 77, n. 9, p. 1330-1337, 1987.

- STENGER, D. C.; MULLIN, R. H.; MORRIS, T. J. Isolation, molecular cloning, and detection of *Strawberry vein banding virus* DNA. **Phytopathology**, v. 78, p. 154-159, 1988.
- THOMPSON, J. R.; JELKMANN, W. The detection and variation of *Strawberry mottle virus*. **Plant Disease**, v. 87, n. 4, p. 385-390, 2003.
- THOMPSON, J. R.; LEONE, G.; LINDNER, J. L.; JELKMANN, W.; SCHOEN, C. D. Characterization and complete nucleotide sequence of *Strawberry mottle virus*: a tentative member of a new family of bipartite plant picorna-like viruses. **Journal of General Virology**, v. 83, p. 229-239, 2002.
- THOMPSON, J. R.; WETZEL, S.; KLERKS, M. M.; VASKOVÁ, D.; SCHOEN, C. D.; SPAK, J.; JELKMANN, W. Multiplex RT-PCR detection of four aphid-borne viruses in *Fragaria* spp. in combination with a plant mRNA specific internal control. **Journal of Virological Methods**, v. 111, n. 2, p. 85-93, 2003.
- TZANETAKIS, I. E.; HALGREN, A. B.; KELLER, K. E.; WINTERMANTEL, W. M.; MARTIN, R. R. Two criniviruses are associated with the strawberry pallidosis disease. **Acta Horticulturae**, v. 656, p. 21-21, 2004a.
- TZANETAKIS, I. E.; MACKEY, I. C.; MARTIN, R. R. *Strawberry necrotic shock virus* is a distinct virus and not a strain of *Tobacco streak virus*. **Archives of Virology**, v. 149, p. 2001-2011, 2004b.
- TZANETAKIS, I. E.; MARTIN, R. R. First report of strawberry as a natural host of *Apple mosaic virus*. **Plant Disease**, v. 89, n. 4, p. 431, 2005a.
- TZANETAKIS, I. E.; MARTIN, R. R. New features of the genus *Illavirus* revealed by the nucleotide sequence of *Fragaria chiloensis* latent virus. **Virus Research**, v. 112, n. 1-2, p. 32-37, 2005b.
- TZANETAKIS, I. E.; WINTERMANTEL, W. M.; MARTIN, R. R. First report of beet pseudo yellows virus in strawberry in the United States: a second crinivirus able to cause pallidosis disease. **Plant Disease**, v. 87, n. 11, p. 1398, 2003.
- WALKEY, D. G. A.; WEBB, M. J. W. Virus in plant apical meristems. **Journal of General Virology**, v. 3, n. 2, p. 311-313, 1968.
- WANG, L.; WANG, G.; HONG, N.; TANG, R.; DENG, X. Effect of thermotherapy on elimination of *Apple stem grooving virus* and *Apple chlorotic leaf spot virus* from in vitro-cultured pear shoot tips. **HortScience**, v. 41, n. 3, p. 729-732, 2006.
- WANG, Q.; CUELLAR, J. W. J.; RAJAMÄKI, M.-L.; HIRATA, Y.; VALKONEN, J. P. T. Combined thermotherapy and cryotherapy for efficient virus eradication: relation of virus distribution, subcellular changes, cell survival and viral RNA degradation in shoot tips. **Molecular Plant Pathology**, v. 9, n. 2, p. 237-250, 2008.
- WINTERMANTEL, W. M. **Emergence of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) transmitted Criniviruses as threats to vegetable and fruit production in North America**. Saint Paul: APS, 2004. Disponível em: <<http://www.apsnet.org/publications/apsnetfeatures/Pages/GreenhouseWhitefly.aspx>>. Acesso em: 11 jun. 2004.
- YOSHIKAWA, N.; OHKI, S. T.; KOBATAKE, H.; OSAKI, T.; INOUE, T. Luteovirus-like particles in phloem tissue of *Strawberry mild yellow edge virus* infected plants. **Japanese Journal of Phytopathology**, v. 50, n. 5, p. 659-663, 1984.

