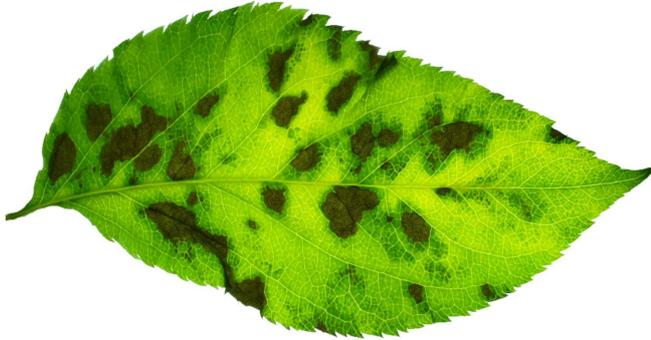


Fotos: Sílvia A. M. Alves.



Vírus latentes aumentam a suscetibilidade de macieira cv. Maxi Gala à mancha foliar de *Glomerella*

Silvio André Meirelles Alves¹
Osmar Nickel²
Thor Vinícius Martins Fajardo²

Introdução

Com aproximadamente 1,26 milhão de toneladas o Brasil ocupa posição de destaque entre os líderes da produção mundial de maçãs (IBGE, 2016). Doenças transmissíveis pela enxertia, como os vírus, afetam combinações sensíveis de copa e porta-enxerto. As macieiras (*Malus domestica* Borkh.) são infectadas por um grande número de vírus e agentes similares. As fontes de material propagativo em viveiros brasileiros e pomares comerciais estão geralmente infectadas por um ou mais vírus tais como: *Apple stem grooving virus* (ASGV), *Apple stem pitting virus* (ASPV) e *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV) (família *Betaflexiviridae*) (NICKEL et al., 2001).

Plantas infectadas por vírus sofrem diversas alterações ultra-estruturais, fisiológicas e/ou metabólicas durante o desenrolar da infecção e do desenvolvimento da doença (FAJARDO et al., 2004) provocando aumento de suscetibilidade a doenças fúngicas (GUERRA et al., 2012; LIU et al., 2006) e aumentando as perdas de produção (CIEŚLIŃSKA; RUTKOWSKI, 2008; HADIDI; BARBA, 2011) e

podem também provocar aumento de suscetibilidade a doenças fúngicas (GUERRA et al., 2012; LIU et al., 2006). Efeitos virais em macieiras sugerem um conjunto de interações similares àquelas verificadas em outras hospedeiras (WHITHAM et al., 2003). Existe, entretanto, pouca informação a respeito do impacto de diferentes infecções virais latentes sobre aspectos epidemiológicos da mancha foliar de *Glomerella* (MFG) (*Glomerella* leaf spot, GLS) em macieiras.

Macieiras cv. Maxi Gala, extensivamente plantadas no Brasil, são altamente sensíveis à MFG. Esta doença fúngica é causada por espécies do gênero *Colletotrichum*, do qual *C. gloeosporioides* é a espécie predominante nas condições climáticas do sul do Brasil. O inóculo primário da epidemia sobrevive ao inverno em ramos, gemas dormentes (CRUSIUS et al., 2002) e em folhas caídas ao solo (HAMADA, 2013). Similarmente a outros patossistemas em que *Colletotrichum* spp. causa manchas foliares, os eventos iniciais da infecção ocorrem em menos de 48 horas após a deposição dos conídios fúngicos na superfície foliar. Durante

¹ Engenheiro-agrônomo, Dr., Pesquisador, Embrapa Uva e Vinho, Estação Experimental de Fruticultura de Clima Temperado, Vacaria, RS. E-mail: silvio.alves@embrapa.br.

² Engenheiro-agrônomo, Dr., Pesquisador, Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS. E-mail: osmar.nickel@embrapa.br, thor.fajardo@embrapa.br.

este período, os conídios germinam, formam apressórios e desenvolvem as hifas de penetração (ARAÚJO; STADNIK, 2011). Como uma doença tipicamente policíclica, em que ciclos sucessivos de MFG ocorrem durante a estação vegetativa da macieira, a MFG causa perdas significativas em cultivares suscetíveis como Royal Gala, Golden Delicious, Belgolden, Granny Smith e Pink Lady, enquanto cultivares do grupo Delicious, como as Fuji possuem resistência completa, monogênica e recessiva ao fungo (FURLAN, et al., 2010). Níveis variáveis de suscetibilidade a MFG em genótipos suscetíveis não são facilmente reconhecíveis em campo. Entretanto sob condições controladas eles se expressam na forma de diferenças mensuráveis entre variáveis epidemiológicas (GUERRA et al., 2012). Considerando algumas das infecções virais que mais frequentemente ocorrem em macieiras, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de infecções simples e múltiplas de vírus latentes no desenvolvimento da MFG na cultivar Maxi Gala sob condições controladas.

Material e Métodos

As plantas de 'Maxi Gala' livres de ASGV, ACLSV e ASPV foram selecionadas para o experimento após indexagem biológica e análises por RT-PCR. Estacas dessa origem de 'Maxi Gala' foram enxertadas em plântulas de sementes de crescimento uniforme (5 a 8 mm de diâmetro). A inoculação de vírus foi realizada com duas borbulhas por planta, removidas de plantas-fonte de inóculo previamente indexadas. A caracterização dos inóculos presentes em plantas inoculadas foi realizada por RT-PCR. Ácidos nucléicos totais foram extraídos de casca de ramos por adsorção a partículas de óxido de silício (ROTT & JELKMANN, 2001), iniciadores e condições de termociclagem foram usados como descrito anteriormente (NICKEL et al., 1999; 2001; MENZEL et al., 2002; RADAELLI et al., 2006; SILVA et al., 2008). Os inóculos virais foram analisados também por testes biológicos em plantas indicadoras (NICKEL; FAJARDO, 2009).

Os tratamentos consistiram de controles sadios, plantas livres de vírus latentes (1), e plantas inoculadas com inóculos (borbulhas infectadas) de ASPV (2), ASPV + ASGV (3) e ASPV + ASGV + ACLSV (4). *Apple mosaic virus*, um outro

vírus que ocorre com certa frequência em macieiras, não foi detectado no material experimental usado neste estudo. Seis plantas em cada tratamento foram inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado CGF1, da coleção de isolados fúngicos da Embrapa Uva e Vinho. O patógeno foi cultivado em placas de Petri por 7-10 dias a 22 °C sob luz contínua. No final do cultivo do fungo, água esterilizada foi adicionada a cada placa e os conídios foram removidos por meio de pincel. A suspensão de conídios foi filtrada através de gaze e sua concentração foi ajustada para 10⁵ conídios/mL usando um contador de células. As plantas foram mantidas por um período de 24 horas antes e 48 horas após a inoculação em uma sala climatizada a temperatura constante de 22 °C e umidade relativa do ar ao redor de 95 %. O tempo de incubação antes da inoculação teve o objetivo de aclimatar as plantas às condições experimentais e favorecer o êxito da inoculação. O equipamento de controle da umidade relativa do ar foi desligado 48 horas após a inoculação para evitar a ocorrência de um ciclo adicional de desenvolvimento do patógeno. Durante todo o período de avaliação as plantas foram mantidas em umidade relativa do ar de 60%. Avaliações da incidência de infecção (número de lesões por folha) e da severidade da doença (porcentagem de área foliar afetada pela doença) foram realizadas 4, 5, 6, 7, 10, 11, 12 e 13 dias após a inoculação (d.a.i.). Para as avaliações, cinco folhas das mais jovens e completamente abertas de cada planta inoculada foram fotografadas sem serem arrancadas da planta. Consequentemente, todas as avaliações posteriores foram realizadas em fotos das mesmas folhas.

Dados sobre a frequência de infecção e da severidade da doença foram obtidos analisando-se as fotos na tela de um computador, respectivamente, por contagem direta de lesões e uso de uma escala diagramática (KOWATA et al., 2010).

Para os dados temporais (número de lesões e severidade), modelos monomoleculares e lineares, que usualmente descrevem o desenvolvimento de processos monocíclicos, foram ajustados para cada curva de progresso da doença usando-se regressão linear para os valores do número de lesões transformados ao modelo e valores de severidade versus o tempo. A escolha do modelo foi baseada em gráficos dos parâmetros residuais e estatísticos

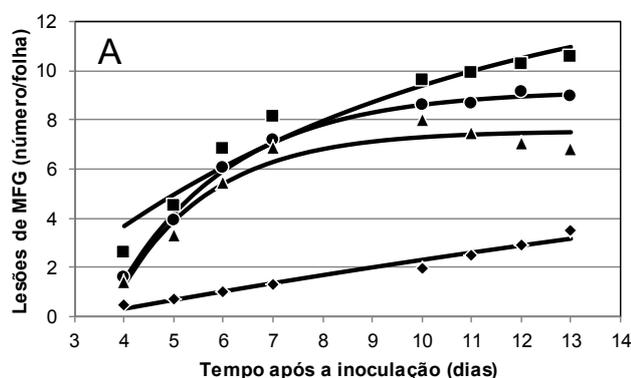
(MADDEN et al., 2007). Três parâmetros foram comparados para cada tratamento: inóculo inicial (Y_o), taxa aparente de infecção (r) e número máximo de lesões ou severidade (Y_{max}). Com base no modelo que mais se adaptou à curva de progresso da doença, o tempo para alcançar 50 % de incidência de doença (t_{50}), número de lesões, foi calculado, o que é indicativo do tempo de incubação (MADDEN et al., 2007).

Resultados e Discussão

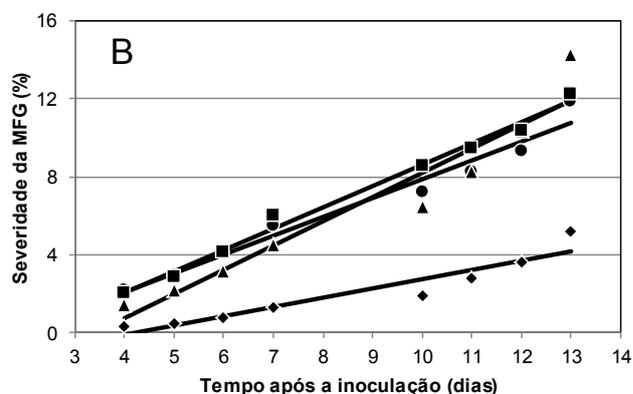
Tabela 1. Parâmetros estimados e coeficiente de variação (R^2) com dados de número de lesões por folha e severidade da mancha foliar de *Glomerella* em plantas infectadas por vírus e plantas-controle de macieiras saudias, ajustados para os modelos monomolecular e linear.

| Variável | Tratamento/vírus | Y_o | r^1 | Y_{max} | t_{50} | R^2 |
|------------------|---------------------|--------|-------|-----------|----------|-------|
| Número de lesões | ASPV | -33,56 | 0,43 | 9,21 | 5,2 | 0,99 |
| | ASPV + ASGV | -45,28 | 0,53 | 7,56 | 4,9 | 0,95 |
| | ASPV + ASGV + ACLSV | -3,46 | 0,13 | 14,32 | 7,1 | 0,95 |
| | Controles saudias | -1,23 | 0,03 | 11,83 | 25,0 | 0,97 |
| Severidade | ASPV | -1,77 | 0,97 | - | - | 0,97 |
| | ASPV + ASGV | -4,21 | 1,24 | - | - | 0,92 |
| | ASPV + ASGV + ACLSV | -2,31 | 1,09 | - | - | 0,99 |
| | Controles saudias | -1,99 | 0,48 | - | - | 0,90 |

¹Taxa aparente de crescimento, r_M para número de lesões e r_L para dados de severidade; os parâmetros Y_{max} e t_{50} não são passíveis de serem estimados no modelo linear.



- ASPV ($y=(9,21)*((1-(1-(-33,56))/(9,21))*exp(-(.43)*x))$)
- ▲ ASPV + ASGV ($y=(7,56)*((1-(1-(-45,27))/(7,56))*exp(-(.53)*x))$)
- ASPV + ASGV + ACLSV ($y=(14,32)*((1-(1-(-3,46))/(14,32))*exp(-(.13)*x))$)
- ◆ Controles saudias ($y=(11,83)*((1-(1-(-1,23))/(11,83))*exp(-(.03)*x))$)



- ASPV ($y = 0,97x - 1,77$)
- ▲ ASPV + ASGV ($y = 1,24x - 4,21$)
- ASPV + ASGV + ACLSV ($y = 1,09x - 2,31$)
- ◆ Controles saudias ($y = 0,48x - 1,99$)

Fig. 1. Curvas de progresso da doença e os respectivos modelos ajustados de MFG, número de lesões (A) e severidade de MFG (B) em plantas cv. Maxi Gala infectadas e não infectadas por vírus em condições controladas.

valores do período de incubação (t_{50}) apresentaram diferenças significativas entre plantas infectadas e os controles saudáveis. Nestes últimos os valores de t_{50} foram 3,5 a 5,1 vezes mais altos que nas plantas infectadas. Também o aumento da severidade da MFG foi mais rápido em plantas infectadas por vírus. A taxa aparente do crescimento da severidade (r_L) da doença em plantas infectadas por vírus foi mais de quatro vezes superior àquela dos controles não infectados.

Os dados finais de severidade aos 13 d.a.i. reforçam a hipótese de que a colonização das plantas pelo fungo foi mais rápida em plantas infectadas por vírus (Figura 2). O progresso da doença (número de lesões/folha) perdeu velocidade e tendeu a uma estabilização a partir do 10º dia. Por outro lado, a severidade da doença continuou a aumentar. Portanto, pode-se inferir que o progresso após o 10º dia foi acompanhado de aumento do tamanho e coalescimento das lesões. O coalescimento de lesões é muito comum para essa doença quando a severidade ultrapassa 10 %, como bem representado pela escala diagramática de Kowata et al. (2010).

O número maior de lesões no final do período

de avaliação em plantas infectadas por vírus é indicativo de que a reação do sistema de defesa sofreu inibição durante o processo de infecção por *C. gloeosporioides*. Este fato está em acordo com a observação de que, durante o processo de infecção e colonização, os fungos necessitam superar barreiras estruturais e de resposta bioquímica do sistema de defesa de plantas hospedeiras (VAN LOON, 1997).

Adicionalmente, o rápido aparecimento de sintomas da doença em macieiras da cv. Maxi Gala infectadas por vírus, que significa uma redução do período de incubação do patógeno (Figura 3), é uma evidência de que as infecções virais favoreceram o desenvolvimento do fungo durante a colonização da planta. LIU et al. (2006) demonstraram que a infecção de *Barley yellow dwarf virus* favoreceu a colonização por *Fusarium graminearum* de uma cultivar de trigo moderadamente resistente pela indução de uma redução da camada de material depositado pela planta para reforço da parede celular chamado papila ("papillae" ou "cell wall apposition") no local do ataque pelo fungo.

Foi observado que o aumento de lesões e da severidade da doença de MFG ocorreu sob condições desfavoráveis a novas infecções. O aparecimento

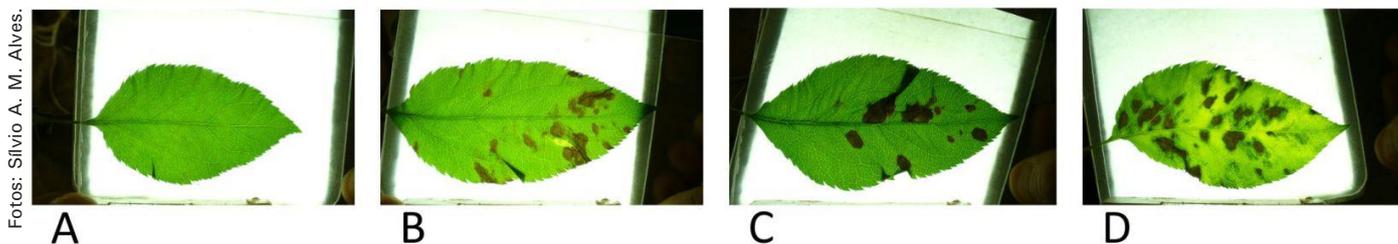


Fig. 2. Sintomas da Mancha Foliar da Gala (MFG) em folhas de macieira cv. Maxi Gala infectadas com *Apple chlorotic leaf spot virus* (CL), *Apple stem pitting virus* (SP) e *Apple stem grooving virus* (SG). (B., C., e D.). A. controle sadio, planta sem vírus; B. CL+SP+SG; C. SP+SG; D. SP. Figura apresenta uma de 5 folhas inoculadas em cada tratamento, 13 dias após a inoculação com *G. cingulata*, fungo causador da MFG.

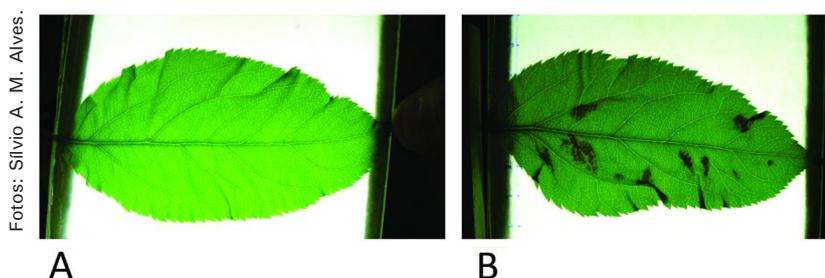


Fig. 3. Redução do período de incubação da Mancha Foliar de *Glomerella* (MFG) por infecções com *Apple chlorotic leaf spot virus* (CL), *Apple stem pitting virus* (SP) e *Apple stem grooving virus* (SG) em macieira cv. Maxi Gala. Figura apresenta uma de 5 folhas inoculadas em cada tratamento : A. Planta sem vírus. B. Planta infectada com CL+SP+SG, com sintomas de MFG na primeira avaliação, 4 dias após a inoculação com *Glomerella cingulata*.

de novas lesões tardias pode ser explicado pela capacidade de *C. gloeosporioides* de invadir a hospedeira e estabelecer com êxito uma infecção latente com restrita colonização. Estima-se que estas infecções latentes podem retomar o desenvolvimento em consequência da debilitação do tecido foliar com a progressão da doença.

O aparecimento de novas lesões até 13 d.a.i. era inesperado. Como o inóculo produzido nas primeiras lesões não encontrou as necessárias condições ambientais de germinação e penetração, para a qual é imprescindível a presença de água, ele não pode ter sido a fonte de infecções posteriores.

A função monomolecular, que é adequada para a análise de doenças que apresentam um rápido crescimento, seguido de estabilização, demonstrou bom ajuste aos dados de crescimento do número de lesões. Este tipo de crescimento ocorre sob condições controladas, sob as quais a doença tem somente um período inicial favorável para o seu desenvolvimento (BASSANEZI et al., 1998). Em condições de campo, sendo policíclica, a doença desenvolve-se diferentemente, usando conídios formados por lesões iniciais para o estabelecimento de novas infecções.

A observação de que novas lesões podem desenvolver-se a partir de infecções estabelecidas ocorridas muito antes da adoção de medidas de proteção tem grande relevância para a análise e interpretação de dados de monitoramento de MFG e o desenvolvimento de estratégias de controle. Uma consequência provável do aumento da suscetibilidade a MFG em macieiras infectadas por vírus pode ser a necessidade de um maior número de aplicações de fungicidas para o controle da MFG em certas cultivares.

Infecções virais podem, portanto, agir na contra-mão de modernas estratégias de controle de doenças desenhadas para reduzir o impacto ambiental da produção de plantas. Assim como no presente estudo, aumento de suscetibilidade à "requeima da folha do milho" causada pelo fungo *Bipolaris maydis* foi relatado em milho infectado por *Sugarcane mosaic virus* e *Mayze dwarf mosaic virus* (MEYER & PATAKI, 2010). Similarmente, a presença da infecção de *Bean pod mottle virus* aumentou a infecção de sementes por *Phomopsis longicolla*, induzindo maturação retardada de grãos de soja

(SOTO-ARIAS & MUNKVOLD, 2011).

Mais recentemente os mecanismos subjacentes à expressão de sintomas foram associados com a regulação, indução ou repressão de genes de defesa em consequência da infecção por patógenos em muitas espécies de plantas infectadas por vírus (CHEN et al., 2014; ALFENAS-ZERBINI et al., 2009). Reações de defesa incluem a formação de deposição de papilas na parede celular que limita o crescimento dos haustórios (LIU et al., 2006), aumento da síntese de proteínas relacionadas à patogênese (VAN LOON, 1997) e aumento do acúmulo de compostos fenólicos que bloqueiam o desenvolvimento dos fungos (ARAÚJO et al., 2011), entre outros efeitos. ESPINOZA et al. (2007) relatam que após a infecção de *Grapevine leafroll-associated virus 3* muitos genes que codificam compostos associados às membranas celulares e envolvidos com funções de transporte, como monossacarídeos e outros transportadores, foram ativados.

Dados produzidos por este estudo mostram que os vírus *Apple chlorotic leaf spot virus*, *Apple stem pitting virus* e *Apple stem grooving virus*, usados como inóculo para infectar plantas da macieira cv. Maxi Gala encurtaram significativamente o período de incubação (t_{50}) da mancha foliar de *Glomerella* em 3,5 a 5,1 vezes comparativamente aos controles sadios. As duas taxas estimadas de crescimento da MFG (r), baseadas em severidade e número de lesões, revelaram aumento da suscetibilidade em plantas infectadas por vírus relativamente às plantas sadias. Isto se traduz em significativa pré-disposição de plantas infectadas ao estabelecimento e mais rápido desenvolvimento da epidemia da MFG em macieiras deste grupo de variedades.

Conclusão

Infecções do vírus *Apple stem pitting virus*, individualmente ou em associação com o *Apple stem grooving virus* e *Apple chlorotic leaf spot virus*, favorecem substancialmente o crescimento e desenvolvimento do fungo patogênico *C. gloeosporioides* em macieiras cv. Maxi Gala. Observa-se aceleração da epidemia da MFG nesta cultivar, reduzindo significativamente o período de incubação da doença, e aumentando a suscetibilidade das plantas ao fungo.

Referências

- ALFENAS-ZERBINI, P.; MAIA, I. G.; FÁVARO, R. D.; CASCARDO, J. C.; BROMMONSCHENKEL, S. H.; ZERBINI, F. M. Genome-wide analysis of differentially expressed genes during the early stages of tomato infection by a potyvirus. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 22, n. 3, p. 352-361, Mar. 2009. Doi: 10.1094/MPMI-22-2-0352.
- ARAÚJO, L.; STADNIK, M. J. Processo infeccioso e atividade de enzimas em plântulas de macieiras de genótipo resistente ou suscetível à mancha foliar de *Glomerella* causada por *Colletotrichum gloeosporioides*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 4, p. 241-248, ago. 2011. Doi: 10.1590/S1982-56762011000400005.
- BASSANEZI, R. B.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; HAU, B. Effects of bean line pattern mosaic virus on the monocyclic components of rust and angular leaf spot of *Phaseolus* bean at different temperatures. **Plant Pathology**, v. 47, n. 3, p. 289-298, June 1998. Doi: 10.1046/j.1365-3059.1998.00239.x.
- CHEN, S.; YE, T.; HAO, L.; CHEN, H.; WANG, S.; FAN, Z.; GUO, L.; ZHOU, T. Infection of Apple by Apple Stem Grooving Virus Leads to Extensive Alterations in Gene Expression Patterns but No Disease Symptoms. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, 2014. Online e95239. Doi:10.1371/journal.pone.0095239.
- CIEŚLIŃSKA, M.; RUTKOWSKI, K. P. Effect of *Apple Chlorotic Leaf Spot Virus* on Yield and Quality of Fruits from 'Golden Delicious' and 'Sampion' Apple Trees. **Acta Horticulturae**, v. 781, p. 119-124, 2008. Doi: 10.17660/ActaHortic.2008.781.17.
- CRUSIUS, L. U.; FORCELINI C. A.; SANHUEZA, R. M. V.; FERNANDES, J. M. C. Epidemiology of apple leaf spot. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 65-70, Jan./Feb. 2002. Doi: 10.1590/S0100-41582002000122210.
- ESPINOZA, C.; VEGA, A.; MEDINA, C.; SCHLAUCH, K.; CRAMER, G.; ARCE-JOHNSON, P. Gene expression associated with compatible viral diseases in grapevine cultivars. **Functional & Integrative Genomics**, v. 7, n. 2, p. 95-110, 2007. Doi:10.1007/s10142-006-0031-6.
- FAJARDO, T. V. M.; EIRAS, M.; SANTOS, H. P.; NICKEL, O.; KUHN, G. B. Detecção e caracterização biológica e molecular de *Rupestris stem-pitting associated virus* e seu efeito na fotossíntese de videiras. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 209-214, 2004. Doi: 10.1590/S0100-41582004000200016.
- FURLAN, C. R. C.; DANTAS, A. C. de M.; DENARDI, F.; BECKER, W. F.; MANTOVANI, A. Resistência genética dos acessos do banco de germoplasma de macieira da Epagri à mancha foliar de *glomerella* (*Colletotrichum gloeosporioides*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 507-514, 2010. Doi: 10.1590/S0100-29452010000200022 .
- GUERRA, D. S.; NICKEL, O.; DEL PONTE, E. M.; SANHUEZA, R. M. V.; FAJARDO, T. V. M.; MARODIN, G. A. B. Development of *Glomerella* leaf spot is enhanced in virus-infected Maxi Gala apples. **Journal of Plant Pathology**, v. 94, n. 1, p. 237-241, 2012. Doi: <http://dx.doi.org/10.4454/jpp.fa.2012.017>.
- HADIDI, A.; BARBA, M. Economic impact of pome and stone fruit viruses and viroids. In: HADIDI, A.; BARBA, M.; CANDRESSE, T.; JELKMANN, W. (Eds). **Virus and Virus-like diseases of pome and stone fruits**. Saint Paul: American Phytopathological Society, 2011. p 1-7, cap. 1.
- HAMADA, N. A. **Epidemiologia da Mancha Foliar de *Glomerella* em Macieira**. 2013. 100 p. Tese: Doutorado em Produção Vegetal. Universidade Federal do Paraná, Programa de pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Curitiba, 2013.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático de Produção Agrícola**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa>>. Acesso em: 23 jun. 2016.
- KOWATA, L. S.; STRAPASSON, M.; CHALLIOL, M. A.; MAY-DE-MIO, L. L. *Glomerella* leaf spot in apple: validation of proposed diagrammatic scale and efficiency of fungicides. **Ciência Rural**, v. 40, n. 7, p. 1502-1508, July 2010. Doi: 10.1590/S0103-84782010000700004.

LIU, Y.; KANG, Z.; BUCHENAUER, H. Ultrastructural and immunocytochemical studies on effects of Barley yellow dwarf virus-infection on fusarium head blight, caused by *Fusarium graminearum*, in wheat plants. **Journal of Phytopathology**, v. 154, n. 1, p. 6-15, Jan. 2006. Doi: 10.1111/j.1439-0434.2005.01048.x.

MADDEN, L.V.; HUGHES, G.; VAN DEN BOSCH, F. **Study of Plant Disease Epidemics**. St Paul: The American Phytopathological Society, APS Press, 2007.

MENZEL, W.; JELKMANN, W.; MAISS, E. Detection of four apple viruses by multiplex RT-PCR assays with coamplification of plant mRNA as internal control. **Journal of Virological Methods**, v. 99, n. 1-2, p. 81-92, Jan. 2002. Doi: 10.1016/S0166-0934(01)00381-0.

MEYER, M. D.; PATAKY, J. K. Increased severity of foliar diseases of sweet corn infected with Maize dwarf mosaic and Sugarcane mosaic viruses. **Plant Disease**, v. 94, n. 9, p. 1093-1099, Sept. 2010. Doi: 10.1094/PDIS-94-9-1093.

NICKEL, O.; FAJARDO, T. V. M.; JELKMANN, W.; KUHN, G. B. Sequence analysis of the capsid protein gene of an isolate of Apple stem grooving virus, and its survey in Southern Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 655-659, 2001. Doi: 10.1590/S0100-41582001000300014.

NICKEL, O.; FAJARDO, T. V. M. **Obtenção de material propagativo livre de vírus e diagnóstico de vírus em macieiras e pereiras**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2009. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 69).

NICKEL, O.; JELKMANN, W.; KUHN, G. B. Occurrence of Apple stem grooving capillovirus in Santa Catarina, Brazil, detected by RT-PCR. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, n. 3, p. 444-446, 1999.

RADAELLI, P.; NICKEL, O.; SCHONS, J.; ARAGÃO, F. J. L.; FAJARDO, T. V. M. Diagnóstico biológico e molecular e análise da sequência de nucleotídeos do gene da proteína capsidial de um isolado do *Apple stem pitting virus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 51-56, 2006. Doi: 10.1590/S0100-41582006000100009.

ROTT, M. E.; JELKMANN, W. Characterization and detection of several filamentous viruses of cherry: adaptation of an alternative cloning method (DOP-PCR), and modification of an RNA extraction protocol. **European Journal of Phytopathology**, v. 107, n. 4, p. 411-420, May 2001. Doi: 10.1023/A:1011264400482.

SILVA, F. N. da; NICKEL, O.; FAJARDO, T. V. M.; BOGO, A. Indexação biológica múltipla e RT-PCR para detecção de vírus latentes em macieiras. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 2, p. 157-161, Mar./Apr. 2008. Doi: 10.1590/S1982-56762008000200011.

SOTO-ARIAS, J. P.; MUNKVOLD, G. P. Effects of virus infection on susceptibility of soybean plants to *Phomopsis longicolla*. **Plant Disease**, v. 95, n. 5, p. 530-536, May 2011. Doi: 10.1094/PDIS-10-10-0767.

VAN LOON, L. C. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. **European Journal of Plant Pathology**, v. 103, p. 753-765, 1997.

WHITHAM, S. A.; QUAN, S.; CHANG, H. S.; COOPER, B.; ESTES, B.; ZHU, T.; WANG, X.; HOU, Y. M. Diverse RNA viruses elicit the expression of common sets of genes in susceptible *Arabidopsis thaliana* plants. **The Plant Journal**, v. 33, n. 2, p. 271-283, Jan. 2003. Doi: 10.1046/j.1365-313X.2003.01625.x.

Comunicado Técnico, 188

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Uva e Vinho
Rua Livramento, 515 - Caixa Postal 130
95701-008 Bento Gonçalves, RS
Fone: (0xx) 54 3455-8000
Fax: (0xx) 54 3451-2792
<https://www.embrapa.br/uva-e-vinho/>

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



1ª edição

Comitê de Publicações

Presidente: César Luis Girardi
Secretária-executiva: Sandra de Souza Sebben
Membros: Adeliano Cargnin, Alexandre Hoffmann, Ana Beatriz da Costa Czermainski, Henrique Pessoa dos Santos, João Caetano Fioravanço, João Henrique Ribeiro Figueredo, Jorge Tonietto, Rochelle Martins Alvorcem e Viviane Maria Zanella Bello Fialho

Expediente

Editoração gráfica: Cristiane Turchet
Normalização bibliográfica: Rochelle Martins Alvorcem