

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E LEVANTAMENTO DE VÍRUS E VIROIDES QUE INFECTAM MACIEIRAS E PEREIRAS NO SUL DO BRASIL

Tales Cassemiro Skonieski, Vanucci Marcos Santi, Fabio Nascimento da Silva

INTRODUÇÃO

O cultivo de maçã e pera desempenha um papel crucial na economia brasileira, particularmente nos estados do Rio Grande do Sul (RS) e Santa Catarina (SC) (ALBA et al., 2018; IBGE, 2023). Agentes etiológicos como vírus e viroides representam uma ameaça significativa, afetando o vigor das árvores, a qualidade dos frutos e a produtividade dos pomares (DIENER, 2003; GUERRA et al., 2012). Entre os vírus de maior importância para macieiras e pereiras, destacam-se o apple stem grooving virus (ASGV, *Capillovirus mali*), apple stem pitting virus (ASPV, *Foveavirus mali*), apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV, *Trichovirus mali*) e apple mosaic virus (ApMV, *Ilarvirus ApMV*) (UMER et al., 2019; NICKEL; FAJARDO, 2021). Este estudo teve como objetivo identificar agentes etiológicos estabelecidos e novos que contribuem para o declínio das macieiras e pereiras em SC e RS.

DESENVOLVIMENTO

Foram coletadas 43 amostras de macieira dos municípios de Lages, Fraiburgo, São Joaquim, Painel (SC) e Vacaria (RS). Também foram coletadas 10 amostras de pereiras no município de São Joaquim (SC). O RNA total foi extraído a partir de amostras de ramos (100 mg) utilizando o kit de extração de RNA RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen). Essas amostras foram enviadas para realizar o sequenciamento de alto rendimento (HTS) (Proteimax, São Paulo). As leituras de HTS foram obtidas a partir de uma biblioteca de cDNA gerada na plataforma Illumina HiSeq 2500. A qualidade foi avaliada pelo FastQC, e adaptadores e leituras de baixa qualidade foram removidos com o Trimmomatic. Os dados brutos foram processados com BBduk e montados pelo Tadpole assembler (Geneious 2022). Os contigs gerados foram comparados com o banco de dados NCBI por BLASTn e BLASTx, e alinhados a sequências virais. As leituras também foram mapeadas no BBmap usando referências do NCBI. A validação do HTS e detecção dos vírus e viroide foi feita através da RT-PCR, realizada utilizando a enzima GoTaq® Flexi DNA polimerase (Promega), de acordo com as recomendações do fabricante, utilizando iniciadores específicos para a detecção de ASPV, ASGV, ApMV, ACLSV, citrus concave gum-associated virus (CCGaV, *Coguvirus citri*) e apple hammerhead viroid (AHVd, *Pelamoviroid malleusmali*)

RESULTADOS

Os resultados do HTS revelaram a ocorrência do CCGaV e do AHVd, sendo este último identificado pela primeira vez em pereiras em nível mundial. O genoma isolado de CCGaV encontrado apresenta RNA1 (6.681 nt), que codifica a RNA polimerase dependente de RNA, e o RNA2 (2.703 nt), que codifica uma proteína de movimento e uma proteína de capsídeo. No total, o CCGaV foi detectado em 16 amostras, 13 delas em Santa Catarina, configurando o primeiro registro do vírus no estado. O isolado de AHVd encontrado em macieira apresenta um pequeno genoma circular de 439 nucleotídeos, com estrutura secundária típica em “martelo” (*hammerhead*), composta por nove alças (*stem-loops*). No total, o AHVd foi encontrado em 10 amostras, nove de macieiras e uma de pereira. Além disso, vírus amplamente disseminados,

como o ASPV e o ASGV, mostraram-se altamente prevalentes, infectando 64,15% e 62,3% das amostras, respectivamente. A coinfeção foi frequente, 23 amostras apresentaram simultaneamente ASPV e ASGV, e 18 mostraram infecção com três ou mais agentes. No total, 45 das 53 amostras estavam infectadas, sendo 12 com infecção simples e 33 com múltiplos patógenos. Esses resultados reforçam a complexidade das infecções virais nas frutíferas, associadas ao declínio das plantas, e destacam a importância do uso de material propagativo livre de vírus e da vigilância fitossanitária em viveiros e pomares.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos evidenciam a alta prevalência de vírus e viroides em macieiras e pereiras no sul do Brasil, destacando-se o primeiro registro mundial de AHVd em pereiras e a detecção inédita de CCGaV em Santa Catarina. As análises genômicas confirmaram grande similaridade desses agentes com isolados internacionais, sugerindo que o comércio de material vegetal é um fator central na sua disseminação. A alta frequência de coinfeções reforça a associação desses patógenos ao declínio das frutíferas e ressalta a importância de testes regulares em viveiros e de medidas rigorosas de fiscalização, garantindo a produção e comercialização de mudas livres de infecção.

Palavras-chave: HTS; RT-PCR; coinfeção; declínio vegetal; vigilância fitossanitária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBA, J. M. F. et al. **Zoneamento edafoclimático da cultura da pereira em Santa Catarina**, em Pelotas, RS. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2018. 22 p. (Embrapa Clima Temperado. Comunicado técnico, 470).
- DIENER, T. O. Discovering viroids--a personal perspective. **Nature Reviews Microbiology**, v. 1, n. 1, p. 75-80, out. 2003. DOI: 10.1038/nrmicro736.
- GUERRA, D. S. et al. Development of *Glomerella* leaf spot is enhanced in virus-infected Maxi Gala apples. **Journal of Plant Pathology**, v. 94, p. 237-241, 2012. doi: 10.1007/jpp-241
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal**, 2019. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>.
- 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. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 161).
- SCOTT, P. et al. Global biogeography and invasion risk of the plant pathogen genus *Phytophthora*. **Environmental Science & Policy**, v. 101, p. 175-182, nov. 2019. doi:10.1016/j.envsci.2019.08.020.
- UMER, M. et al. Genomic, Morphological and Biological Traits of the Viruses Infecting Major Fruit Trees. **Viruses**, v. 11, n. 6, p. 515, 4 jun. 2019. DOI: 10.3390/v11060515.

DADOS CADASTRAIS

BOLSISTA: Tales Cassemiro Skonieski

MODALIDADE DE BOLSA: PIBIQ - CNPq

VIGÊNCIA: 12/2024 a 08/2025– Total: 09 meses

ORIENTADOR(A): Fabio Nascimento da Silva

CENTRO DE ENSINO: CAV

DEPARTAMENTO: Agronomia

ÁREAS DE CONHECIMENTO: Ciências Agrárias / Agronomia

TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA: Detecção e caracterização de viroses em diferentes porta-enxertos e cultivares copa de macieira e pereira e desenvolvimento da tecnologia LAMP para diagnose de rotina

Nº PROTOCOLO DO PROJETO DE PESQUISA: NPP4075-2022