

# Comunicado 156

---

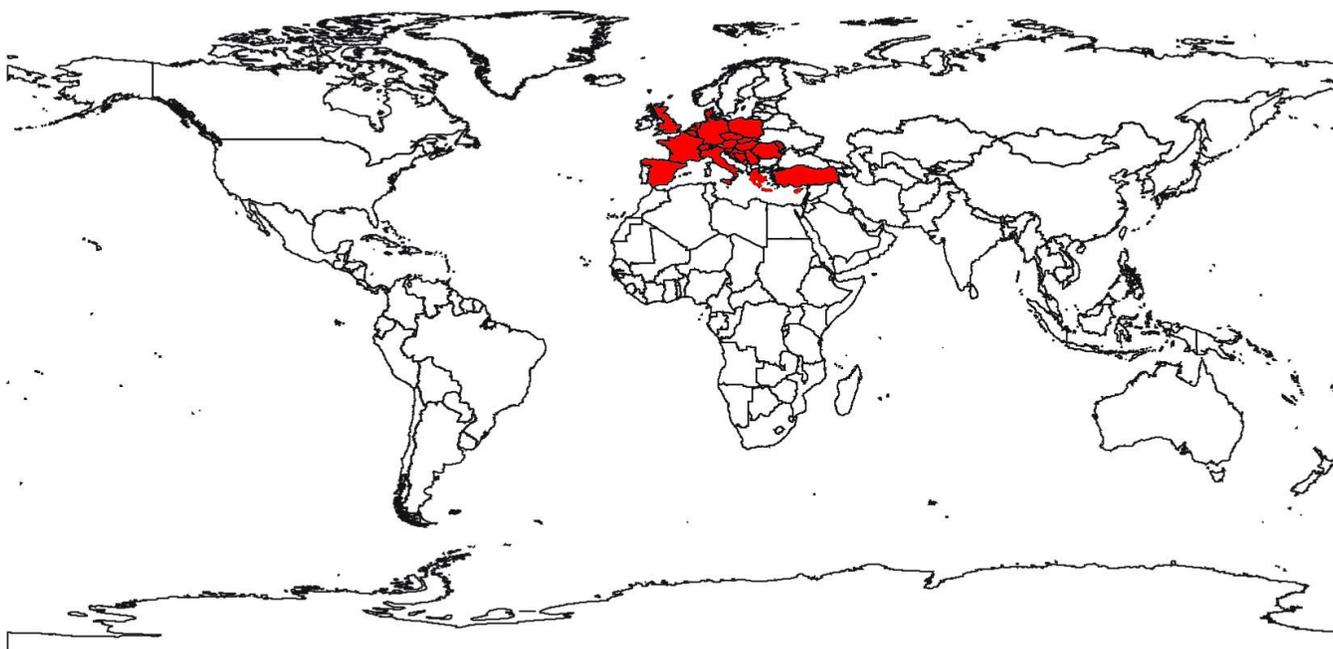
## Técnico

ISSN 9192-0099  
Julho, 2007

Vera Lúcia de Almeida Marinho<sup>1</sup>  
Maria de Fátima Batista<sup>2</sup>  
Robert Miller<sup>3</sup>

### PRAGA QUARENTENÁRIA A1\*

### “Apple Proliferation Phytoplasma”



■ Distribuição geográfica do “Apple proliferation Phytoplasma”.

<sup>1</sup>Bióloga, PhD. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>2</sup>Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>., PhD. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Biólogo, PhD. Universidade Católica

\*Praga quarentenária A1: praga de importância econômica potencial para uma determinada área e onde ainda não está presente.

## Introdução

O fitoplasma do “*Apple proliferation*” (AP), reportado pela primeira vez na Itália em 1950 por Rui et al. (1950) (LOI, et al., 2002), é considerado como uma das mais importantes pragas da macieira. A doença se caracteriza pela proliferação desordenada de folhas terminais, tendo os galhos o aspecto da chamada “vassoura de bruxa”. Afeta a maioria das cultivares de *Malus* e pode causar até 50% de redução no tamanho dos frutos, diminuindo o seu peso em até 74%. Com isso, a qualidade dos frutos é afetada drasticamente tornando-os economicamente inviáveis para o comércio. A doença causa ainda, diminuição no vigor da planta, aumentando sua susceptibilidade a outros patógenos (EPPO, 1992). No sul da Europa foram reportados danos na produção de até 80% (SEEMÜLLER, 1990) e recentemente, novas epidemias dessa doença, foram relatadas na Itália (LOI et al., 1995; FRISINGHELLI et al., 2000).

O principal meio de transmissão dessa praga é por enxertia, sendo estacas de macieiras infectadas o principal meio de disseminação da doença. O contato entre raízes de plantas vizinhas constitui importante forma de dispersão do patógeno dentro do pomar (SEEMÜLLER, 1990).

Esta praga ocorre em toda a Europa sendo classificada como praga de Quarentena A2 para a *European and Mediterranean Plant Protection Organization* (EPPO). Para o *Comite Regional de Sanidad Vegetal para el Cono Sur* (COSAVE) e para a *North American Plant Protection Organization* (NAPPO), essa praga é considerada de Quarentena A1 (CAB INTERNATIONAL, 1998).

**Nome científico da praga:** *Apple proliferation phytoplasma*

**Classe:** Mollicutes

**Ordem:** Acholeplasmatales

**Família:** Acholeplasmataceae

**Gênero:** Phytoplasma

**Nomes Comuns**

Apple proliferation

Witche’s broom

Maladie des proliférations du pommier

Triebsucht des Apfels

Proliferaciones del manzano

## Planta Hospedeira

*Malus pumila* (CAB INTERNATIONAL, 1998)

*Malus sp.* (CAB INTERNATIONAL, 1998)

## Planta indicadora

*Catharanthus roseus* (CAB INTERNATIONAL, 1998)

## Variabilidade da espécie

Não existe relato de raças ou estirpes do “*Apple proliferation*” e as principais plantas hospedeiras desse fitoplasma são as espécies do gênero *Malus*. Cada cultivar reage diferentemente à doença, mas a maioria é sensível. As cultivares mais sensíveis são, “*Belle de Boskoop*”, “*Gravenstein*”, “*Starking*”, “*Golden Delicious*” e “*Winter Banana*”. A cultivar “*Roja de Benejama*” parece tolerar a infecção (SEEMÜLLER, 1990).

Já foram encontradas pereiras apresentando sintomas de AP, no entanto, a presença do patógeno nunca ficou evidenciada (SEEMÜLLER, 1990).

## Distribuição geográfica

### Ásia:

Chipre (CAB INTERNATIONAL, 1998)

Turquia (CAB INTERNATIONAL, 1998)

Índia (não confirmado, CAB INTERNATIONAL, 1998)

### África:

África do Sul (não confirmado, CAB INTERNATIONAL, 1998)

### Europa:

Alemanha (CAB INTERNATIONAL, 1998)

Áustria (CAB INTERNATIONAL, 1998)

Bélgica (CAB INTERNATIONAL, 1998)

Bulgária (CAB INTERNATIONAL, 1998)

Croácia (CAB INTERNATIONAL, 1998)

Dinamarca (CAB INTERNATIONAL, 1998)

Eslováquia (CAB INTERNATIONAL, 1998)

Eslovênia (CAB INTERNATIONAL, 1998)  
Espanha (COSAVE, 1992)  
França (CAB INTERNATIONAL, 1998)  
Grécia (COSAVE, 1992)  
Holanda (CAB INTERNATIONAL, 1998)  
Hungria (CAB INTERNATIONAL, 1998)  
Inglaterra (CAB INTERNATIONAL, 1998)  
Itália (CAB INTERNATIONAL, 1998)  
Iugoslávia (CAB INTERNATIONAL, 1998)  
Moldóvia (CAB INTERNATIONAL, 1998)  
Polônia (CAB INTERNATIONAL, 1998)  
República Tcheca (CAB INTERNATIONAL, 1998)  
Romênia (CAB INTERNATIONAL, 1998)  
Suíça (CAB INTERNATIONAL, 1998)

### **Bioecologia**

Não existe relato de transmissão via semente ou pólen (COSAVE, 1992), mas a doença pode ser transmitida de uma raiz para outra. O psilídeo *Cacopsylla costalis* é vetor da AP. A transmissão do fitoplasma por outros insetos como, *Philaenus spumarius*, *Aphrophora alni*, *Lepyronia coleoptrata*, *Artianus interstitialis* e *Fieberiella florii*, (SEEMÜLLER, 1990; OREGON..., 2007), não foi confirmada. O principal método para transmissão do fitoplasma é a enxertia. Estacas de maçãs infectadas são o principal meio de disseminação da doença. O patógeno não é sistêmico podendo a planta infectada apresentar um grande número de botões florais aparentemente saudáveis. O tempo de incubação da doença varia com o tamanho da planta, sendo que em viveiros as plantas apresentam sintomas em menos de um ano, mas as plantas maiores podem levar até dois anos. Em geral, o fitoplasma se concentra principalmente nos brotos terminais, no floema dos pecíolos e nas nervuras centrais das folhas. A distribuição do fitoplasma na planta não é constante ao longo do ano. No inverno, a concentração do fitoplasma diminui na parte aérea da planta devido à degeneração do câmbio, concentrando-se mais nas raízes. Durante a primavera, o fitoplasma sai da raiz, invadindo o caule e apresentando o pico máximo de concentração no final do verão e no começo do outono (SEEMÜLLER, 1990). A distribuição do patógeno ao longo da

árvore também depende da temperatura, sendo que, nas raízes, o mesmo pode sobreviver por toda a vida da planta. Existe uma correlação entre a ocorrência do fitoplasma causador da Apple proliferation e o aumento da suscetibilidade da planta ao míldio pulverulento (*Podosphaera leucotricha*), além de que a ocorrência da doença conhecida como "apple rubbery wood disease" aumenta a ocorrência do apple proliferation (EPPO, 1992).

### **Sintomas**

Os sintomas produzidos pelo fitoplasma causador da AP podem ser observados nas raízes, folhas, frutos e brotos. O sintoma foliar mais característico é o superbrotamento das folhas terminais ("vassoura de bruxa"), que aparece principalmente no verão (SEEMÜLLER, 1990). As folhas podem também apresentar, cloroses, colorações avermelhada e tamanhos reduzidos. Os frutos são menores, deformados, com cor e sabor anormais (Fig. 1), pedúnculos mais longos (Fig. 2), cavidade peduncular mais larga e rasa, taxa de açúcar e ácidos alterados e sementes de tamanho e número reduzidos. O sistema radicular das plantas infectadas se desenvolve pouco, produzindo tufo de raízes curtas, entrelaçadas, com as raízes maiores reduzidas em tamanho e número. O vigor de plantas jovens é severamente afetado, em contraste com plantas mais velhas (EPPO, 1992).

### **Morfologia**

O agente causador do apple proliferation não pode ser cultivado em meio de cultura. Quando cortes ultrafinos, de tecido de plantas infectadas, são observados ao microscópio eletrônico, pode-se observar a presença de corpos pleomórficos, com 200-800 nm de diâmetro, envoltos em membrana citoplasmática trilaminar, mas sem parede celular rígida, estruturas características de fitoplasma (SEEMÜLLER, 1990).

### **Forma de transmissão/dispersão**

O contato entre raízes de plantas vizinhas constitui importante forma de

dispersão do patógeno dentro do pomar. A probabilidade de introdução do fitoplasma em material de propagação vegetativa é bastante elevada, devido a existência de plantas infectadas que não apresentam sintomas (infecções latentes). A disseminação natural é difícil de ser avaliada devido a falta de informação sobre a real importância do vetor na transmissão da doença (EPPO, 1992). A transmissão pelo inseto vetor *Cacopsylla costalis* foi confirmada por Frisinghelli et al. (2000), em Trentino, Itália.

### **Deteção e Identificação**

Infecções latentes podem ser diagnosticadas, em até dois anos, através de inoculação de plantas indicadoras mediante enxertia. A inoculação em plantas de *Catharanthus roseus*, para evidenciar a presença do AP, pode ser realizada utilizando-se *Cuscuta odorata* (JARAUSSCH et al., 1996). A técnica de duplicação das gemas pode ser utilizada para observação dos sintomas logo após o aparecimento dos primeiros botões, reduzindo consideravelmente o tempo de indexação (EPPO, 1992).

Em 2002, Loi et al. (2002), desenvolveu um antissoro monoclonal para a detecção e identificação do AP. Esse antissoro, recentemente comercializado pela BIOREBA AG (Suíça), pode ser usado em testes de ELISA e imunofluorescência, apresentando um alto nível de sensibilidade e especificidade.

A utilização de sonda de DNA, produzida a partir do DNA genômico do fitoplasma, é capaz de detectar de 7 a 15 ng do patógeno em plantas infectadas e de 15 a 30 ng do mesmo em frutos infectados (BONNET et al., 1990).

O uso de "primers" universais na reação PCR, visando a amplificação da região espaçadora entre os genes 16S-23S rRNA (SMART et al., 1996) ou regiões variáveis do 16S rRNA (FIRRAO et al., 1994), possibilitam a detecção do patógeno em até 0,3 g de tecido infectado. A digestão do produto de amplificação PCR da região 16S, com diferentes enzimas de restrição (SCHNEIDER et al., 1993; SCHNEIDER et al., 1997) e a utilização de

primers específicos, permitem a detecção específica do agente da AP e seu estudo filogenético (LORENZ et al., 1995). As técnicas de imunocaptura-PCR (IC-PCR) e PCR-ELISA (POLLINI et al., 1997), que possibilitam a combinação da especificidade dos métodos sorológicos com a sensibilidade da PCR, possibilitam a detecção do agente causador da AP em até 1:32 g/ml de tecido infectado (RAJAN e CLARK, 1995).

### **Expressão econômica**

A "Apple proliferation" é considerada uma das mais importantes doenças da macieira, afetando a maioria das cultivares e causando redução de tamanho (50%), peso (63-74%) e qualidade dos frutos. Além disso, a doença causa diminuição do vigor da planta e aumenta a sua suscetibilidade a outros patógenos, como o mildio pulverulento (EPPO, 1992). No sul da Europa, danos de 10 a 80% da produção foram reportados (SEEMÜLLER, 1990).

### **Medidas quarentenárias**

É importante a utilização de mudas provenientes de campos livres da doença nas estações de crescimento anteriores (EPPO, 1992). Devido ao vetor não apresentar característica migratória, seu controle é limitado na prevenção da doença em áreas indenes. No entanto, material propagativo proveniente de áreas onde ocorre a doença, mesmo estando sadio, pode trazer o inseto vetor contaminado com o fitoplasma (CAB INTERNATIONAL, 1998).

### **Referências**

BONNET, F.; SAILARD, C.; KOLLAR, A.; SEEMÜLLER, E.; BOVE, J. M. Detection and differentiation of the mycoplasma-like organism associated with apple proliferation disease using cloned DNA probes. **Molecular and Plant-Microbe Interactions**, Saint Paul, US, v. 3, p. 438-443, 1990.

CAB INTERNATIONAL. **Distribution maps of plant diseases**. [Wallingford, UK]: EPPO, 1998. (Description, n<sup>o</sup> 761).

COSAVE. **Apple Proliferation MLO**: plagas quarentenarias. [S.l.], 1992. (Ficha quarentenaria, n. 12)

EPPO. Apple proliferation MLO. In: SMITH, I. M.; MCNAMARA, D. G.; SCOTT, P. R.; HARRIS, K. M. (Ed.). **Quarantine pests for Europe**. Wallingford, UK: CAB International, 1992.

FIRRAO, G.; GOBBI, E.; LOCCI, R. Rapid diagnosis of apple proliferation mycoplasma-like organism using a polymerase chain reaction procedure. **Plant Pathology**, Oxford, GB, v. 43, p. 669-674, 1994.

FRISINGHELLI, C.; DELAITI, L.; GRANDO, M. S.; FORTI, D.; VINDIMIAN, M. E. *Cacopsylla costalis* (Flor 1861), as a vector of apple proliferation in Trentino. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 148, p. 425-431, 2000.

JARAUSCH, W.; LANSAC, M.; DOSBA, F. Long-term maintenance of nonculturable apple-proliferation phytoplasmas in their micropropagated natural host plant. **Plant Pathology**, Oxford, GB, v. 45, p. 778-786, 1996.

LOI, N.; CARRARO, L.; OSLER, R. MUSETTI, R.; FIRRAO, G. Apple proliferation epidemics detected in scab-resistant apple trees. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 143, p. 581-584, 1995.

LOI, N.; ERMACORA, P.; CARRARO, L.; OSLER, R.; CHEN, T. A. Production of monoclonal antibodies against apple proliferation phytoplasma and their use in serological detection. **European journal of plant pathology**, Dordrecht, NL, v. 108, p. 81-86, 2002.

LORENZ, K. H.; SCHNEIDER, B.; AHRENS, U.; SEEMÜLLER, E. Detection of the apple

proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and nonribosomal DNA. **Phytopathology**, Saint Paul, US, v. 85, p. 771-776, 1995.

OREGON STATE UNIVERSITY DEPARTMENT OF BOTANY AND PLANT PATHOLOGY. **An on-line guide to plant disease control**. Disponível em: <<http://www.bcc.orst.edu/bpp>>. Acesso em: nov. 2007.

POLLINI, C. P.; GIUNCHEDI, L.; BISSANI, R. Immunoenzymatic detection of PCR products for the identification of phytoplasmas in plants. **Journal of Phytopathology**, v. 145, p. 371-374, 1997.

RAJAN, J.; CLARK, M. F. Detection of apple proliferation and other MLOs by immuno-capture PCR (IC-PCR). **Acta Horticulturale**, The Hague, NL, v. 386, p. 511-513, 1995.

RUI, D.; CIFERRI, R.; REFATTI, E. La virosi degli scopazzi del melo nel veronese. **Notiziario sulle Malattie delle Piante**, v. 13, p. 8-11, 1950.

SCHNEIDER, B.; AHRENS, U.; KIRKPATRICK, B. C.; SEEMÜLLER, E. Classification of plant-pathogenic mycoplasma-like organisms using restriction-site analysis of PCR-amplified 16S rDNA. **Journal of General Microbiology**, London, v. 139, p. 519-527, 1993.

SCHNEIDER, B.; MARCONE, C.; KAMPMANN, M.; RAGOZZINO, A.; LEDERER, W.; COUSIN, M. T.; SEEMÜLLER, E. Characterization and classification of phytoplasmas from wild and cultivated plants by RFLP and sequence analysis of ribosomal DNA. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, NL, v.103, p. 675-686, 1997.

SEEMÜLLER, E. Apple Proliferation. In: **COMPENDIUM of apple and pear diseases**.

St. Paul, US: American Phytopathological Society, 1990. p. 67-68.

SMART, C. D.; SCHNEIDER, B.;  
BLOMQUIST, C. L.; GUERRA, L. J.;  
HARRISON, N. A.; AHRENS, U.; LORENZ,

K. H.; SEEMÜLER, E.; KIRKPATRICK, B. C.  
Phytoplasma-specific PCR primers based on  
sequences of the 16S-23S rRNA spacer  
region. **Applied and Environmental  
Microbiology**, Washington, v. 62, p. 2988-  
2993, 1996.



**Fig.1:** Frutos menores, deformados e com cor anormal.

Foto: Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Archives, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, <http://www.forestryimages.org>



**Fig. 2:** Sintoma do AP em fruto de *Golden Delicious*. À direita, fruto com pedúnculo mais longo, cavidade peduncular mais larga e rasa, coloração modificada e tamanho reduzido. À esquerda fruto sadio.

Foto: L. Giunchedi, (Università degli Studi di Bologna, Italia)

**Comunicado  
Técnico, 156**

**Ministério da  
Agricultura,  
Pecuária  
e  
Abastecimento**

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
Serviço de Atendimento ao Cidadão  
Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) – Brasília, DF CEP 70770-900 –  
Caixa Postal 02372 PABX: (61) 3448-4673  
Fax: (61) 3340-3624  
<http://www.cenargen.embrapa.br>  
e-mail: [sac@cenargen.embrapa.br](mailto:sac@cenargen.embrapa.br)

1ª edição  
1ª impressão (2007):

**Comitê de  
Publicações**

**Presidente:** Sergio Mauro Folle  
**Secretário-Executivo:** *Maria da Graça Simões Pires Negrão*  
**Membros:** Arthur da Silva  
Mariante

Maria da Graça S. P.  
Negrão

Maria de Fátima

Batista

Maurício Machain  
Franco

Regina Maria  
Dechechi Carneiro

Sueli Correa Marques  
de Mello

Vera Tavares de  
Campos Carneiro

**Supervisor editorial:** *Maria da Graça S. P. Negrão*

Normalização Bibliográfica: *Maria Iara Pereira Machado*

**Editoreção eletrônica:** *Maria da Graça Simões Pires Negrão*

**Expediente**

Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento



