

MACIEIRA CV. FUJI SUPREMA: SANIDADE VIRAL CONFIRMADA POR INDEXAGEM MOLECULAR E BIOLÓGICA

Introdução

Infecções virais no material propagativo de macieiras (*Malus spp.*) na região Sul do Brasil são comuns. Ocorrem geralmente na forma de infecções virais múltiplas, geralmente em conjunto com outras disfunções de natureza infecciosa ainda não esclarecida. Destacam-se entre os agentes mais frequentes no Brasil os vírus apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV), apple stem grooving virus (ASGV), apple stem pitting virus (ASPV), associados à deterioração do sistema vascular e ao declínio de macieiras enxertadas em porta-enxertos sensíveis. Entre outras síndromes de provável natureza viral incluem-se declínios de macieiras que ocorrem também no Brasil. Recentemente foram diagnosticados três novos vírus de macieiras nos Campos de Cima da Serra, RS: o apple rubbery wood virus (ARWV) 1 e 2, o citrus concave gum-associated virus (CCGaV) (Nickel et al., 2020), já relatados em associação com diversos declínios de plantas nos EUA, Canadá, Europa e Coreia do Sul (Rott et al., 2018; Wright et al., 2018). Ademais, foi detectado por sequenciamento de alto desempenho (HTS) o viroide apple hammerhead viroid (AHVd) (Nickel; Fajardo, 2021).

Plantas infectadas por vírus sofrem complexas alterações fisiológicas e bioquímicas que reduzem a produção e a produtividade, a qualidade dos frutos (calibre) e a longevidade dos pomares e podem aumentar a suscetibilidade das plantas infectadas a outros patógenos. O metabolismo das macieiras infectadas sofre alterações na regulação de inúmeros genes, positiva e negativamente, muitas vezes sem que sintomas

presença dos novos vírus, mais recentemente relatados em macieiras no Brasil (Nickel et al. 2020; Nickel; Fajardo, 2021), entre os quais se destacam os vírus associados à doença do lenho mole no Canadá, EUA, Japão e Alemanha, o apple rubbery wood virus (ARWV) 1 e 2 (Rott et al., 2018) e o vírus associado à gomose côncava dos citrus (citrus concave gum-associated virus, CCGaV) também relatado como envolvido com o declínio de macieiras no oeste dos EUA (Wright et al., 2018).

Resultados

As análises moleculares e a bioindexagem demonstraram que as plantas obtidas estão livres dos vírus latentes ASGV, ASPV, ACLSV, cujas espécies pertencem à família Betaflexiviridae, comuns em macieiras, dois dos quais, ASGV e ACLSV, estavam presentes nas plantas-mãe antes do tratamento. Duas plantas, com os códigos F4P1 e F4P2, apresentaram resultados conclusivos de RT-PCR negativa para os vírus analisados do grupo de vírus latentes já conhecido anteriormente.

As análises revelaram que, adicionalmente, as plantas tratadas da cv. Fuji Suprema (F4P1 e F4P2) estão livres dos vírus apple rubbery wood virus 1 e 2 e citrus concave gum-associated virus, pertencentes às espécies da família Phenuiviridae, recentemente relatados por primeira vez em macieiras no Brasil.

As plantas sadias obtidas pelo tratamento foram enxertadas em porta-enxerto CG202 estão sendo avaliadas em experimento de campo em lote comercial.

sejam perceptíveis visivelmente.

A propagação vegetativa de fruteiras lenhosas sobre porta-enxertos, para acelerar a entrada em produção e conferir certas características às copas, facilita a transmissão e acumulação de vírus através de gerações na produção de mudas. Isto resulta da seleção descuidada do material propagativo, sem avaliação criteriosa da sanidade viral.

Estudos econômicos demonstram a relevância dos investimentos na sanidade do material propagativo para a atividade frutícola no hemisfério norte. Os retornos documentados dos investimentos públicos nos Estados Unidos em programas de limpeza clonal variam até 150 dólares americanos de retorno por cada dólar investido na pesquisa (Fuchs et al., 2021).

O uso de material de propagação sadio é o mais eficaz método de controle de vírus em plantas. Os procedimentos de eliminação de vírus (PEVs) mais utilizados incluem a termoterapia e a quimioterapia, frequentemente em combinação com o cultivo de meristemas, tecidos geralmente sadios devido à ausência de vascularização o que dificulta (mas não impede) a invasão do tecido por vírus. O estudo aqui relatado produziu plantas de macieiras cv. Fuji Suprema de sanidade, sanidade superior em relação ao material em uso pelo setor.

Material e métodos.

Para o PEV foram usadas estacas da cv. Fuji Suprema oriunda do programa de melhoramento da Empresa Catarinense de Pesquisa Agropecuária (Epagri), SC, (Epagri 405 (Fuji Suprema) https://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php), Registro Nacional de Cultivares (RNC) nº 00115, transferidas da Epagri, Caçador, SC, para a Embrapa Uva e Vinho. Foram propagadas com código interno de acesso M095 em porta-enxertos de sementes da cv. Royal Gala e analisados por RT-PCR e indexagem biológica dos três vírus latentes, já conhecidos e amplamente disseminados na região, utilizando-se protocolos já relatados. Segmentos de ramos da cv. F. Suprema foram tratados por termoterapia e removidos e cultivados os meristemas. Aclimação de regenerantes ocorreu em substrato comercial autoclavado em casa de vegetação. Após o tratamento (PEV), extratos de ácidos nucleicos totais da cultivar tratada foram analisados para os vírus latentes ASGV, ACLSV e ASPV já anteriormente conhecidos por RT-PCR e por bioindexagem nas indicadoras lenhosas (*Malus spp.*) cvs. Spy227, Virginia Crab, LL-S5, Radiant Crab, M. platycarpa, M. micromalus e Pyronia veitchii com observação por três anos (três brotações). Adicionalmente as plantas tratadas foram analisadas por RT-PCR quanto à

Discussão

É especialmente relevante a comprovação da ausência de ASGV (além de ASPV e ACLSV) na cv. Fuji Suprema tratada. Este é o vírus latente mais frequentemente diagnosticado em macieiras, por outro lado, o agente patogênico, entre os vírus latentes da macieira, de mais difícil eliminação dos tecidos da macieira. É comum constatar-se infecções residuais de ASGV meses ou até anos após a conclusão do tratamento térmico. A termo sensibilidade do vírus ASGV é significativamente menor que a do vírus ACLSV, por exemplo. Após PEVs, a concentração de partículas de ASGV pode ter sido somente reduzida a níveis que podem dificultar a detecção, a exemplo do ASGV, enquanto nas mesmas condições, o ACLSV, geralmente, é completamente removido. Ambos os vírus são responsáveis em infecções mistas pela redução substancial do vigor, da produtividade e da longevidade dos pomares e morte de plantas nos viveiros devido a cancrios na união de enxertia em combinações suscetíveis (Fig. 1A).

Entre os vírus de macieiras relatados recentemente no Brasil (Nickel et al., 2020; Nickel;Fajardo, 2021) ARWV 1 e 2 e CCGaV estão associados à doença do lenho mole da macieira (LMM), podendo reduzir significativamente a produção de maçãs em cerca de 30%. O LMM é doença degenerativa que provoca o bloqueio da síntese da lignina em vasos e fibras do xilema, cujos sintomas requerem períodos de vários anos até serem reconhecidas como uma doença pelos fruticultores. Ramos se curvam sob o próprio peso. É significativo para a pomicultura subtropical que, em climas com predominância de calor, como o das regiões pomicultoras brasileiras, os sintomas da doença LMM podem desenvolver-se mais lentamente que nos climas temperados do hemisfério norte. Em consequência, a infecção aqui pode ser mascarada, dificultando seu reconhecimento precoce e eventual eliminação das plantas infectadas. Em climas temperados o tempo de incubação flutua entre 1 a 3 ou mais anos, a depender da sensibilidade da cultivar (Rott et al., 2018). As cvs. Gravenstein, Lord Lambourne, Gala and Golden Delicious são consideradas sensíveis (Fig.1B), mas a cv. Fuji também é afetada pelo lenho mole. ARWV 1 e 2, e CCGaV já foram diagnosticados em amostras das cvs. dos grupos Gala e Fuji, das principais regiões produtoras do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. Daí a grande relevância econômica do diagnóstico e da ausência destes vírus da mais importante cultivar do grupo Fuji no Brasil. Os resultados do presente estudo contribuem para o aumento do nível de sanidade dos novos pomares. Experimento de campo com as plantas obtidas encontra-se em execução em lote comercial.

Os autores agradecem ao técnico Marcos F. Vanni (análises laboratoriais ao assistente Heitor Corbellini (enxertias) e ao CNPq por bolsas de Iniciação Científica concedidas. O trabalho foi financiado pela Embrapa (projetos 20.18.03.036.00.00 e 03.013.05.007.00.00).

Referências

Fuchs, M.; Almeyda, C.V.; Al Rwahnih, M.; Atallah, S.S.; Cieniewicz, E.J.; Farrar, K.; Foote, W.R.; Golino, D.A.; Gómez, M.I.; Harper, S.J.; Kelly, M.K.; Martin, R.R.; Martinson, T.; Osman, F.M.; Park, K.; Scharlau, V.; Smith, R.; Tzanetakis, I.E.; Vidalakis, G.; Welliver, R. Economic studies reinforce efforts to safeguard specialty crops in the United States. *Plant Disease*, v. 105, n. 1 p.14-26. Jan 2021. doi: 10.1094/PDIS-05-20-1061-FE.

Nickel, O.; Fajardo, T.V.M.; Candresse, T. First Report on Detection of Three Bunya-Like Viruses in Apples in Brazil. *Plant Disease*, v. 104, n. 11, Nov. 2020. doi.org/10.1094/PDIS-02-20-0283-PDN

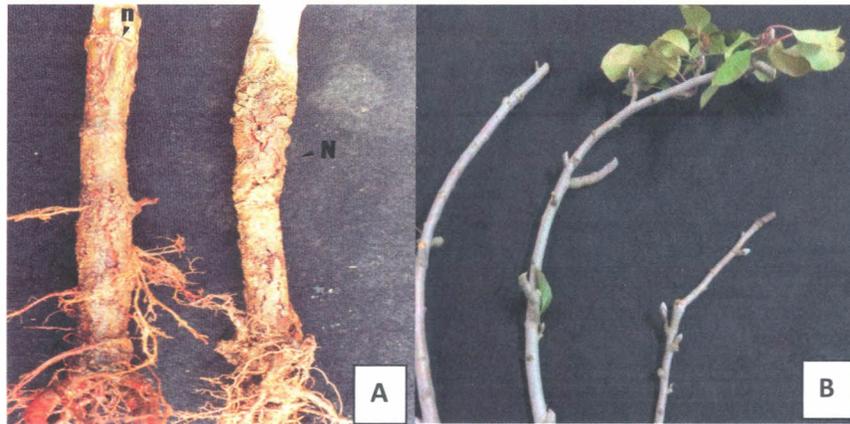


Figura 1. A. Planta de viveiro, Necrose na união de enxertia (N) cv. Royal Gala/M9/Maruba, Fraiburgo, SC (Foto: Osmar Nickel). B. Curvatura de ramos (cerca de 15 a 30 cm) da cv. Gala, suspeição de infecção pela doença do Lenho Mole, Vacaria, RS, 2016 (Foto: Rosa Maria Valdebenito-Sanhueza).

Nickel, O.; Fajardo, T.V.M. Novas viroses diagnosticadas em macieiras no Brasil por sequenciamento de alto desempenho (HTS). Bento Gonçalves, RS; Embrapa Uva e Vinho, jun. 2021, 18 p. Circular Técnica 161,

Disponível em:

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/224400/1/CircularTec-161-o.pdf>. Acesso em: 22 jan. 2024.

Rott, M.E.; Kesanakurti, P.; Berwarth, C.; Rast, H.; Boyes, I.; Phelan, J.; Jelkmann, W. Discovery of Negative-sense RNA viruses in trees infected with apple rubbery wood disease by next-generation sequencing. *Plant Disease*, v. 102, n. 7, p.1254-1263, Jul 2018. DOI: 10.1094/PDIS-06-17-0851-RE

Wright, A. A.; Szostek, S. A.; Beaver-Kanuya, E.; Harper, S. J. Diversity of three bunya-like viruses infecting apple. *Archives of Virology* v.163, p. 3339–3343. Aug. 2018. DOI: 10.1007/s00705-018-3999-z.

Autores:

Osmar Nickel, Thor V. M. Fajardo.

Embrapa Uva e Vinho

Rua Livramento, 515. Bento Gonçalves | RS. CEP 95.701-008

Fone: 54 3455 - 8000.

Emails de contato:

osmar.nickel@embrapa.br,

thor.fajardo@embrapa.br