



LAYLA VICTÓRIA DA SILVA SOUSA

**DETECÇÕES E DIVERSIDADE GENÉTICA DE VÍRUS
QUARENTENÁRIO EM MUDAS DE MORANGO (*Fragaria* ×
ananassa Duch.)**

**LAVRAS - MG
2025**

LAYLA VICTÓRIA DA SILVA SOUSA

**DETECÇÕES E DIVERSIDADE GENÉTICA DE VÍRUS QUARENTENÁRIO EM
MUDAS DE MORANGO (*Fragaria* × *ananassa* Duch.)**

**DETECTIONS AND GENETIC DIVERSITY OF QUARANTINE VIRUSES IN
STRAWBERRY SEEDLINGS (*Fragaria* × *ananassa* Duch.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitopatologia para a obtenção do título de Mestre.

Prof (a). Dr (a). Claudine Marcia Carvalho
Orientador (a)

Dr (a). Antonia Thalyta Lopes Silveira
Coorientador (a)

**LAVRAS - MG
2025**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo(a) autor(a) através do Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA.

Sousa, Layla Victória Da Silva.

Detecções e Diversidade Genética de Vírus Quarentenário em Mudanças de Morango (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). / Layla Victória Da Silva Sousa. 2025.

66 p. : il.

Orientadora: Claudine Marcia Carvalho

Coorientadora: Antonia Thalyta Lopes Silveira

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2025.

Bibliografia.

1. Diagnóstico molecular. 2. Sanidade vegetal. 3. Manejo integrado. I. Carvalho, Claudine Marcia. II. Silveira, Antonia Thalyta Lopes. III. Universidade Federal de Lavras. IV. Título.

LAYLA VICTÓRIA DA SILVA SOUSA

**DETECÇÕES E DIVERSIDADE GENÉTICA DE VÍRUS QUARENTENÁRIO EM
MUDAS DE MORANGO (*Fragaria* × *ananassa* Duch.)**

**DETECTIONS AND GENETIC DIVERSITY OF QUARANTINE VIRUSES IN
STRAWBERRY SEEDLINGS (*Fragaria* × *ananassa* Duch.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitopatologia para a obtenção do título de Mestre.

APROVADO em 13 de fevereiro de 2025.

Dra. Claudine Márcia Carvalho UFLA
Dra. Antonia dos Reis Figueira UFLA
Dra. Luciane Vilela Rezende UFLA

Prof. (a) Dr (a). Claudine Márcia Carvalho
Orientador (a)

**LAVRAS - MG
2025**

*À minha mãe, Luciene Miguel da Silva, cuja força, dedicação e amor incondicional foram
alicerces essenciais em minha trajetória.
E, em memória do meu querido irmão, André Eugênio Pereira dos Santos Filho, cuja
lembrança permanece viva em meu coração. E toda a família Miguel e Silva.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela dádiva da vida e pelas vitórias ao longo da jornada. À UFLA e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, pelo ensino público, gratuito e transformador.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro essencial para a realização desta pesquisa.

À minha orientadora, Profa. Dra. Claudine Marcia Carvalho, pela parceria constante, pela confiança e pelas oportunidades valiosas que me proporcionaram ao longo desta trajetória.

À Profa. Dra. Antônia dos Reis Figueira, pela sua imensa sabedoria e perseverança.

À Dra. Antonia Thalyta Lopes Silveira, por sua paciência, didática impecável e por toda a sua orientação em biologia molecular e virologia. Mais do que isso, agradeço pela amizade e pelo apoio incondicional durante os momentos difíceis, sempre iluminando meu caminho com sua generosidade.

À minha família, especialmente a meus irmãos, Levi Victor e André Filho, à minha mãe e meu pai, Luciene Miguel e André Eugênio, meus exemplos de coragem e dedicação. O apoio constante de vocês foi a chave para que essa jornada fosse possível. Sem você, mãe, teria sido infinitamente mais desafiador, talvez até impossível.

À Sinara Santana, pelo apoio de sempre e pelo exemplo de empenho e dedicação que se tornou para mim, você me deu forças quando eu mais precisava.

Ao pequeno Luian, minha fonte inesgotável de inspiração, cujo sorriso e energia me lembram do propósito de ser uma pessoa melhor.

Ao Alexandre Alencar, que, mesmo de longe, apoiou com palavras de encorajamento em momentos difíceis.

Aos meus colegas do Laboratório de Virologia Molecular – Viviane Pessoa, Jean Rafael, Rafaella Marques e Guilherme Chaves – pela colaboração, amizade e por fazerem de cada dia um momento mais leve e agradável.

Aos meus colegas e companheiros do Departamento de Fitopatologia, especialmente José Manoel, Nathalya Lúcia e Regiane Alves, e a todos do laboratório de fitopatologia molecular, pelos momentos de descontração e pela união. Levarei todos no meu coração para sempre.

“Deus não é um lugar de certeza, é só um pouco de esperança.”

Carla Madeira.

RESUMO

O cultivo de morango (*Fragaria × ananassa* Duch.) possui elevada relevância econômica global e tem apresentado uma expansão crescente no Brasil. No entanto, a produção enfrenta desafios fitossanitários devido à alta incidência de vírus e fitoplasmas, que comprometem a produtividade e a qualidade dos frutos. Muitos desses patógenos são de difícil detecção, pois infecções assintomáticas são comuns, dificultando o diagnóstico e a implementação de estratégias de manejo. O objetivo desta dissertação foi detectar molecularmente vírus, incluindo strawberry mild yellow edge virus (SMYEV), strawberry crinkle virus (SCV), strawberry pallidosis-associated virus (SPaV), strawberry mottle virus (SMoV), strawberry latent ringspot virus (SLRSV) e strawberry vein banding virus (SVBV), além de fitoplasmas associados a mudas comercializadas de morango (*Fragaria × ananassa* Duch.) no Brasil, de origem nacional (Pouso Alegre-MG) e importadas (Espanha), com ênfase na detecção do strawberry latent ringspot virus (SLRSV), um vírus quarentenário até então não relatado no país. Foram analisadas 166 amostras de mudas comerciais provenientes de diferentes regiões produtoras. A detecção de patógenos foi realizada por meio da extração de RNA, seguida de RT-PCR, e a extração de DNA para detecção de fitoplasmas. Os resultados revelaram a presença de diferentes espécies de vírus, incluindo SMYEV, SMoV, SLRSV e SVBV. Em relação à distribuição geográfica das ocorrências, 136 amostras positivas foram identificadas nas mudas de origem nacional, comercializadas no sul de Minas Gerais e 74 em de origem internacional, importada da Espanha e comercializadas no Brasil, onde os materiais analisados foram comercializados após serem adquiridos da Espanha. Essa foi a primeira detecção do SLRSV no Brasil e reforça a necessidade de monitoramento rigoroso na cadeia produtiva. As informações obtidas oferecem embasamento técnico-científico para aprimorar estratégias de diagnóstico, manejo integrado e controle de doenças, destacando a relevância das ferramentas moleculares para a vigilância fitossanitária e a sustentabilidade da produção de morango.

Palavras-chave: diagnóstico molecular; sanidade vegetal; manejo integrado.

ABSTRACT

The cultivation of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) holds significant global economic importance and has shown steady expansion in Brazil. However, production faces phytosanitary challenges due to the high incidence of viruses and phytoplasmas, which compromise fruit yield and quality. Many of these pathogens are difficult to detect, as asymptomatic infections are common, hindering diagnosis and the implementation of management strategies. The aim of this dissertation was the molecular detection of viruses, including strawberry mild yellow edge virus (SMYEV), strawberry crinkle virus (SCV), strawberry pallidosis-associated virus (SPaV), strawberry mottle virus (SMoV), strawberry latent ringspot virus (SLRSV), and strawberry vein banding virus (SVBV), as well as phytoplasmas associated with commercial strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) seedlings in Brazil, both domestically produced (Pouso Alegre, MG) and imported (Spain), with an emphasis on the detection of strawberry latent ringspot virus (SLRSV), a quarantine virus not previously reported in the country. A total of 166 commercial seedling samples from different production regions were analyzed. Pathogen detection was performed through RNA extraction followed by RT-PCR, and DNA extraction for phytoplasma detection. The results revealed the presence of different virus species, including SMYEV, SMoV, SLRSV, and SVBV. Regarding the geographical distribution of occurrences, 136 positive samples were identified in seedlings of domestic origin, commercialized in southern Minas Gerais, and 74 in those of international origin, imported from Spain and sold in Brazil, where the analyzed material had been marketed after being acquired from Spain. This was the first detection of SLRSV in Brazil and underscores the need for strict monitoring within the production chain. The information obtained provides a technical and scientific foundation to improve diagnostic strategies, integrated management, and disease control, highlighting the relevance of molecular tools for phytosanitary surveillance and the sustainability of strawberry production.

Keywords: molecular diagnosis; plant health; integrated management.

INDICADORES DE IMPACTO

Este trabalho apresenta uma relevância significativa em múltiplas esferas, contribuindo para avanços científicos, benefícios sociais e impactos econômicos. No âmbito científico, destaca-se pela inovação no diagnóstico do vírus quarentenário strawberry latent ringspot virus (SLRSV) em mudas de morango no Brasil. Este estudo pioneiro amplia o entendimento sobre viroses emergentes em culturas de importância global, além de avançar na análise de fitoplasmas por meio de extração de DNA e metodologias moleculares, fortalecendo a base científica para a investigação de doenças em morangueiros. No contexto social, o fortalecimento da segurança fitossanitária, por meio da identificação precoce de patógenos, contribui diretamente para a redução de danos nos cultivos, assegurando a produção de mudas de alta qualidade e promovendo a segurança alimentar da população. Este trabalho também desempenha um papel fundamental na capacitação técnica, ao desenvolver e aplicar métodos moleculares avançados que qualificam recursos humanos para enfrentar desafios fitossanitários contemporâneos. No âmbito econômico, os resultados obtidos nesta pesquisa permitem a mitigação de perdas na produção, evitando prejuízos significativos aos agricultores e aumentando a produtividade e a rentabilidade da cultura do morango. Além disso, a detecção de patógenos quarentenários facilita o atendimento às exigências fitossanitárias em mercados internacionais, impulsionando o comércio global de morangos e seus derivados. Por fim, os achados desta pesquisa têm o potencial de estimular parcerias estratégicas entre universidades, instituições de pesquisa e empresas agrícolas, fomentando inovações no manejo fitossanitário e no desenvolvimento de tecnologias aplicadas à agricultura.

IMPACT INDICATORS

This work holds significant relevance across multiple spheres, contributing to scientific advancements, social benefits, and economic impacts. In the scientific realm, it stands out for its innovation in diagnosing the quarantine virus *strawberry latent ringspot virus* (SLRSV) in strawberry seedlings in Brazil. This pioneering study expands the understanding of emerging viral diseases in globally important crops and advances the analysis of phytoplasmas through DNA extraction and molecular methodologies, strengthening the scientific foundation for investigating diseases in strawberry plants. In the social context, the reinforcement of phytosanitary security through early pathogen detection directly contributes to reducing crop damage, ensuring the production of high-quality seedlings, and promoting food security for the population. This study also plays a key role in technical capacity building by developing and applying advanced molecular methods that prepare human resources to tackle contemporary phytosanitary challenges. From an economic standpoint, the results of this research allow for the mitigation of production losses, preventing significant damage to farmers and increasing both productivity and profitability in strawberry cultivation. Furthermore, the detection of quarantine pathogens supports compliance with phytosanitary requirements in international markets, boosting global trade in strawberries and their derivatives. Finally, the findings of this research have the potential to stimulate strategic partnerships between universities, research institutions, and agricultural companies, fostering innovation in phytosanitary management and the development of technologies applied to agriculture.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO GERAL	12
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 <i>Fragaria x ananassa</i> Duch.: Origem e histórico.....	13
2.2 Importância econômica.....	14
2.3 Características morfológicas e fisiológicas do morango	15
2.4 Principais doenças no morangueiro	17
2.4.1 Doenças fúngicas	17
2.4.2 Doenças bacterianas.....	18
2.4.3 Doenças causadas por nematoides.....	18
2.4.4 Doenças causadas por fitoplasmas.....	19
2.5 Viroses	20
2.5.1 <i>Potexvirus fragariae</i> (SMYEV)	20
2.5.2 <i>Sadwavirus fragariae</i> (SMoV)	22
2.5.3 <i>Cytorhabdovirus fragariarugosus</i> (SCV)	25
2.5.4 <i>Crinivirus palidofragariae</i> (SPaV).....	27
2.5.5 <i>Stralarivirus fragariae</i> (SLRSV).....	30
2.5.6 <i>Caulimovirus venafragariae</i> (SVBV).....	32
REFERÊNCIAS	35
CAPÍTULO 2 - DETECÇÕES E DIVERSIDADE GENÉTICA DE VÍRUS QUARENTENÁRIO EM MUDAS DE MORANGO (<i>FRAGARIA</i> × <i>ANANASSA</i> DUCH.)	42
1 INTRODUÇÃO.....	44
2 MATERIAIS E MÉTODOS	45
2.1 Condução experimental	45
2.2 Amostras	45
2.3 Extração do RNA e DNA.....	46
2.4 RT-PCR e primers	47
2.5 PCR e primers	48
2.6 Sequenciamento e análise filogenética do SLRSV.....	49
3 RESULTADOS	50
3.1 Ocorrência de viroses e de fitoplasma	50
3.2 Análise filogenética do SLRSV	51
4 DISCUSSÃO.....	57
5 CONCLUSÃO.....	59
REFERÊNCIAS.....	61

CAPÍTULO 1 - Introdução geral

1 INTRODUÇÃO

O cultivo do morango (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) possui grande relevância econômica e social em diversas regiões do mundo, sendo amplamente utilizado na indústria alimentícia e apreciado pelo consumo in natura devido às suas propriedades nutricionais e sabor. Em 2021, a produção mundial de morangos foi superior a 8,9 milhões de toneladas, destacando-se como principais produtores os Estados Unidos, México, Egito, Turquia e China, que juntos representam uma parcela significativa do mercado global (FAOSTAT, 2022).

No Brasil, a cultura do morango apresenta uma expansão devido à crescente demanda e à adaptação do cultivo em regiões de clima favorável. Em 2022, a produção nacional foi estimada em aproximadamente 180 mil toneladas, com destaque para os estados de Minas Gerais, São Paulo e Paraná como os maiores produtores (IBGE, 2022). O cultivo é caracterizado por pequenas propriedades familiares que utilizam sistemas de produção protegido, proporcionando a obtenção de pseudofrutos com alta qualidade e agregado valor ao produto. Apesar do desempenho promissor, a produção de morango enfrenta diversos desafios fitossanitários, incluindo a ocorrência de doenças virais e fitoplasmáticas, que podem comprometer a qualidade e o rendimento da safra.

Os vírus que infectam o morangueiro são responsáveis por sérias limitações no cultivo, uma vez que causam redução no crescimento, deformação de pseudofrutos e comprometimento da fisiologia da planta. A transmissão desses patógenos ocorre de forma eficiente por meio de vetores como pulgões e nematóides, além das práticas de manejo, como o uso de mudas contaminadas. Entre os vírus associados ao morangueiro, destacam-se o strawberry crinkle virus (SCV), o strawberry mild yellow edge virus (SMYEV), o strawberry vein banding virus (SVBV), o strawberry mottle virus (SMoV) e o strawberry pallidosis-associated virus (SPaV), cujas interações complexas podem culminar em infecções múltiplas e efeitos sinérgicos severos (Martin; Trowbridge, 2021).

Além das viroses, os fitoplasmas também representam uma ameaça significativa ao cultivo do morango. Esses patógenos procarióticos, pertencentes à classe Mollicutes, são transmitidos por insetos vetores e podem causar sintomas graves, como amarelecimento, nanismo e morte precoce das plantas. No Brasil, a identificação de fitoplasmas associados ao morangueiro reforça a necessidade de atenção às doenças emergentes, que podem comprometer ainda mais a sustentabilidade da produção (Weintraub; Jones, 2010).

A detecção e caracterização de vírus e fitoplasmas em mudas de morango são ferramentas fundamentais para o manejo eficiente das doenças na cultura, bem como para prevenir a propagação de patógenos em áreas de cultivo ainda livres do patógeno. Além disso, o uso de métodos moleculares, possibilita uma análise detalhada da diversidade patogênica presente no ambiente, contribuindo para a elaboração de estratégias de controle mais precisas e seguras.

Neste contexto, a presente dissertação tem como objetivo a detecção da presença de vírus e fitoplasmas associados ao morangueiro, por meio de métodos moleculares. Os resultados obtidos contribuem para a ampliação do conhecimento sobre doenças em morango no Brasil, além de oferecer subsídios técnicos e científicos para o manejo integrado da cultura.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Fragaria* x *ananassa* Duch.: Origem e histórico

O morango, gênero *Fragaria*, pertence à família Rosaceae, a mesma das macieiras e pereiras, sendo uma das frutas mais apreciadas no mundo devido ao seu sabor, aroma e versatilidade em aplicações culinárias (Antunes; Reisser Júnior; Schwengber, 2016). Sua história de cultivo remonta à Europa e à América do Norte, com registros de consumo de morangos silvestres já na antiguidade clássica. No entanto, o morango moderno que conhecemos hoje é resultado de hibridações entre *Fragaria virginiana* (América do Norte) e *Fragaria chiloensis* (América do Sul), realizadas na França durante o século XVIII (Hull; Moore, 2020). As plantas oriundas desse cruzamento produziam pseudofrutos de excepcional tamanho, com polpa de coloração vermelha, diferente da polpa branca de *F. chiloensis*. Segundo Antunes, Reisser Júnior e Schwengber (2016), o cultivo de morangos foi amplamente difundido em todo o mundo após o aperfeiçoamento das variedades híbridas, especialmente com o desenvolvimento da espécie *Fragaria* × *ananassa*, que combina alta produtividade com excelente qualidade de pseudofrutos. Esse avanço técnico possibilitou que o morango se tornasse uma cultura de expressão econômica e social significativa.

O morango é cultivado amplamente em diversas regiões do mundo, destacando-se como uma cultura de alto valor agregado. Sua produção global é marcada pela relevância na geração de empregos, principalmente em pequenas propriedades rurais que utilizam sistemas intensivos de cultivo (Antunes; Reisser Júnior; Schwengber, 2016). No Brasil, sua introdução ocorreu no século XIX, mas foi a partir da década de 1960 que o cultivo comercial ganhou

força, especialmente nas regiões Sul e Sudeste, com destaque para Minas Gerais, Paraná e São Paulo (Santos *et al.*, 2020). A adaptação a essas regiões está relacionada às condições climáticas favoráveis e à evolução das técnicas de cultivo voltadas para um manejo intensivo.

2.2 Importância econômica

A produção mundial de morango alcança aproximadamente 8 milhões de toneladas anuais, com destaque para a China, os Estados Unidos e a Turquia como os maiores produtores globais (FAO, 2021). No Brasil, a produção nacional ultrapassa 160 mil toneladas por ano, sendo Minas Gerais o principal estado produtor, responsável por cerca de 40% do total (IBGE, 2022). As condições ideais para o cultivo de morangueiro incluem temperaturas entre 13 °C e 22 °C, solos bem drenados, com pH entre 5,5 e 6,5, e boa disponibilidade de matéria orgânica (Filgueira, 2003). A irrigação regular e o manejo de nutrientes são essenciais para garantir o vigor das plantas e a qualidade dos frutos.

A cultura do morangueiro no Brasil continua enfrentando desafios relacionados à disponibilidade de cultivares adaptadas às condições locais de clima e solo, bem como à qualidade fisiológica e fitossanitária das mudas produzidas internamente. Consequentemente, os produtores ainda dependem significativamente da importação de mudas, principalmente da Argentina e do Chile. Estima-se que mais de 90% das mudas utilizadas no país sejam importadas, totalizando mais de 200 milhões de unidades anualmente (Chancellor, 2020). Embora essas regiões possuam condições favoráveis para a produção de mudas de alta qualidade, a importação acarreta custos elevados e exige inspeções fitossanitárias rigorosas para evitar a introdução de novas doenças no Brasil. Além disso, as mudas importadas podem apresentar baixa performance a depender do local e introduções de patógenos não descritos anteriormente em regiões produtoras brasileiras (Chancellor, 2020).

Para mitigar esses desafios, instituições de pesquisa brasileiras têm desenvolvido tecnologias para a produção local de mudas de morango. Uma dessas inovações é a produção de mudas com torrão, que oferece rastreabilidade confiável e reduz o estresse das plantas durante o transplante, aumentando a uniformidade do cultivo e facilitando as práticas de manejo (UFSM, 2023). Esses esforços visam reduzir a dependência de mudas importadas, diminuir os custos de produção e minimizar os riscos fitossanitários associados, contribuindo para o fortalecimento da cadeia produtiva do morango no Brasil.

A fruta também é altamente valorizada no mercado devido à sua composição nutricional, rica em vitamina C, antioxidantes e compostos bioativos que promovem benefícios à saúde humana (Hull; Moore, 2020). Essa caracterização nutricional, aliada à sua

versatilidade em aplicações alimentícias, contribui para a sua demanda constante tanto no mercado in natura quanto na indústria de alimentos, sendo utilizada em sucos, geleias, iogurtes e sobremesas (Antunes; Reisser Júnior; Schwengber, 2016). Estudos recentes também destacam a presença de compostos com potencial funcional, como antocianinas, que contribuem para efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios (Rodrigues *et al.*, 2021).

2.3 Características morfológicas e fisiológicas do morango

Pertencentes à família Rosaceae e ao gênero *Fragaria*, o morango é uma angiosperma dicotiledônea. Sua planta é herbácea e perene, mas frequentemente cultivada como anual devido às práticas de manejo agrícola, por questões sanitárias e fisiológicas. Apresenta estolhos que permitem a propagação vegetativa, além de folhas trifoliadas com margem serrilhada. As flores são hermafroditas, com cinco pétalas brancas, e são polinizadas principalmente por abelhas. O fruto, conhecido popularmente como morango, é, na realidade, um pseudofruto, formado pelo desenvolvimento do receptáculo floral, enquanto os aquênios representam os verdadeiros frutos, os quais são diminutos, amarelos ou avermelhados (Hull; Moore, 2020). O sistema radicular é formado por raízes longas, fasciculadas e fibrosas, originadas na coroa, e se dividem em primárias e secundárias (Filgueira, 2003).

O morangueiro apresenta transformações significativas durante as fases de desenvolvimento vegetativo e reprodutivo. No estágio vegetativo, ocorre a formação de biomassa, incluindo folhas, caules e estolhos, que são estruturas importantes para o acúmulo de reservas e propagação vegetativa. Na fase reprodutiva, desenvolvem-se os componentes florais, como pétalas, estames e pistilos, que culminam na formação dos frutos, os quais possuem grande importância econômica devido à alta demanda no mercado de hortifrutigranjeiros (Martins *et al.*, 2018). No cultivo destinado à produção de frutos, pode-se considerar que o desenvolvimento vegetativo da planta tem início logo após o transplante da muda para o local definitivo, que é realizado entre os meses de fevereiro e junho, a depender da região (Oliveira *et al.*, 2019).

Durante o período em que as mudas de morangueiro permanecem no viveiro, as raízes primárias, juntamente com a coroa, desempenham um papel fundamental no armazenamento de reservas na forma de carboidratos. Essas reservas garantem o crescimento inicial da planta após o transplante para o local de cultivo definitivo, sustentando seu desenvolvimento até que novas raízes primárias e secundárias sejam emitidas e assumam a função de absorção de nutrientes. Esse acúmulo de reservas facilita o estabelecimento da

muda no campo, conferindo maior vigor à planta durante a fase vegetativa e o florescimento na primavera (Santos *et al.*, 2020).

Os estolhos, que são caules originados das gemas foliares e capazes de gerar novas plantas, apresentam um crescimento intenso no mesmo período de maior atividade das raízes, ou seja, após a frutificação e ao longo do verão (Darnell *et al.*, 2003). Em geral, nas principais variedades, a produção de estolhos é estimulada por dias mais longos, superiores a 12 horas, e temperaturas acima de 22°C (Darnell *et al.*, 2003). As novas plantas que emergem dos nós dos estolhos dependem da planta-matriz para suprir suas necessidades nutricionais e hídricas até que desenvolvam seu próprio sistema radicular, o que ocorre geralmente entre 10 e 15 dias após o surgimento das folhas (Franquez, 2008).

Em sistemas de cultivo comercial, recomenda-se a remoção dos estolhos, pois estes atuam como drenos de nutrientes, podendo reduzir a produtividade dos frutos. Paralelamente, as folhas do morangueiro são continuamente renovadas ao longo do ciclo, com uma vida útil relativamente curta, estimada em cerca de dois meses. Essa característica resulta na coexistência de folhas em diferentes estágios de desenvolvimento e senescência durante a maior parte do ciclo produtivo (Antunes *et al.*, 2007).

O florescimento e a frutificação do morangueiro envolvem uma sequência de processos fisiológicos bem definidos, que incluem indução, iniciação, diferenciação e antese floral (Verdial, 2004). A indução ocorre nas folhas, que, ao serem expostas a condições ambientais favoráveis, captam os estímulos e os transmitem ao meristema apical, promovendo a formação do botão floral (Antunes; Reisser Júnior; Schwengber, 2016). A iniciação é marcada por alterações químicas e físicas na gema, desencadeadas pelos sinais florais. Durante a diferenciação, ocorre a formação dos órgãos florais e da inflorescência no botão floral. Por fim, a antese representa a etapa culminante, na qual os órgãos florais tornam-se visíveis, possibilitando a polinização e, conseqüentemente, a fertilização (Vieira, 2020).

A vernalização desempenha um papel crucial no desenvolvimento reprodutivo do morangueiro, especialmente para cultivares de dias curtos. Esse processo refere-se à exposição das plantas a temperaturas baixas por um período prolongado, estimulando a transição do estágio vegetativo para o reprodutivo. A vernalização influencia diretamente a indução floral e pode ser realizada naturalmente, em regiões de inverno frio, ou artificialmente, através do armazenamento de mudas em câmaras frias. Estudos recentes demonstram que a vernalização de mudas em câmara fria a 5 °C por 576 horas melhora características agrônômicas e aumenta a produtividade em condições tropicais (Oviedo; Enciso-Garay; Figueredo, 2020). Além disso, pesquisas indicam que diferentes períodos de

vernalização artificial (10, 20 e 30 dias) influenciam positivamente a produção e a qualidade dos frutos em diversas cultivares de morangueiro (Oliveira, 2024).

O desenvolvimento do morangueiro é influenciado por fatores ambientais, como temperatura, fotoperíodo, umidade e manejo de nutrientes, que, juntamente com as características genéticas de cada cultivar, determinam o equilíbrio entre as fases vegetativa e reprodutiva. Esse equilíbrio é essencial para otimizar a produtividade e a qualidade dos frutos, pois condições subótimas de cultivo, seja por desbalanço nutricional, estresse hídrico ou temperaturas inadequadas, podem impactar diretamente a fisiologia da planta. Tais condições resultam em menor rendimento e aumento na suscetibilidade a patógenos e pragas (Costa *et al.*, 2022).

2.4 Principais doenças no morangueiro

Os agentes causadores de doenças no morango são os fungos, bactérias, nematoides, vírus e fitoplasmas. Esses organismos patogênicos afetam o desenvolvimento da planta, reduzindo sua produtividade e qualidade de frutos, causando diversas doenças por cada um deles.

2.4.1 Doenças fúngicas

Os fungos são organismos eucarióticos pertencentes ao reino Fungi, com parede celular composta por quitina, que lhes confere resistência estrutural. Por serem heterotróficos, dependem de matéria orgânica para sua sobrevivência, desempenhando um papel fundamental nos ecossistemas como decompositores. Contudo, muitos fungos são fitopatogênicos, causando doenças em plantas ao penetrar tecidos vegetais, geralmente por meio de esporos ou hifas que invadem ferimentos ou aberturas naturais (Agrios, 2005). No caso do morangueiro, diversas doenças causadas por fungos têm grande impacto econômico. Entre elas, destaca-se a antracnose, causada pelas espécies *Colletotrichum fragariae* e *Colletotrichum acutatum*, responsáveis pela podridão do rizoma e flor-preta, respectivamente (Santos; Medeiros, 2003; Neumann *et al.*, 2015). Outras doenças incluem a mancha de *Mycosphaerella* (*Mycosphaerella fragariae*), que provoca lesões foliares e reduz a capacidade fotossintética da planta (Pereira *et al.*, 2007); a mancha de *Dendrophoma* (*Phomopsis obscurans*), que afeta folhas mais velhas (Dürr *et al.*, 2008); e a mancha de *Diplocarpon* (*Diplocarpon earlianum*), que também causa lesões escuras nas folhas (Oliveira; Martins; Pereira, 2006). Além disso, há a podridão de *Phytophthora* (*Phytophthora cactorum*), que danifica a coroa e o sistema radicular; a murcha de *Verticillium* (*Verticillium dahliae*), que obstrui o sistema vascular e resulta em amarelecimento e murcha das folhas (Brasil *et al.*, 2014); o oídio (*Sphaerotheca macularis* f.sp. *fragariae*), caracterizado por uma camada esbranquiçada em folhas, pecíolos e

frutos (Moral *et al.*, 2017); e o mofo cinzento (*Botrytis cinerea*), que ataca flores e frutos, formando um micélio cinzento característico em condições de alta umidade (Anderson; Kirk, 2004). Essas doenças podem comprometer significativamente a produção de morangos, tornando essencial o manejo integrado que engloba o uso de cultivares resistentes, práticas culturais adequadas e, quando necessário, controle químico (Santos; Medeiros, 2003; Pereira *et al.*, 2007).

2.4.2 Doenças bacterianas

As bactérias são microrganismos procariontes, unicelulares e que se reproduzem por divisão binária. Muitas espécies bacterianas são fitopatogênicas, causando danos às plantas de diferentes formas. Esses danos incluem a produção de toxinas que afetam os tecidos vegetais, a degradação da parede celular das plantas ou o bloqueio dos tecidos condutores, comprometendo o transporte de água e nutrientes. No caso do morangueiro, destaca-se a *Xanthomonas fragariae*, responsável pela mancha angular, uma doença que afeta os tecidos foliares, formando lesões translúcidas que comprometem a capacidade fotossintética da planta (Bassi *et al.*, 2010). Essas doenças, juntamente com outras infecções, exigem uma vigilância constante para o controle de sua disseminação, especialmente considerando a resistência crescente aos tratamentos convencionais (Neumann *et al.*, 2015).

2.4.3 Doenças causadas por nematoides

Os nematoides, pertencentes ao reino Animalia, são vermes microscópicos que habitam o solo e parasitam as raízes das plantas, causando sérios prejuízos ao desenvolvimento vegetal. No caso do morangueiro, destacam-se espécies de grande importância econômica, como *Aphelenchoides besseyi*, responsável pelo enfezamento do morangueiro; *Meloidogyne* spp., causador de galhas nas raízes; e *Pratylenchus* spp., que provoca lesões radiculares (Santos; Medeiros, 2003; Alves *et al.*, 2016). Esses nematoides são amplamente prejudiciais, pois induzem deformidades nas raízes, comprometendo a absorção de água e nutrientes. Como consequência, as plantas ficam enfraquecidas, apresentam crescimento reduzido e têm menor produtividade. Para o manejo desses patógenos, adota-se uma abordagem integrada que combina diferentes estratégias para minimizar seus impactos. O uso de práticas culturais, como a rotação de culturas com plantas não hospedeiras, pode reduzir a população de nematoides no solo (Souza *et al.*, 2017). O uso de cultivares resistentes é uma estratégia eficiente e sustentável, pois impede que o nematoide complete seu ciclo de vida. O manejo integrado, que combina essas práticas, é a melhor forma de garantir a sustentabilidade e a produtividade no cultivo do morangueiro (Alves *et al.*, 2016; Souza *et al.*, 2017).

2.4.4 Doenças causadas por fitoplasmas

Os fitoplasmas são microrganismos procariontes pertencentes à classe Mollicutes, conhecidos por não possuírem parede celular, sendo envoltos apenas por uma membrana plasmática. Esse traço estrutural os torna altamente flexíveis e sensíveis a condições ambientais adversas. Esses patógenos são restritos ao floema das plantas, onde se multiplicam e causam disfunções metabólicas significativas (Lee *et al.*, 2000).

Nos morangueiros, foram relatados fitoplasmas pertencentes ao grupo 16SrI, como *Candidatus Phytoplasma asteris* e *Candidatus Phytoplasma solani*, que causam sintomas como amarelecimento das folhas, crescimento reduzido, deformidades nas plantas e redução na frutificação, prejudicando o vigor e a produtividade das plantas (Soares *et al.*, 2015). Esses sintomas podem ser confundidos com os causados por outros patógenos, o que torna o diagnóstico precoce fundamental para o controle eficiente da doença. A transmissão ocorre principalmente por insetos vetores da ordem Hemiptera, como cigarrinhas (*Cicadellidae*) e psílídeos, que se alimentam diretamente do floema e transferem os fitoplasmas entre as plantas durante o processo de alimentação (Cavalcante *et al.*, 2014).

As principais técnicas de detecção incluem PCR (reação em cadeia da polimerase), que permite a amplificação e identificação do material genético do fitoplasma, e a análise por hibridação com sondas específicas (Garcia *et al.*, 2016). O LAMP (*Loop Mediated Isothermal Amplification*), uma plataforma de amplificação isotérmica de ácido nucleico idealizada por Notomi *et al.* (2000), também tem sido utilizada para detecção molecular de fitoplasma. É uma síntese de DNA de deslocamento de fita de ciclo automático catalisada por uma DNA polimerase de deslocamento de fita usando quatro primers (dois primers internos e dois primers externos) que se ligam a seis sequências distintas no DNA alvo. Os protocolos de ensaio imunoenzimático (ELISA) também tem sido utilizados para detecção de diversas espécies de fitoplasma (Kanatiwela-de Silva *et al.* 2019). Em casos mais avançados, a microscopia eletrônica também pode ser utilizada para visualizar diretamente os fitoplasmas, mas é uma técnica mais complexa e menos acessível. O controle dos fitoplasmas envolve a gestão do controle dos insetos vetores, por meio de práticas culturais, como o uso de armadilhas para captura dos insetos e aplicação de inseticidas seletivos (Soares *et al.*, 2015). Além disso, é importante o uso de mudas certificadas livres de fitoplasmas e a eliminação de plantas infectadas para evitar a disseminação da doença. O desenvolvimento de cultivares resistentes também é uma estratégia importante no manejo integrado dessas infecções (Santos *et al.*, 2008).

2.5 Viroses

Os vírus são agentes infecciosos, formados por um núcleo de material genético, que pode ser DNA ou RNA, envolto por um capsídeo proteico que os protege e auxilia na infecção das células hospedeiras. Por serem parasitas obrigatórios, os vírus dependem completamente das células que infectam para se replicarem e completarem seu ciclo de vida. No cultivo de morangueiro, diversos vírus têm impacto significativo, como strawberry crinkle virus (SCV) e o strawberry mild yellow edge virus (SMYEV) (Bassi *et al.*, 2010). Esses vírus são transmitidos principalmente por insetos vetores, como afídeos (*Chaetosiphon fragaefolii* e *Chaetosiphon jacobi*) (Joshi *et al.*, 2014). Os sintomas causados por esses vírus incluem deformações foliares, como enrolamento ou enrugamento, redução no crescimento vegetativo e menor frutificação, comprometendo tanto a qualidade quanto a quantidade da produção (Oliveira; Martins; Pereira, 2006; Santos *et al.*, 2008). O manejo de viroses no morangueiro requer estratégias integradas, como o uso de mudas certificadas livres de vírus, o controle eficiente de insetos vetores por meio de práticas culturais e aplicação de inseticidas seletivos, e a eliminação de plantas infectadas para evitar a disseminação do vírus (Santos *et al.*, 2008; Joshi *et al.*, 2014).

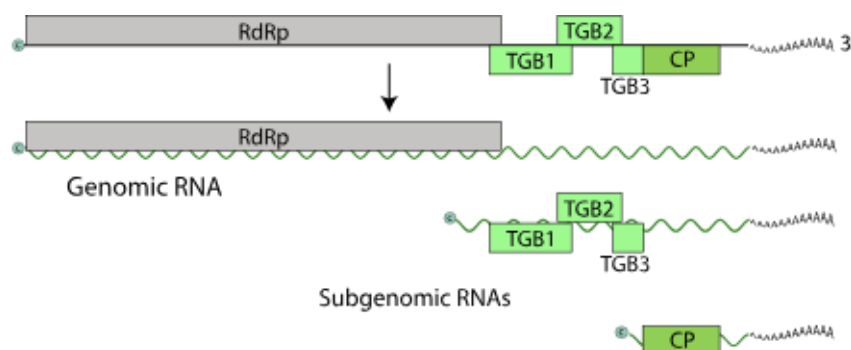
As viroses em morango têm sido documentadas desde o início do século XX. O primeiro relato de uma virose na cultura foi associado ao strawberry mottle virus (SMoV) na Inglaterra, em 1922, por Smith, que observou sintomas de mosaico em cultivares locais (Smith, 1922). Desde então, os vírus que infectam o morangueiro têm sido identificados em várias partes do mundo, com relatos significativos na América do Norte, Europa e Ásia.

A importância das viroses no morango reside em sua capacidade de reduzir drasticamente o vigor vegetativo, a produtividade e a qualidade dos frutos. Em muitos casos, as infecções virais são assintomáticas nas fases iniciais, dificultando a detecção e permitindo a propagação silenciosa dos patógenos por meio de material de plantio contaminado (Martins *et al.*, 2022). Dentre as viroses que acometem o morango, destacam-se:

2.5.1 *Potexvirus fragariae* (SMYEV)

O *Potexvirus fragariae* ou strawberry mild yellow edge virus (SMYEV) é um dos principais vírus que afetam a cultura do morango (*Fragaria* × *ananassa*), contribuindo para perdas significativas de produtividade e qualidade dos frutos. Taxonomicamente, o SMYEV pertence ao gênero *Potexvirus* e à família Alphaflexiviridae. O genoma desse vírus é composto por RNA de fita simples com polaridade positiva, codificando proteínas associadas à replicação, movimento celular e formação da partícula viral (Figura 1) (Martins *et al.*, 2006).

Figura 1: Representação genômica do *Potexvirus fragariae*.



Legenda: Organização genômica e expressão proteica do strawberry mild yellow edge virus (SMYEV), um vírus pertencente ao gênero *Potexvirus*. O genoma de RNA fita simples de polaridade positiva codifica a RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), proteínas do bloco triplo de genes (TGB1, TGB2 e TGB3) envolvidas no movimento viral e a proteína do capsídeo (CP), essencial para a formação da partícula viral. A figura destaca a produção de RNAs subgenômicos durante o ciclo replicativo, responsáveis pela expressão das proteínas estruturais e de movimento.

Fonte: ViralZone (<https://viralzone.expasy.org>) (2024) com adaptações.

A partícula viral apresenta formato filamentosso flexível, com aproximadamente 470-580 nm de comprimento (ICTV, 2024). Em condições de campo, o SMYEV frequentemente ocorre em coinfeções com outros vírus, como o strawberry crinkle virus (SCV) e o strawberry vein banding virus (SVBV), exacerbando os sintomas nas plantas afetadas.

Os sintomas induzidos pelo SMYEV incluem bordas amareladas leves nas folhas, com posterior evolução para clorose generalizada (Figura 2). A infecção também pode resultar em redução do vigor das plantas, comprometendo o desenvolvimento dos frutos e a produção. Esses danos tornam-se mais severos quando associados a fatores de estresse ambiental ou presença de outros patógenos.

Figura 2: Planta de morango com sintomas causados por *Potexvirus fragariae*.



Legenda: A-B Planta de morango com sintomas característicos causados por *Potexvirus fragariae*, clorose e folíolos curvados para baixo, pela ação do vírus.

Fonte: Adaptado de EMBRAPA (2024).

A transmissão do SMYEV ocorre de forma persistente por meio de afídeos, sendo *Chaetosiphon fragaefolii* o principal vetor (EPPO,2005). Esses insetos adquirem o vírus ao se alimentarem de plantas infectadas e o disseminam para plantas saudáveis durante a alimentação, sendo dois dias para a aquisição e oito dias requeridos para a transmissão (EPPO,2005). Além disso, a propagação pode ocorrer pelo uso de mudas contaminadas, um problema recorrente em sistemas de produção intensiva de morango.

No mundo, o SMYEV é amplamente distribuído em regiões produtoras de morango, sendo relatado na Europa, América do Norte, Ásia e Oceania. No Brasil, sua presença é registrada principalmente em áreas de cultivo no Sul e Sudeste, onde o clima é favorável ao desenvolvimento dos afídeos vetores e a cultura é amplamente difundida (Antunes; Reisser Júnior; Schwengber, 2016).

O manejo do SMYEV envolve medidas integradas que incluem o controle dos vetores, uso de mudas certificadas livres de vírus e eliminação de plantas sintomáticas. A aplicação de inseticidas para controle de afídeos deve ser realizada com critérios técnicos para evitar resistência e danos ao meio ambiente. Além disso, práticas como a instalação de barreiras físicas, como telas anti-insetos, e o uso de agentes de controle biológico podem complementar o manejo integrado (Nickel; Fajardo, 2014).

A detecção do SMYEV é realizada por meio de técnicas sorológicas, como ELISA, e moleculares, como RT-PCR. Essas metodologias permitem a identificação precisa do vírus, mesmo em estágios iniciais da infecção. Recentemente, avanços em tecnologias de sequenciamento de nova geração têm possibilitado uma melhor compreensão da diversidade genética do vírus e de sua interação com os hospedeiros (Martins *et al.*, 2006).

Dessa forma, o SMYEV representa um desafio significativo para a produção de morangos em escala global. O conhecimento detalhado sobre sua biologia, epidemiologia e manejo é essencial para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis que minimizem os impactos da doença e garantam a sustentabilidade do cultivo.

2.5.2 *Sadwavirus fragariae* (SMoV)

Sadwavirus fragariae ou strawberry mottle virus (SMoV) é um dos principais agentes virais que afetam a cultura do morangueiro (*Fragaria* spp.), sendo descrito pela primeira vez em 1922 (Frazier; Sylvester, 1960). Pertencente à ordem Picornavirales família Secoviridae e gênero *Sadwavirus* (Sanfaçon, 2009), o *Sadwavirus fragariae* é amplamente distribuído em regiões produtoras de morango, como América do Norte, Europa, Ásia e Oceania (Maas, 2020). Este vírus se destaca pela sua relevância epidemiológica, tanto pelos

prejuízos econômicos que pode causar quanto pela sua interação sinérgica com outros patógenos.

Tais interações sinérgicas aumentam a severidade dos sintomas, como deformações foliares, clorose, má formação de flores e frutos, o que resulta em reduções significativas no vigor das plantas (Figura 3) (Fraile *et al.*, 2019). Além disso, essas coinfeções complicam o diagnóstico e o manejo, exigindo abordagens integradas que considerem tanto a detecção precoce quanto o controle eficaz de múltiplos vírus.

Figura 3 - Planta de morango com sintomas causados pelo *Sadwavirus fragariae*.

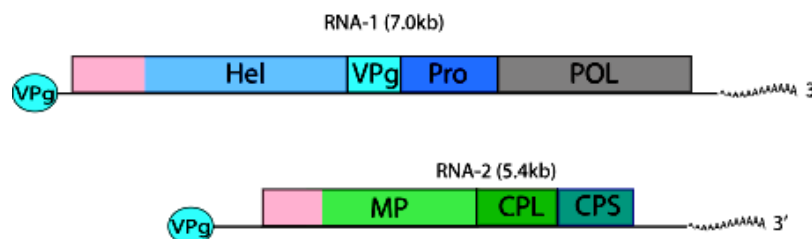


Legenda: Planta de morango com sintomas característicos causados por *Sadwavirus fragariae*, incluindo clorose foliar com margens das folhas e coloração vermelha ou laranja.

Fonte: Adaptado de University of Kentucky (2024).

Sadwavirus fragariae apresenta um genoma de RNA bipartido de fita simples, composto por RNA 1 e RNA 2, com tamanhos de aproximadamente 7 kb e 5,6 kb, ambos com cauda poliadenilada (Tompson *et al.*, 2002). O RNA 1 codifica proteínas essenciais para a replicação viral, como helicase (Hel), RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) e outras enzimas que desempenham funções críticas no ciclo viral. Já o RNA 2 é responsável pela codificação de proteínas envolvidas na movimentação celular e no encapsidamento, como a proteína de movimento (MP) e as proteínas de revestimento (CPL e CPS) (Tompson *et al.*, 2002). Essa organização genômica reflete a adaptação do vírus para infectar eficientemente o morangueiro e disseminar-se em larga escala (Figura 4).

Figura 4: Representação genômica bipartida do *Sadwavirus fragariae*.



Legenda: Organização genômica do vírus *Sadwavirus fragariae*, com genoma bipartido representando os segmentos RNA-1 (7,0 kb) e RNA-2 (5,4 kb). O segmento RNA-1 codifica a helicase (Hel), proteína ligada ao genoma viral (VPg), protease (Pro) e RNA polimerase dependente de RNA (POL). O segmento RNA-2 codifica a proteína de movimento (MP), proteína de capsídeo-like (CPL) e proteína de capsídeo (CPS). Ambos os segmentos possuem extremidades 5' ligadas à VPg e extremidades 3' poliadeniladas (poly-A).

Fonte: ViralZone (<https://viralzone.expasy.org>) (2024) com adaptações.

A disseminação do SMOV ocorre predominantemente por meio de vetores biológicos, especialmente pulgões do gênero *Chaetosiphon* e a espécie *Aphis gossypii* (Thompson; Jelkmann, 2003). Esses insetos transmitem o vírus de forma persistente circulativa, adquirindo ao se alimentarem do floema de plantas infectadas. Durante o processo de aquisição, o vírus atravessa barreiras fisiológicas no corpo do inseto, como o epitélio intestinal, migrando para a hemolinfa e, em seguida, para as glândulas salivares, onde se acumula (NG; Falk, 2006; Whitfield *et al.*, 2015). O período de aquisição varia de 15 minutos a algumas horas, dependendo da densidade viral na planta hospedeira e das condições ambientais. Após atravessar o período de latência, que pode durar de horas a poucos dias, o vetor torna-se infeccioso pelo resto da vida, garantindo alta eficiência na disseminação do SMOV (Gray *et al.*, 2007).

A interação entre o *Sadwavirus fragariae* e seus vetores demonstra um alto grau de especialização e coevolução. Proteínas virais, como a MP e as proteínas de revestimento, desempenham papéis críticos na travessia de barreiras internas e na estabilidade do vírus dentro do vetor, garantindo sua eficiência de transmissão (Whitfield *et al.*, 2015). Esses fatores tornam o controle do *Sadwavirus fragariae* um desafio significativo, especialmente em áreas com alta densidade populacional de pulgões.

As estratégias de manejo dependem de uma compreensão aprofundada dos mecanismos de transmissão e interação entre o vírus e seus vetores. Métodos moleculares, como RT-PCR e qPCR, são cruciais para a detecção precoce, permitindo ações preventivas, como o uso de mudas livres de vírus e o controle das populações de pulgões (Martins *et al.*, 2022). Abordagens mais recentes incluem a amplificação isotérmica mediada por loop (RT-

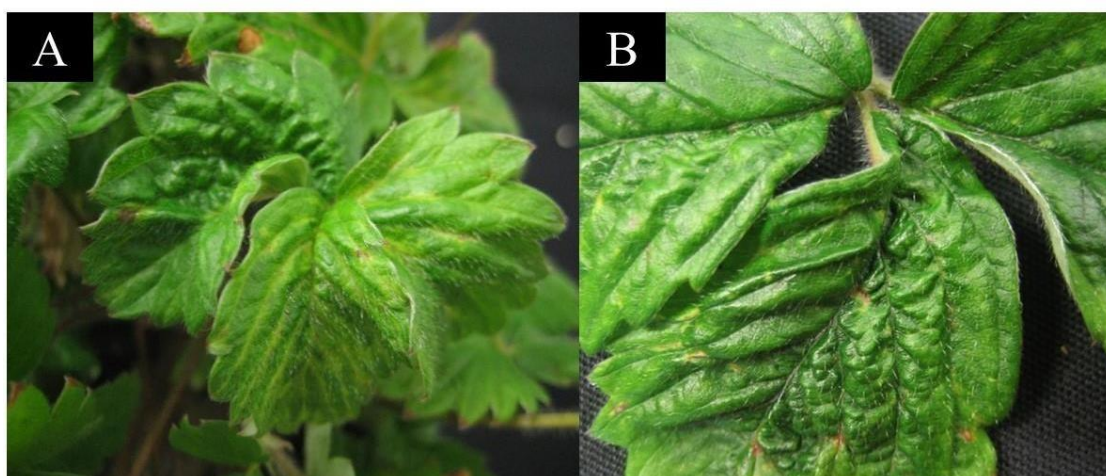
LAMP), que se destaca pela rapidez e sensibilidade, sendo adequada para detecção em condições de campo (Ren *et al.*, 2021).

Por fim, a adoção de práticas de manejo integrado, incluindo o controle de vetores, o uso de variedades resistentes e a produção de mudas certificadas, é essencial para mitigar os impactos do SMoV na cultura do morangueiro. A integração de abordagens multidisciplinares é fundamental para enfrentar os desafios impostos pela alta prevalência do vírus e sua complexa interação com os vetores e outros patógenos.

2.5.3 *Cytorhabdovirus fragariarugosus* (SCV)

Cytorhabdovirus fragariarugosus ou strawberry crinkle virus (SCV) é um dos principais patógenos do morangueiro, amplamente distribuído em áreas produtoras e reconhecido como uma das principais causas de perdas econômicas na cultura (ICTV, 2024). Descrito pela primeira vez na década de 1930, o *Cytorhabdovirus fragariarugosus* pertence à família Rhabdoviridae, subfamília Betarhabdovirinae e gênero *Cytorhabdovirus* (Mellor & Krczal, 1987). Sua infecção é marcada por sintomas como enrugamento das folhas, clorose internerval, deformação de frutos e redução do vigor das plantas (Figura 5). Esses danos são frequentemente agravados em coinfeção com outros vírus, como o *Sadwavirus fragariae* (SMoV) e o *Caulimovirus venafragariae* (SVBV), resultando em perdas de produtividade que podem atingir até 70% (Fraile *et al.*, 2019).

Figura 5 - Planta de morango com sintomas causados pelo *Cytorhabdovirus fragariarugosus*.



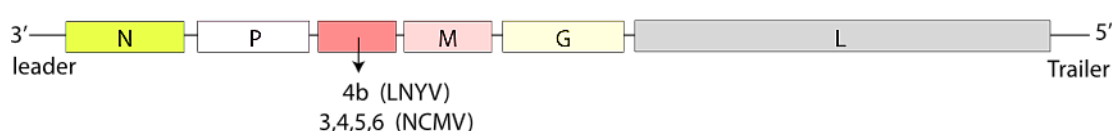
Legenda: A-B: Planta de morango com sintomas característicos causados por *Cytorhabdovirus fragariarugosus*, incluindo clorose nas nervuras foliares e enrugamento das folhas.

Fonte: Adaptado de University of Florida (2024).

O genoma do *Cytorhabdovirus fragariarugosus* é constituído por RNA de fita simples com polaridade negativa, organizado em um único segmento de aproximadamente 13 kb (Adkins *et al.*, 2003). Ele codifica sete proteínas principais, como a nucleoproteína (N), a

glicoproteína (G) e a RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), essenciais para a replicação, montagem e movimentação do vírus (Figura 6) (Dietzgen *et al.*, 2017). Essas características tornam o *Cytorhabdovirus fragariae* um patógeno altamente eficiente, especialmente quando transmitido por seus vetores biológicos, os pulgões do gênero *Chaetosiphon*. A transmissão ocorre de forma persistente propagativa, com o vírus replicando-se nos tecidos internos do vetor, como as glândulas salivares, e sendo transmitido durante toda a vida do inseto (Whitfield *et al.*, 2015; Gray *et al.*, 2007).

Figura 6: Representação genômica bipartida do *Cytorhabdovirus fragariae*.
(-) strand RNA genome



Legenda: Representação esquemática da organização genômica do *Cytorhabdovirus fragariae*. O genoma do vírus apresenta genes que codificam as principais proteínas estruturais e funcionais: nucleoproteína (N), fosfoproteína (P), proteína de interação (I), proteína de matriz (M), glicoproteína de envelope (G) e a RNA polimerase dependente de RNA (L). Essa organização é característica do gênero *Cytorhabdovirus* na família Rhabdoviridae.

Fonte: ViralZone (<https://viralzone.expasy.org>) (2024) com adaptações.

No Brasil, o morangueiro é amplamente cultivado em estados como Minas Gerais, São Paulo e Paraná, mas estudos sobre a ocorrência do *Cytorhabdovirus fragariae* ainda são limitados. Embora vetores como *Chaetosiphon fragaefolii* já tenham sido documentados no país, há uma lacuna crítica no conhecimento sobre a epidemiologia do *Cytorhabdovirus fragariae* em território brasileiro. A ausência de levantamentos de incidência impede uma avaliação precisa dos riscos à cultura, comprometendo a implementação de estratégias de manejo eficazes (SILVA *et al.*, 2020).

Os sintomas associados ao *Cytorhabdovirus fragariae* (SCV) podem variar conforme fatores como idade da planta, genótipo hospedeiro e condições ambientais. A coinfeção com outros vírus pode resultar em uma sobreposição de sintomas, tornando o diagnóstico mais desafiador. Embora não haja informações específicas sobre o período de incubação do SCV, sabe-se que os citorabdovírus replicam-se no citoplasma das células infectadas e são transmitidos por vetores como pulgões (ICTV, 2025). Métodos moleculares como RT-PCR, qPCR e RT-LAMP têm sido amplamente utilizados para a detecção precoce do *Cytorhabdovirus fragariae*, oferecendo maior precisão e rapidez no diagnóstico (Ren *et al.*, 2021).

O manejo do *Cytorhabdovirus fragariarugosus* requer uma abordagem integrada, combinando o uso de mudas certificadas, controle de vetores e práticas culturais. A remoção de plantas infectadas e o uso de controle químico ou biológico para reduzir populações de pulgões são medidas fundamentais para minimizar a disseminação do vírus. Além disso, pesquisas recentes têm explorado ferramentas biotecnológicas, como CRISPR/Cas, para introduzir resistência genética ao *Cytorhabdovirus fragariarugosus* em cultivares de morango, representando um avanço promissor no manejo sustentável da doença (Hull & Moore, 2020).

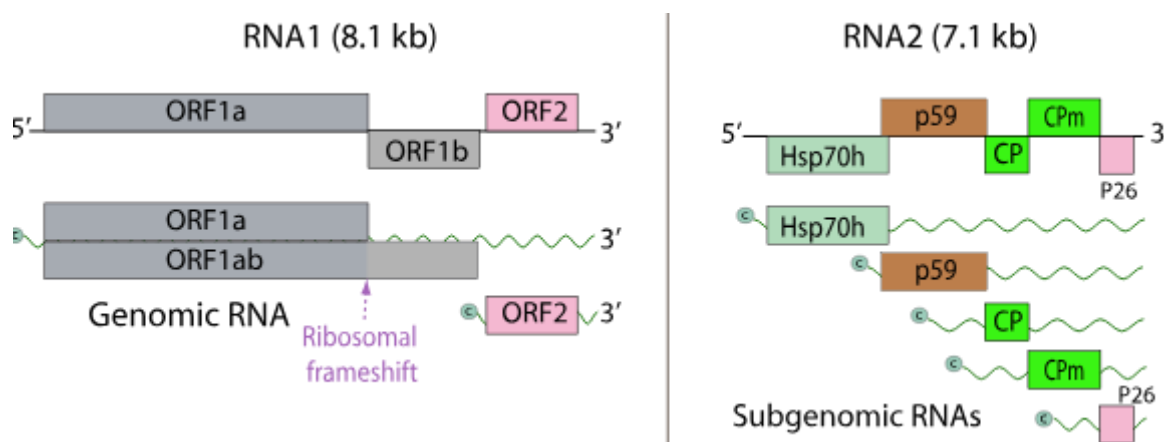
Portanto, o controle do *Cytorhabdovirus fragariarugosus* depende de uma combinação de estratégias tradicionais e inovadoras, apoiadas por levantamentos epidemiológicos que mapeiem sua ocorrência no Brasil. Uma abordagem multidisciplinar é crucial para mitigar os impactos desse patógeno, garantindo a produtividade e a qualidade dos frutos em regiões produtoras.

2.5.4 *Crinivirus palidofragariae* (SPaV)

Crinivirus palidofragariae ou strawberry pallidosis-associated virus (SPaV) é um dos principais vírus associados à cultura do morangueiro, pertencente ao gênero *Crinivirus* e à família *Closteroviridae* (ICTV, 2024). Este vírus foi identificado inicialmente na década de 1990 e tem sido amplamente estudado devido à sua relevância na redução da produtividade e qualidade dos frutos (Tian *et al.*, 1996). O SPaV é transmitido de forma semi-persistente por moscas-brancas, especialmente *Trialeurodes vaporariorum* e *Bemisia tabaci*, vetores que desempenham um papel crucial na disseminação do vírus em áreas de cultivo comercial (Kundu *et al.*, 2008).

O genoma do gênero *Crinivirus* é constituído por RNA, é dividido entre dois RNAs lineares, de sentido positivo, fita simples, totalizando 15,6–17,9 kb (Martín *et al.*, 2006). O genoma viral inclui ORFs (*Open Reading Frames*) que codificam proteínas essenciais para a replicação, movimento e encapsidação do vírus. Dentre as principais proteínas estão a RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), responsável pela replicação do genoma viral, as proteínas Hsp70h e p59, que atuam no movimento viral dentro da planta hospedeira, e as proteínas CP (proteína da cápside principal) e CPM (proteína da cápside menor), fundamentais para a formação do capsídeo e proteção do genoma viral. Essa estrutura genômica confere ao SPaV a capacidade de interagir com proteínas hospedeiras, facilitando sua replicação e disseminação sistêmica na planta. Estudos recentes indicam que o genoma do SPaV apresenta uma alta variabilidade genética, o que pode influenciar a expressão de sintomas e a eficiência das estratégias de manejo (Rusholme *et al.*, 2007) (Figura 7).

Figura 7: Representação genômica bipartida do *Crinivirus palidofragariae*.



Legenda: Representação esquemática da organização genômica do *Crinivirus palidofragariae*. O genoma do vírus apresenta, genoma bipartido com genes que codificam as principais proteínas estruturais e funcionais: polimerase dependente de RNA (RdRp), proteínas Hsp70h e p59, CP (proteína da cápside principal) e proteína da cápside menor (com). Essa organização é característica do gênero *Crinivirus* na família *Closteroviridae*.

Fonte: ViralZone (<https://viralzone.expasy.org>) (2025).

O SPaV é transmitido por moscas-brancas de maneira semi-persistente. Após a aquisição, o vírus é retido no estilete das moscas-brancas, podendo ser transmitido a novas plantas durante a alimentação subsequente. Essa interação vírus-vetor é altamente eficiente em condições de clima quente e úmido, que favorecem a proliferação dos vetores (Kundu *et al.*, 2008). A ampla distribuição geográfica do strawberry pallidosis-associated virus (SPaV) e sua capacidade de coinfeção com outros vírus do complexo viral do morangueiro, como o beet pseudo yellows virus (BPYV), agravam os impactos econômicos nas lavouras. Estudos indicam que taxas de infecção podem chegar a 90% para o SPaV e 60% para o BPYV em plantas com sintomas de declínio, especialmente em áreas com altas populações de moscas-brancas, os vetores desses vírus. A coinfeção com outros vírus pode intensificar os sintomas e dificultar o diagnóstico, resultando em perdas significativas na produtividade (Tzanetakis *et al.*, 2006). A palidose do morango, nome comum da doença causada pelo SPaV é transmissível por enxerto e induz sintomas em *Fragaria virginiana* ('UC-10', 'UC-11'), mas não em indicadores de *F. vesca* (Antunes; Reisser Júnior; Schwengber, 2016). Os sintomas característicos do SPaV incluem clorose interneval, necrose parcial das folhas, redução no crescimento e má formação dos frutos. Em coinfeção com outros vírus, os sintomas tornam-se mais severos e frequentemente levam ao declínio total das plantas (Martín *et al.*, 2006) (Figura 8).

Figura 8 - Planta de morango com sintomas causados pelo *Crinivirus palidofragariae*.



Legenda: Plantas de morango infectadas pelo *Crinivirus palidofragariae* (SPaV), apresentando clorose internerval, necrose parcial das folhas e deformação dos frutos.

Fonte: Surendra Dara, UCCE (2013).

Estudos indicam que a presença de SPaV pode causar perdas de produtividade superiores a 50%, especialmente em cultivares suscetíveis (Rusholme *et al.*, 2007). O diagnóstico do SPaV é desafiador devido à sua associação frequente com infecções múltiplas. Técnicas moleculares, como RT-PCR e RT-qPCR, são amplamente utilizadas para a detecção específica do vírus. Recentemente, métodos baseados em LAMP (*Loop-Mediated Isothermal Amplification*) têm sido desenvolvidos, oferecendo maior sensibilidade e praticidade para o diagnóstico em campo (Kundu *et al.*, 2008).

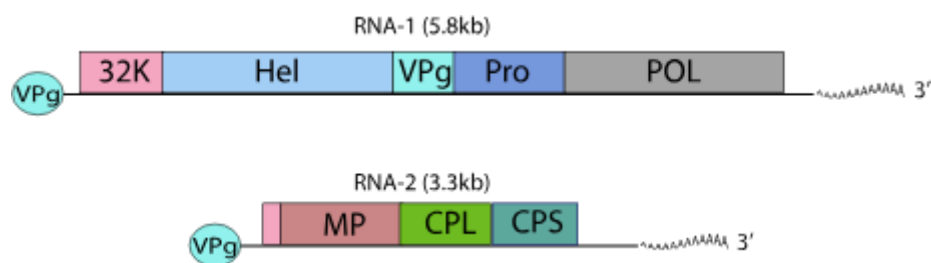
O manejo do SPaV requer uma abordagem integrada, combinando medidas preventivas e tecnológicas. O uso de mudas certificadas, livres de vírus, é a base para minimizar a introdução do patógeno nos sistemas de cultivo. O controle populacional de vetores, por meio de práticas culturais, controle biológico com inimigos naturais e aplicação de inseticidas seletivos, é essencial para reduzir a transmissão viral (Martín *et al.*, 2006). Além disso, o desenvolvimento de cultivares resistentes, por meio de melhoramento genético tradicional e técnicas de biotecnologia, tem se mostrado promissor para o manejo sustentável do SPaV (Rusholme *et al.*, 2007). Pesquisas recentes têm explorado a edição genética mediada por CRISPR/Cas para conferir resistência ao SPaV em morangueiros. Essa estratégia, aliada a estudos epidemiológicos e ao desenvolvimento de modelos preditivos baseados em dados climáticos e populacionais dos vetores, visa fornecer soluções mais eficazes e sustentáveis para os desafios impostos pelo SPaV na agricultura moderna (Kundu *et al.*, 2008). Portanto, o enfrentamento do SPaV exige um esforço multidisciplinar, integrando

avanços tecnológicos e práticas agrícolas sustentáveis para mitigar os impactos negativos desse vírus na produtividade e na qualidade dos frutos de morango.

2.5.5 *Stralarivirus fragariae* (SLRSV)

Também strawberry latent ringspot virus (SLRSV) o *Stralarivirus fragariae* é um vírus que afeta a cultura do morango (*Fragaria* × *ananassa*), causando perdas na produtividade e comprometendo a qualidade dos frutos. Taxonomicamente, o SLRSV pertence ao gênero *Stralarivirus* e à família *Secoviridae* (ICTV, 2024). Este vírus possui um genoma constituído por RNA de fita simples com polaridade positiva, segmentado em dois componentes, RNA-1 e RNA-2, que codificam proteínas relacionadas à replicação e ao movimento viral, respectivamente (Martins *et al.*, 2006). A proteinase dos *Stralarivirus* é distinta daquela de outros vírus da família, pois não parece ter um His ou Leu conservado no sítio ativo. Além disso, o sítio de clivagem reconhecido pela proteinase do *Stralarivirus* é único (Figura 10).

Figura 10: Representação genômica bipartida do *Stralarivirus fragariae*.

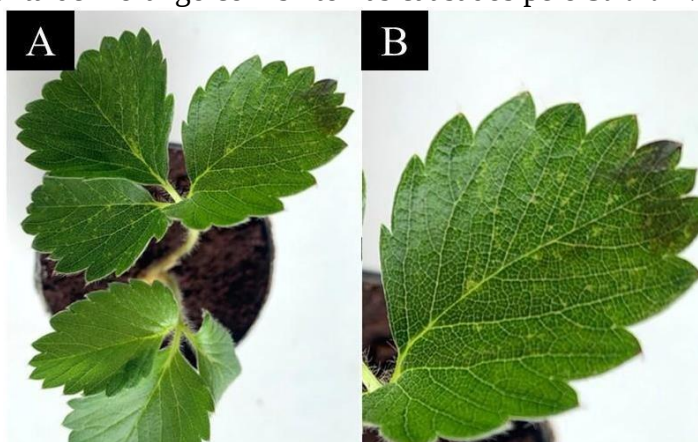


Legenda: Representação esquemática da organização genômica bipartida do *Stralarivirus fragariae*. O vírus possui um genoma de RNA de fita simples positivo (+ssRNA) segmentado em dois segmentos: O RNA-1 contém genes relacionados à replicação viral, incluindo, Hel (helicase), VPg (proteína ligada ao genoma viral), Pro (protease) e Pol (Poliproteína). O RNA-2 codifica proteínas associadas à movimentação e à estrutura do vírus, incluindo MP (proteína de movimento), CPL (proteína da cápside menor) e CPS (proteína da cápside principal).

Fonte: ViralZone (<https://viralzone.expasy.org>) (2025).

A partícula viral do SLRSV apresenta formato icosaédrico, com cerca de 28 nm de diâmetro, sendo composta por um capsídeo proteico que protege o material genético. O vírus é mecanicamente transmissível e pode infectar uma ampla gama de hospedeiros, incluindo plantas herbáceas e lenhosas. No morango, o SLRSV frequentemente se associa a infecções latentes, mas também pode provocar sintomas como anormalidades no crescimento, manchas cloróticas nas folhas e redução da produtividade.

Figura 10 - Planta de morango com sintomas causados pelo *Stralarivirus fragariae*.



Legenda: Planta de morango com sintomas característicos causados por *Stralarivirus fragariae*, incluindo clorose foliar nas nervuras das folhas.

Fonte: Adaptado de Kunasakdakul *et al.*, (2022).

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.

A transmissão do SLRSV ocorre principalmente por meio de nematoides do gênero *Xiphinema*, que atuam como vetores persistentes ao adquirir o vírus ao se alimentarem de raízes infectadas e o transmitirem para outras plantas durante a alimentação (Taylor; Brown, 1997). 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* (Antunes; Reisser Júnior; Schwengber, 2016). Esses vetores têm um papel crucial na disseminação do vírus em campo, especialmente em áreas onde o manejo dos nematoides é ineficaz.

A incidência do SLRSV é relatada em diversas regiões do mundo, incluindo Europa, América do Norte e Ásia, sendo especialmente prevalente em áreas temperadas onde o cultivo de morango é intensivo. No Brasil, a ocorrência do SLRSV não foi documentada até o momento, mas pode estar presente em regiões produtoras de morango, como o Sul e o Sudeste, onde o uso de mudas importadas e o manejo inadequado dos vetores podem facilitar a introdução e a disseminação do vírus (Antunes; Reisser Júnior; Schwengber, 2016).

O manejo do SLRSV requer estratégias integradas que visem tanto o controle do vírus quanto de seus vetores. O uso de mudas certificadas livres de vírus é essencial para evitar a propagação inicial do patógeno. Além disso, práticas culturais, como rotação de culturas com plantas não hospedeiras de nematoides, e o uso de nematicidas podem reduzir a população de vetores em campo. Programas de monitoramento e controle biológico de nematoides também têm sido explorados como alternativas sustentáveis (Neves *et al.*, 2011).

A detecção do SLRSV é realizada por meio de técnicas sorológicas, como o ELISA, e moleculares, como RT-PCR, que permitem a identificação precisa do vírus em amostras de tecido vegetal. Recentemente, ferramentas mais avançadas, como o sequenciamento de nova geração (NGS), têm sido empregadas para caracterizar a diversidade genética do vírus e sua relação filogenética com outras espécies do gênero *Stralarivirus* (Martins *et al.*, 2006).

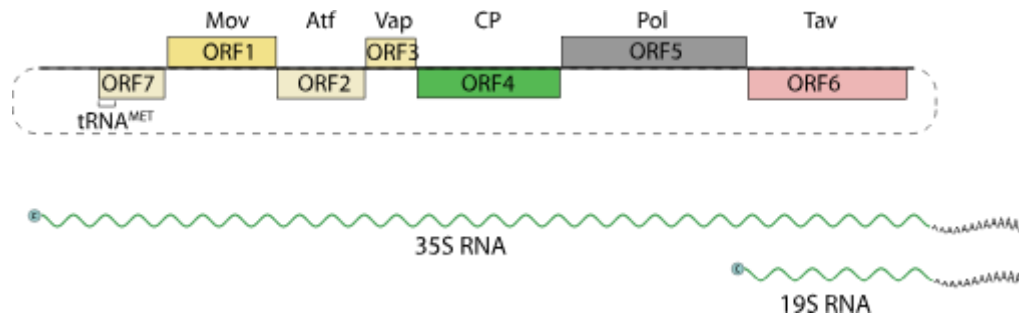
Portanto, o SLRSV representa um desafio fitossanitário importante para a cultura do morango, exigindo a adoção de medidas preventivas e técnicas de manejo integrado para mitigar seus impactos. A utilização de tecnologias de detecção avançadas e a implementação de programas de certificação de mudas são fundamentais para assegurar a sustentabilidade da produção de morangos em áreas afetadas.

2.5.6 *Caulimovirus venafragariae* (SVBV)

O strawberry vein banding virus (SVBV), atualmente *Caulimovirus venafragariae* é um dos principais patógenos virais que afetam a cultura do morango (*Fragaria* × *ananassa*), causando perdas significativas na produção e comprometendo a qualidade dos frutos (ICTV, 2024). Taxonomicamente, o SVBV pertence ao gênero *Caulimovirus* e à família Caulimoviridae, sendo um vírus de DNA de fita dupla (dsDNA) que se replica via transcrição reversa (Martín *et al.*, 2006). Sua classificação taxonômica e características estruturais são compartilhadas com outros vírus do gênero, tornando-o um vírus persistente e de difícil manejo.

A partícula viral do SVBV é icosaédrica, com aproximadamente 50 nm de diâmetro, apresentando um capsídeo proteico que protege o genoma viral. Contêm uma única molécula de dsDNA circular aberto não covalentemente de 7,8–8,2 kb (ICTV, 2024). Sua estrutura é organizada em sete regiões de leitura abertas (ORFs), as quais codificam proteínas necessárias para a replicação, movimento e montagem da partícula viral. A ORF 6 é responsável pela produção de proteínas envolvidas na patogenicidade e interação com a planta hospedeira (Figura 11) (Rusholme *et al.*, 2007. ICTV, 2024).

Figura 11: Representação genômica monopartido do *Caulimovirus venafragariae*

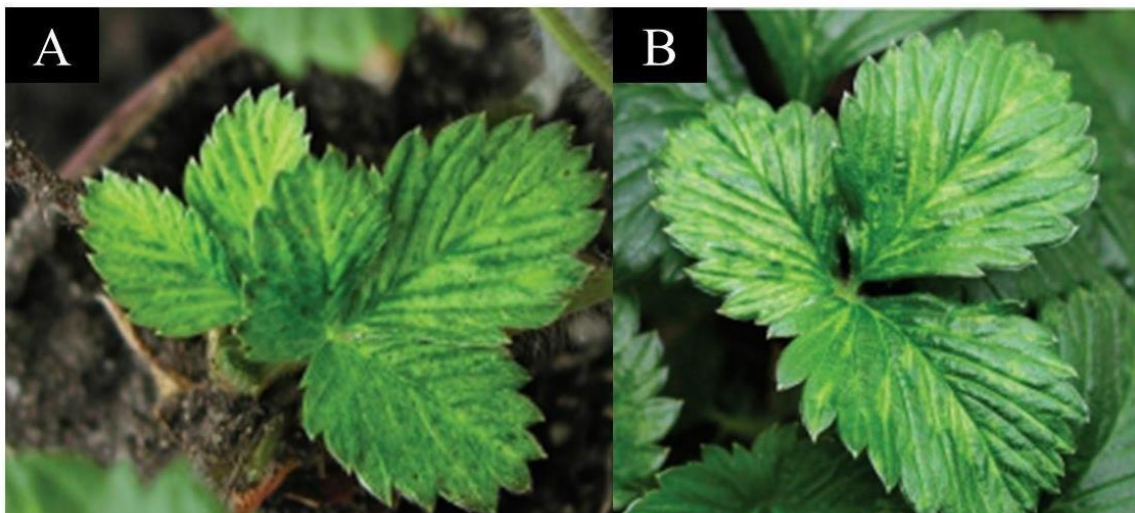


Legenda: Organização genômica do vírus *Caulimovirus venafragariae*, com genoma monopartido representando o segmento DNA (7,2-8,2 kb), circular aberto. O genoma do vírus é composto por sete ORFs (Open Reading Frames) que codificam proteínas específicas: ORF1 e ORF2 (Mov e Atf): Relacionadas à movimentação e fatores de transativação, ORF3 (Vap): Proteína associada à virulência, ORF4 (CP): Codifica a proteína do capsídeo (Coat Protein), ORF5 (Pol): Envolvida na replicação do genoma viral (Polimerase), ORF6 (Tav): Ativa processos de tradução viral e ORF7: Associada ao tRNA^{MET}. Abaixo, são representados os dois principais transcritos virais: 35S RNA: Transcrito viral principal e 19S RNA: Transcrito secundário envolvido na expressão de proteínas específicas.

Fonte: ViralZone (<https://viralzone.expasy.org>) (2024).

A presença do SVBV pode ser identificada por sintomas característicos, como a clorose das nervuras, onde as veias das folhas apresentam clorose, associada a um crescimento reduzido e a uma maturação irregular dos frutos (Figura 12). Em infecções graves, pode haver redução significativa do vigor da planta, levando a perdas de produtividade.

Figura 12 - Planta de morango com sintomas causados por *Caulimovirus venafragariae*.



Legenda: A-B Planta de morango com sintomas característicos causados por *Caulimovirus venafragariae*, incluindo clorose nas nervuras das folhas.

Fonte: Adaptado de D. Hanzliková Vašková *et al.*, 2006.

O vetor principal do SVBV é o pulgão *Chaetosiphon fragaefolii*, um inseto que realiza a transmissão de forma semi-persistente. Os pulgões adquirem o vírus ao se alimentarem da seiva de plantas infectadas e o transmitem para plantas saudáveis durante o processo de alimentação subsequente (Martin, 2006). A disseminação do SVBV ocorre principalmente em viveiros de produção de mudas, onde a presença de vetores é facilitada pelo monocultivo e pelo manejo inadequado.

A incidência do SVBV tem sido relatada em diversas regiões produtoras de morango no mundo, incluindo América do Norte, Europa e Ásia. No Brasil, a ocorrência do vírus é mais comum em regiões de clima temperado e subtropical, como no Sul e no Sudeste, onde se concentram as principais áreas de cultivo do morango (Antunes; Reisser Júnior; Schwengber, 2016). A disseminação global e regional do SVBV representa um desafio significativo, pois está associada à circulação de mudas infectadas e à presença dos vetores.

O manejo do SVBV é baseado principalmente em estratégias preventivas e no controle do vetor. A utilização de mudas livres de vírus, obtidas por meio de programas de certificação sanitária, é fundamental para evitar a introdução do vírus em novas áreas de cultivo. O controle químico e biológico do pulgão *C. fragaefolii* também é amplamente recomendado, com foco na aplicação de inseticidas seletivos e no uso de inimigos naturais, como predadores e parasitoides. Além disso, a eliminação de plantas sintomáticas e o manejo adequado de viveiros são práticas essenciais para reduzir a disseminação do vírus (Rusholme *et al.*, 2007).

A detecção do SVBV é realizada principalmente por técnicas moleculares, como o PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), que permite a identificação específica do DNA viral em tecidos vegetais. Métodos como o ELISA também são utilizados para a detecção de proteínas virais, apresentando vantagens como a rapidez e o baixo custo. Recentemente, abordagens mais avançadas, como sequenciamento de nova geração (NGS) e ferramentas de bioinformática, têm sido empregadas para caracterizar a variabilidade genética do vírus, permitindo um diagnóstico mais preciso e a identificação de novas estirpes (Martín *et al.*, 2006).

Portanto, o *Caulimovirus venafragariae* constitui um desafio fitossanitário importante para a cultura do morango, exigindo a adoção de estratégias integradas de manejo, controle do vetor e ferramentas avançadas de detecção. A implementação de programas de certificação de mudas e o monitoramento constante dos plantios são fundamentais para mitigar os impactos do vírus e garantir a sustentabilidade da produção de morango.

REFERÊNCIAS

- ADKINS, S. *et al.* Rhabdoviruses infecting plants. **Journal of General Virology**, v. 84, p. 2659-2674, 2003.
- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5. ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005.
- ALVES, L. M. *et al.* **Controle de nematoides no cultivo de morangos**. São Paulo: Editora Agronômica, 2016.
- ANDERSON, P. S.; KIRK, P. A. Botrytis: **Mofo cinzento em morangos**. Rio de Janeiro: Editora Fitopatológica, 2004.
- ANTUNES, Luis Eduardo Corrêa; REISSER JÚNIOR, Carlos; SCHWENGBER, José Ernani (editores técnicos). **Morangueiro**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. 589 p.
- ANTUNES, L. E. C.; DUARTE FILHO, J.; CALEGARIO, F. F.; COSTA, H.; REISSER JUNIOR, C. Produção integrada de morango (PIMo) no Brasil. **Informe Agropecuário**, v. 28, n. 236, p. 34-39, 2007.
- BASSI, D. *et al.* **Fitopatologia em morangueiro: Doenças causadas por vírus e bactérias**. Curitiba: Editora Universidade, 2010.
- BRASIL, A. G. *et al.* **Murcha de Verticillium e seu controle no morangueiro**. Belo Horizonte: Editora Universidade, 2014.
- CAVALCANTE, A. S. *et al.* **Fitoplasmas em morangueiro: Caracterização e manejo**. Fortaleza: Editora Universitária, 2014.
- CHANCELLER. **Brasil importa mais de 90% das mudas de morango cultivadas**. 2020. Disponível em: <https://chancellor.com.br/brasil-importa-mais-de-90-das-mudas-de-morango-cultivadas>. Acesso em: 27 jan. 2025.
- COSTA, J. P. *et al.* Impactos dos fatores ambientais no desenvolvimento do morangueiro. **Revista de Fitotecnia**, v. 48, n. 3, p. 123-134, 2022.
- DARNELL, R. L.; CANTLIFFE, D. J.; KIRSCHBAUM, D. S.; CHANDLER, C. K. The physiology of flowering in strawberry. **Horticultural Reviews**, v. 28, p. 325-349, 2003.
- DIETZGEN, R. G. *et al.* Diversity and complexity in plant rhabdovirus interactions. **Annual Review of Phytopathology**, v. 55, p. 189-209, 2017.
- DÜRR, J. M. *et al.* **Doenças do morangueiro causadas por fungos do gênero *Phomopsis***. Porto Alegre: Editora Fitossanidade, 2008.
- DUARTE FILHO, J.; CUNHA, R. J. P.; ALVARENGA, D. A.; PEREIRA, G. E.; ANTUNES, L. E. C. Aspectos do florescimento e técnicas empregadas objetivando a produção precoce em morangueiros. **Informe Agropecuário**, v. 20, n. 198, p. 30-35, 1999.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Viroses do morangueiro**. Disponível em: <https://www.cnpqv.embrapa.br/uzum/morango/virose.html>. Acesso em: 18 dez. 2024.

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). **Strawberry mild yellow edge disease**. Paris: EPPO, 2005.

FAO. Food and Agriculture Organization. Global Strawberry Production Statistics. Roma: FAO, 2021.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Database**. Roma, 2023. Disponível em: <www.fao.org>. Acesso em: 10 nov. 2024.

FAOSTAT. **Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura**. Banco de dados estatístico. Disponível em : <https://www.fao.org/faostat> . Acesso em: 12 jan. 2025.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2003.

FRAILE, A. *et al.* Genetic diversity in RNA viruses. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 2501, 2019.

FRAILE, A. *et al.* Strawberry Virus Complexes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 57, p. 311-328, 2019.

FRANQUEZ, G. G. **Seleção e multiplicação de clones de morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.)**. 2008. 118 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

FRAZIER, N. W. Pest and disease problems of strawberries. **Annual Review of Phytopathology**, v. 4, p. 101-118, 1966.

FRAZIER, N. W.; SYLVESTER, E. S. Aphid transmission of strawberry viruses. **Journal of Economic Entomology**, v. 53, p. 203-205, 1960.

GALLEGO, R. *et al.* Emerging Viral Diseases in Strawberry Production. **Plant Pathology**, v. 70, n. 5, p. 1043-1056, 2021.

GARCIA, R. D. *et al.* **Deteção de fitoplasmas em morangos**. São Carlos: Editora Virologia, 2016.

GIAMPIERI, F. *et al.* The Beneficial Effects of Strawberry Bioactive Compounds on Human Health. **Food & Function**, v. 9, n. 3, p. 1136-1151, 2018.

GRAY, S. M. *et al.* Virus and vector dynamics in complex multispecies plant virus systems. **Annual Review of Phytopathology**, v. 45, p. 489-521, 2007.

GUTTRIDGE, C. G. *Fragaria*. In: EVANS, L. T. **The induction of flowering**. Melbourne: Mac Millan, 1969. p. 247-267.

HORN, N. M.; CARVER, P. Virus diseases of strawberries. **Phytopathology**, v. 52, p. 762-763, 1962.

HULL, R.; MOORE, P. H. **Plant virology**. 6. ed. Academic Press, 2020.

HULL, J.; MOORE, C. History and evolution of strawberries. **Journal of Berry Research**, v. 10, n. 2, p. 89-101, 2020.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção agrícola municipal. Rio de Janeiro: **IBGE**, 2022.

ICTV - **International Committee on Taxonomy of Viruses**. Crinivirus. Disponível em: <https://ictv.global/report/chapter/rhabdoviridae/rhabdoviridae/cytorhabdovirus>. Acesso em: 16 dez. 2024.

ICTV - **International Committee on Taxonomy of Viruses**. Cytorhabdovirus. Disponível em: <https://ictv.global/report/chapter/rhabdoviridae/rhabdoviridae/cytorhabdovirus>. Acesso em: 4 dez. 2024.

ICTV - **International Committee on Taxonomy of Viruses**. Sadwavírus. Disponível em: <https://ictv.global/report/chapter/rhabdoviridae/rhabdoviridae/cytorhabdovirus>. Acesso em: 4 dez. 2024.

JONES, O. **The Strawberry Story: How a Small Fruit Conquered the World**. London: FruitPress, 1995.

JOSHI, N. P. *et al.* **Transmissão viral em cultivos de morango: Afídeos como vetores**. Manaus: Editora Biológica, 2014.

KRCZAL, H. 1979. Transmission of the strawberry mild yellow edge and crinkle virus by the strawberry aphid *Chaetosiphon fragaefolii*. **Acta Horti**, 95, p. 23-30.

KANATIWELA-DE SILVA, Chamini *et al.* Immunological detection of the Weligama coconut leaf wilt disease associated phytoplasma: Development and validation of a polyclonal antibody based indirect ELISA. **PLoS One**, v. 14, n. 4, p. e0214983, 2019.

KUNDU, A. *et al.* Efficient detection and differentiation of Strawberry Pallidosis-Associated Virus and other criniviruses infecting strawberry using RT-PCR. **Plant Pathology Journal**, v. 7, p. 123-130, 2008.

LEE, I.-M.; HAMMOND, R. W.; DAVIS, R. E. **Plant pathogenic mycoplasmas: phytoplasmas and spiroplasmas**. In: BRIDGES, J. (Ed.). *The Prokaryotes*. New York: Springer, 2000. v. 4, p. 405–466.

MARTÍN, R. R. *et al.* Epidemiology and molecular characterization of Strawberry Pallidosis-Associated Virus. **Plant Disease**, v. 90, p. 1340-1346, 2006.

MARTÍN, S. *et al.* Characterization of the Strawberry pallidosis-associated virus. **Journal of General Virology**, v. 87, n. 6, p. 1553-1562, 2006.

- MARTINS, C. M. *et al.* Advances in molecular detection of plant viruses. **Virology Journal**, v. 19, p. 45, 2022.
- MARTINS, E. *et al.* Molecular Approaches to Detect Viruses in Strawberry. **Virology Journal**, v. 19, p. 45-62, 2022.
- MARTINS, R. S. *et al.* Morango: fisiologia e manejo no campo. **Agrociências**, v. 22, n. 2, p. 55-67, 2018.
- MARTIN, Robert R.; TZANETAKIS, Ioannis E. Characterization and recent advances in detection of strawberry viruses. **Plant disease**, v. 90, n. 4, p. 384-396, 2006.
- MARTINS, S., *et al.* Molecular characterization of Strawberry latent ringspot virus. **Journal of General Virology**, v. 87, p. 1553-1562, 2006.
- MARTINS, S., *et al.* Molecular characterization of Strawberry mild yellow edge virus. **Journal of General Virology**, v. 87, p. 1553-1562, 2006.
- MAAS, J. L. Compendium of Strawberry Diseases and Pests. 3rd ed. **APS Press**, 2020.
- MCDANIEL, C. N. Photoperiodic induction, evocation and floral initiation. In: GREYSON, R. I. (Ed.). **The development of flowers**. Oxford: Oxford University Press, 1994. p. 25-43.
- MELLOR, F. C.; KRCZAL, H. Virus diseases in strawberries. **Acta Horticulturae**, v. 15, p. 38-45, 1987.
- MORAL, R. *et al.* **Oídio do morangueiro: Impactos e controle**. São Paulo: Editora Fitopatológica, 2017.
- NEUMANN, M. *et al.* **Controle integrado de doenças em morangos**. Rio de Janeiro: Editora Agronômica, 2015.
- NEVES, W. S. *et al.* **Nematoides na cultura do morangueiro: sintomas, disseminação e principais métodos de controle**. EPAMIG. Circular Técnica, n. 139, 2011.
- NG, J. C. K.; FALK, B. W. Virus-vector interactions mediating nonpersistent and semipersistent transmission of plant viruses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 44, p. 183-212, 2006.
- NICKEL, O.; FAJARDO, T. V. M. **Principais viroses e seu controle**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/938612/1/14136.pdf>.
- NOTOMI, Tsugunori *et al.* Loop-mediated isothermal amplification of DNA. **Nucleic acids research**, v. 28, n. 12, p. e63-e63, 2000.
- OLIVEIRA, A. C. *et al.* Produção e manejo de morangueiro no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, n. 3, p. 1-10, 2019.

OLIVEIRA, J. P.; MARTINS, C. M.; PEREIRA, D. A. **Fitopatologia no cultivo de morangos**. Rio de Janeiro: Editora Fitopatológica, 2006.

OLIVEIRA, L. V. B. de. **Desempenho agrônomo e respostas fisiológicas de cultivares de morangueiro a períodos de vernalização**. 2024. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024. Disponível em: <https://repositorio.uel.br/items/610f7829-1834-451d-8a53-1e5da6239df9>.

OLIVEIRA, R. P. de; SCIVITTARO, W. B.; FERREIRA, L. V. **Vernalização de mudas de morangueiro em câmara fria. Pelotas: Embrapa Clima Temperado**, 2007. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/745910/vernalizacao-de-mudas-de-morangueiro-em-camara-fria>

PEREIRA, L. M. *et al.* **Manejo de doenças fúngicas no morangueiro**. Porto Alegre: Editora Universitária, 2007.

PONTHARANGSEE, N.; CHAIPON, S.; SUWITCHAYANON, P.; KUNASAKDAKUL, K.; KHANTHO, N. Detection of viruses causing leaf spot and crinkle leaf in strawberry cv. Praratchatan 80 growing in Fang District, Chiang Mai Province. **Journal of Agricultural Research and Extension**, v. 39, n. 3, p. 45-56, 2022.

REN, T. *et al.* Development of RT-LAMP for detection of strawberry viruses. **Plant Pathology**, v. 70, p. 1461-1469, 2021.

RODRIGUES, A. G.; SILVA, L. P.; FERREIRA, J. P. A importância dos compostos bioativos no morango. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 15, n. 3, p. 45-58, 2021.

RUSHOLME, R. L. *et al.* Genetic variability and population structure of Strawberry Pallidosis-Associated Virus in diverse strawberry cultivars. **Journal of Virological Methods**, v. 145, p. 73-81, 2007.

RUSHOLME, R. L. *et al.* Variability in the genome of Strawberry pallidosis-associated virus and its impact on disease management. **Plant Pathology**, v. 56, n. 4, p. 512-520, 2007.

SANFAÇON, H. Secoviridae: A family of plant picorna-like viruses with unique genome features. **Virus Research**, v. 141, p. 29-48, 2009.

SANTOS, F. M.; MEDEIROS, P. S. **Manejo de doenças do morangueiro**. São Paulo: Editora Agronômica, 2003.

SANTOS, M. F. *et al.* **Viroses em morangueiro e seu manejo**. Recife: Editora Universitária, 2008.

SANTOS, T. R. *et al.* Advances in Strawberry Cultivation in Brazil. **Journal of Agricultural Science**, v. 12, n. 6, p. 89-105, 2020.

SIBERITZKY, G.; HULO, C.; de CASTRO, E. *et al.* **ViralZone: Resource on Viral Genomes. Expasy**. Disponível em: <https://viralzone.expasy.org>. Acesso em: 28 nov. 2024.

SILVA, J. F.; OLIVEIRA, A. R.; COSTA, M. V. Estudos sobre a epidemiologia do *Cytorhabdovirus fragariae* em morangueiros no Brasil. **Revista Brasileira de Fitopatologia**, v. 42, n. 2, p. 123-130, 2020.

SILVA, P. C. *et al.* Protected Cultivation Systems for Strawberry. **Agronomy Journal**, v. 113, n. 4, p. 1234-1245, 2021.

SMITH, K. M. Studies on the mosaic diseases of the strawberry. **Annals of Applied Biology**, v. 9, n. 1, p. 1-15, 1922.

SANTACRUZ OVIEDO, V. R.; ENCISO-GARAY, C. R.; GARCIA FIGUEREDO, E. I. **Vernalizando pré-transplantes melhoram as características agronômicas de genótipos de morango em condição tropical**. Revista Caatinga, v. 33, n. 3, 2020. Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/caatinga/article/view/9181?>

SOARES, L. E. *et al.* **Controle biológico de fitoplasmas em morangos**. Fortaleza: Editora Fitossanidade, 2015.

SOUZA, R. M. *et al.* **Manejo integrado de nematoides em morangueiros**. São Carlos: Editora Fitossanidade, 2017.

TAYLOR, C. E.; BROWN, D. J. F. **Nematode Vectors of Plant Viruses**. Wallingford: CAB International, 1997. 286 p.

THOMPSON, J. R.; CONVERSE, R. H. Virus diseases of strawberries: an overview. **Plant Disease**, v. 69, p. 1018-1022, 1985.

THOMPSON, J. R.; JELKMANN, W. The detection of plant viruses and subviral agents. **Molecular Plant Pathology**, v. 4, p. 207-223, 2003.

TIAN, T. *et al.* The characterization and distribution of pallidosis disease in strawberry. **Phytopathology**, v. 86, p. 615-622, 1996.

TOMPSON, J. R. *et al.* Genomic organization of the Strawberry Mottle Virus. **Journal of General Virology**, v. 83, p. 2295-2301, 2002.

TZANETAKIS, I. E., WINTERMANTEL, W. M., CORTEZ, A. A., BARNES, J. E., BARRETT, S. M., BOLDA, M. P., & MARTIN, R. R. Epidemiology of strawberry pallidosis-associated virus and occurrence of pallidosis disease in North America. **Plant Disease**, 90(10), 1343-1346, 2006.

UFMS. **Inovação no cultivo de morangos**. 2023. Disponível em: <https://www.ufsm.br/midias/arco/inovacao-no-cultivo-de-morangos>. Acesso em: 27 jan. 2025.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA AGRICULTURE AND NATURAL RESOURCES. **New virus found in strawberries**. Disponível em: <https://ucanr.edu/blogs/blogcore/postdetail.cfm?postnum=10523>. Acesso em: 21 fev. 2025.

UNIVERSITY OF FLORIDA. **Strawberry crinkle virus**. Disponível em: <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/PP273>. Acesso em: 4 dez. 2024.

UNIVERSITY OF KENTUCKY. **Viruses: Strawberry**. 2024. Disponível em: <https://fruitscout.ca.uky.edu/viruses-strawberry>. Acesso em: 30 nov. 2024.

VAŠKOVÁ, D. H.; ŠPAK, J.; PETRZIK, K. Variability in sequence of *Strawberry vein banding virus*. **Biologia Plantarum**, v. 50, n. 4, p. 660-666, 2006.

VERDIAL, M. F. **Frigoconservação e vernalização de mudas de morangueiro (*Fragaria X ananassa* Duch.) produzidas em sistema de vasos suspensos**. 2004. 71 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

VIEIRA, A. L. P. S. **Arquitetura floral do morangueiro em cultura protegida e em substrato na região do Algarve**. 2020. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agronômica) – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2020. Disponível em: https://repositorio.ulisboa.pt/bitstream/10400.5/21508/1/Tese%20Andr%C3%A9%20Vieira_RevistaFinal.pdf. Acesso em: 21 fev, 2025.

WEINTRAUB, P. G.; BEANLAND, L. Insect Vectors of Phytoplasmas. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 91-111, 2006.

WEINTRAUB, PG; JONES, P. Doenças induzidas por fitoplasmas: Impacto econômico e controle. **Phytopathology**, v. 100, n. 3, p. 124–135, 2010.

WHITFIELD, A. E. *et al.* Analysis of virus-vector interactions. **Annual Review of Phytopathology**, v. 53, p. 459-489, 2015.

YOSHIKAWA, N.; CONVERSE, R. H. Morphological and molecular properties of strawberry mottle virus. **Archives of Virology**, v. 118, p. 173-180, 1991.

CAPÍTULO 2 - Detecções e Diversidade Genética de Vírus Quarentenário em Mudanças de Morango (*Fragaria* × *ananassa* Duch.).

RESUMO

O morangueiro (*Fragaria* × *ananassa*) destaca-se como uma cultura de grande importância econômica e social, sendo amplamente cultivada em diferentes regiões do mundo devido à alta demanda por seus frutos, tanto para consumo in natura quanto na indústria alimentícia. Entretanto, sua produção é frequentemente impactada por diversos patógenos, incluindo vírus e fitoplasmas, que reduzem a produtividade e comprometem a qualidade dos frutos. Este estudo investigou a detecção e a diversidade genética de patógenos virais e fitoplasmas em mudas de morangueiro adquiridas de empresas comerciais localizadas no sul de Minas Gerais, e mudas importadas da Espanha comercializadas em âmbito nacional, totalizando 166 amostras. O trabalho teve como foco os vírus strawberry mottle virus (SMoV), strawberry vein banding virus (SVBV), strawberry crinkle virus (SCV), strawberry mild yellow edge virus (SMYEV), strawberry pale fruit virus (SPaV), strawberry latent virus ringspot (SLRSV) e fitoplasma. A detecção foi realizada por RT-PCR e PCR convencional com primers específicos para cada patógeno. Os resultados indicaram infecção em 24,09% das amostras por SMYEV, 44,57% por SVBV, 27,1% por SMoV e 30,72% por SLRSV, enquanto SPaV, SCV e fitoplasmas não foram detectados. A análise filogenética das sequências obtidas revelou que os isolados de SLRSV apresentaram agrupamento consistente, independentemente da origem geográfica, com 100% de identidade de nucleotídeos e aminoácidos entre os isolados obtidos neste estudo e do *GenBank*. Além da análise molecular, o estudo discute aspectos relacionados à origem, transmissão, distribuição, sintomas, manejo e impacto dos patógenos na cultura do morangueiro. Os resultados ressaltam a importância de estratégias de diagnóstico precoce para o monitoramento e controle desses patógenos, promovendo a sanidade da cultura e contribuindo para a sustentabilidade da produção de morangos.

Palavras-chave: SMYEV; SVBV; SMoV; SLRSV.

ABSTRACT

The strawberry plant (*Fragaria* × *ananassa*) stands out as a crop of great economic and social importance, being widely cultivated in various regions of the world due to the high demand for its fruits, both for fresh consumption and the food industry. However, its production is often affected by several pathogens, including viruses and phytoplasmas, which reduce yield and compromise fruit quality. This study investigated the detection and genetic diversity of viral pathogens and phytoplasmas in strawberry seedlings acquired from commercial companies located in southern Minas Gerais, as well as imported seedlings from Spain sold nationally, totaling 166 samples. The focus was on the viruses strawberry mottle virus (SMoV), strawberry vein banding virus (SVBV), strawberry crinkle virus (SCV), strawberry mild yellow edge virus (SMYEV), strawberry pale fruit virus (SPaV), strawberry latent ringspot virus (SLRSV), and phytoplasmas. Detection was performed by RT-PCR and conventional PCR using specific primers for each pathogen. The results indicated infection in 24.09% of samples by SMYEV, 44.57% by SVBV, 27.1% by SMoV, and 30.72% by SLRSV, while SPaV, SCV, and phytoplasmas were not detected. Phylogenetic analysis of the obtained sequences revealed that SLRSV isolates formed a consistent cluster regardless of geographic origin, with 100% nucleotide and amino acid identity between the isolates obtained in this study and those from GenBank. In addition to molecular analysis, the study discusses aspects related to the origin, transmission, distribution, symptoms, management, and impact of the pathogens on strawberry cultivation. The results highlight the importance of early diagnostic strategies for monitoring and controlling these pathogens, promoting crop health and contributing to the sustainability of strawberry production.

Keywords: SMYEV; SVBV; SMoV; SLRSV.

1 INTRODUÇÃO

O morangueiro (*Fragaria* × *ananassa*) é uma das culturas de maior relevância no segmento de frutas de clima temperado, sendo amplamente cultivado em diversas regiões do mundo. Originário das regiões temperadas do hemisfério norte, o morangueiro é resultado do cruzamento entre *Fragaria chiloensis* e *Fragaria virginiana*, e sua domesticação possibilitou a expansão da cultura para condições climáticas distintas (FAOSTAT, 2021; Hussain *et al.*, 2022). Essa frutífera possui grande expressão econômica devido à alta demanda de mercado e à versatilidade de seus frutos, utilizados tanto para consumo in natura quanto na indústria alimentícia. O Brasil, por exemplo, destaca-se como um dos países em crescimento no cultivo de morango, abastecendo o mercado interno e explorando potenciais para exportação (IBGE, 2020).

A cultura do morangueiro desempenha um papel crucial na economia agrícola, sendo uma importante fonte de geração de renda e empregos em regiões produtoras. No entanto, enfrenta desafios fitossanitários significativos, que comprometem sua produtividade e qualidade. A suscetibilidade da planta a uma ampla gama de patógenos, incluindo vírus, fungos, bactérias e fitoplasmas, exige o desenvolvimento de estratégias de manejo eficazes para garantir a sustentabilidade da produção (Martins *et al.*, 2019).

Dentre os agentes virais que afetam o morangueiro, destacam-se o strawberry crinkle virus (SCV), strawberry mottle virus (SMoV), strawberry mild yellow edge virus (SMYEV), strawberry vein banding virus (SVBV) e strawberry pallidosis-associated virus (SPaV), além do fitoplasma associado a sintomas de declínio da cultura. Entretanto, um patógeno em particular merece atenção especial: o strawberry latent ringspot virus (SLRSV).

O SLRSV é classificado como um vírus quarentenário ausente no Brasil, conforme a Instrução Normativa SDA/MAPA nº 85, o que significa que sua introdução e disseminação podem representar uma ameaça severa à produção nacional de morango. A detecção desse vírus em mudas importadas ou cultivadas no país pode ter implicações diretas na fitossanidade da cultura, elevando o risco de perdas econômicas expressivas. Além disso, sua presença pode comprometer o comércio internacional de mudas e frutos, impactando diretamente a cadeia produtiva (Silva, 2013; Brasil, 2021).

Os vírus que afetam o morangueiro possuem origens diversas e modos de transmissão característicos. Por exemplo, o SCV e o SMoV são transmitidos por afídeos de forma semipersistente, enquanto o SVBV pode ser transmitido por afídeos de forma persistente. O SLRSV, por sua vez, é transmitido por nematoides de solo do gênero *Xiphinema* (Jones, 2003). A disseminação também pode ocorrer por mudas infectadas,

ferramentas de cultivo contaminadas e práticas inadequadas de manejo fitossanitário, agravando o impacto dos patógenos sobre a cultura. Esses patógenos provocam uma ampla variedade de sintomas, como mosaicos, encrespamento foliar, manchas cloróticas, diminuição do vigor vegetativo e redução da produção de frutos. A distribuição desses vírus é global, com diferenças regionais influenciadas por fatores climáticos, presença de vetores e práticas de manejo agrícola (Tamura *et al.*, 2021).

A detecção e o manejo de vírus em mudas de morangueiro representam desafios importantes na cultura do morango e para os produtores. O diagnóstico molecular, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), e a transcrição reversa (RT) são ferramentas fundamentais para a identificação rápida e precisa desses patógenos. Tais abordagens são essenciais para a identificação precoce e o desenvolvimento de estratégias de manejo integrado, como o uso de mudas certificadas e a adoção de práticas que minimizem a disseminação por vetores.

Considerando a relevância do monitoramento fitossanitário, este estudo tem como objetivo avaliar a sanidade de mudas, com ênfase em doenças causadas por vírus e fitoplasmas. Além disso, investiga a diversidade genética dos isolados detectados de um vírus quarentenário no Brasil, o SLRSV e a identificação de patógenos, fornecendo subsídios para o desenvolvimento de estratégias de manejo e prevenção da disseminação desses agentes.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Condução experimental

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Virologia Molecular, do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras.

2.2 Amostras

Foram analisadas mudas da cultivar ‘San Andreas’ nacionais produzidas na região sul de Minas Gerais e mudas da mesma cultivar importadas da Espanha, comercializadas em São Paulo, no ano de 2022. As folhas das mudas de morango foram coletadas e armazenadas em ultra freezer vertical a -80°C.

Um total de 166 amostras foram analisadas, sendo 63 provenientes de mudas importadas e 103 de mudas nacionais. Para cada amostra, realizou-se a extração dos ácidos nucleicos para avaliar a sanidade das mudas, o RNA total com o objetivo de detectar a possível presença de doenças causadas por vírus, incluindo: strawberry pallidosis associated virus (SPaV), strawberry crinkle virus (SCV), strawberry vein banding virus (SVBV), strawberry mottle virus (SMoV), strawberry mild yellow edge virus (SMYEV) e strawberry

latent ringspot virus (SLRSV). Além disso, foi realizada extração de DNA para detecção de fitoplasmas. A presença ou ausência desses patógenos foi registrada em cada amostra analisada.

2.3 Extração do RNA e DNA

O RNA total e o DNA total foram extraídos do tecido foliar de mudas de morango, utilizando o método adaptado de Hazman *et al.* (2020).

Para isso, 0,06 g de tecido foliar foram macerados em um almofariz na presença nitrogênio líquido até a obtenção de um pó homogêneo. Em seguida, foram adicionados 2 mL de tampão de extração, contendo 100 mM de Tris-HCl (pH 8), 1,4% de NaCl, 0,5% (v/v) de Triton X-100, 3% (p/v) de CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio), 2% (p/v) de polivinilpirrolidona (PVP) e 5% (v/v) de 2-mercaptoetanol (β -ME). O extrato foi dividido em dois microtubos de 1,5 mL, sendo um deles destinado a extração de DNA e outro destinado à extração do RNA.

Na etapa de extração do RNA total, os microtubos foram incubados a 65 °C em banho-maria por 10 minutos, com agitação a cada 2 minutos. Posteriormente, foram centrifugados a 12.000 rpm por 5 minutos. Um volume de 700 μ L do sobrenadante foi transferido para novos tubos, seguido da adição de um volume equivalente de uma solução de clorofórmio e álcool isoamílico (24:1). Após agitação no vórtex por 10 segundos, os tubos foram deixados em repouso à temperatura ambiente por 5 minutos. Após a centrifugação, a 12.000 rpm por 15 minutos, foram transferidos 400 μ L do sobrenadante para um novo tubo. Nesse tubo, adicionou-se 800 μ L de Trizol, os tubos foram agitados por 30 segundos e deixados em repouso à temperatura ambiente por 5 minutos.

Em seguida, adicionaram-se 200 μ L de clorofórmio, com nova agitação em vórtex por 10 segundos e repouso por 5 minutos à temperatura ambiente. A amostra foi centrifugada novamente a 12.000 rpm por 15 minutos. Após essa etapa, 750 μ L do sobrenadante foram transferidos para novos tubos, aos quais foram adicionados 250 μ L de isopropanol e 250 μ L de solução salina (1,2 M NaCl e 0,8 M $C_6H_5Na_3O_7$). Após homogeneização por pipetagem, os tubos foram incubados por 15 minutos à temperatura ambiente e, em seguida, por mais 15 minutos em um freezer vertical (-20 °C). Nova centrifugação a 12.000 rpm por 15 minutos gerou um pellet visível. Após o descarte do sobrenadante, o pellet foi lavado com 1 mL de etanol 75% e centrifugado a 12.000 rpm por 5 minutos. Em seguida, 500 μ L de etanol absoluto foram adicionados, e a centrifugação foi repetida. O pellet foi seco à temperatura ambiente sob condições assépticas e, posteriormente, ressuscitado em 30 μ L de água ultrapura tratada com DEPC.

A qualidade do RNA extraído foi avaliada por eletroforese em gel de agarose a 0,8%, corado com Gel Red (Biotium), e sua concentração foi determinada por espectrofotometria no NanoDrop (ThermoFisher, EUA).

Para a extração do DNA, os microtubos contendo o material e o tampão de extração, descritos anteriormente, foram incubados em banho-maria por 30 minutos. Durante esse período, os tubos foram agitados por inversão a cada 10 minutos. Após a incubação, um volume equivalente do extrato foi transferido para a solução 24:1 de clorofórmio e álcool isoamílico, seguido de homogeneização no vórtex. Em seguida, os microtubos foram colocados em centrifugação à 12.000 rpm por 10 minutos a 4 °C. O sobrenadante obtido foi cuidadosamente transferido para novos microtubos.

A precipitação do DNA foi realizada pela adição de 0,6 vezes o volume de isopropanol, previamente resfriado a -20 °C. A mistura foi homogeneizada delicadamente por inversão e mantida a -80 °C por 30 minutos. Após esse período, uma nova centrifugação a 12.000 rpm por 10 minutos a 4 °C foi realizada. O sobrenadante foi descartado, e o pellet resultante foi lavado com 500 µL de álcool 70%, seguido de centrifugação a 12.000 rpm por 1 minuto. O sobrenadante foi novamente descartado, e o pellet foi seco à temperatura ambiente. O pellet foi ressuspensionado em 30 µL de água ultrapura tratada com pirocarbonato de dietila (DEPC), garantindo a integridade do DNA extraído.

A qualidade do DNA extraído foi avaliada por eletroforese em gel de agarose a 0,8%, corado com Gel Red (Biotium), e sua concentração foi determinada por espectrofotometria no NanoDrop (ThermoFisher, EUA).

2.4 RT-PCR e primers

Para a síntese do cDNA por transcriptase reversa inicialmente empregaram-se 1 µL do RNA total previamente extraído da planta, 1 µL de random primers a 10 mM, 1 µL de dNTP's (10 mM) e 7 µL de água ultrapura tratada com DEPC. Essa mistura foi incubada por 10 minutos a 70 °C e transferida imediatamente para um recipiente com gelo moído. Numa etapa posterior foram adicionados 2 µL de 10 x tampão da enzima, 7 µL de água ultrapura e 1 µL da enzima Sigma-Aldrich transcriptase reversa, seguido por incubação por 50 minutos a 37°C e 10 min a 85°C.

Para a reação de PCR das viroses foi realizada utilizando 1 µL do cDNA, 2,5 µL do tampão 10x da Taq DNA polimerase Cellco, 1 µL do primer forward e 1 µL do primer reverse (Tabela 1), ambos na concentração de 10 mM, 1 µL de dNTP's a 2 mM, 0,25 µL da enzima Taq DNA polimerase Cellco e água ultrapura tratada com DEPC para um total de 25 µL. Para a amplificação foi utilizando aquecimento inicial de 94 °C por 1 minuto seguido de 35 ciclos:

94 °C por 30 segundos, e temperatura de anelamento (Tabela 1) por 30 segundos e 72°C por 1 minuto, com uma extensão final a 72°C por 10 minutos.

Tabela 1 – Primers utilizados para diagnose dos vírus: SPaV, SCV, SVBV, SMoV, SMYEV e SLRSV.

Primers	Sequência de nucleotídeos (3' – 5')	AM (pb)	TM (°C)	Referência
SPaV 752F SPaV 752R	AGCTAGAACAAGGCAAGTC GCCAATTGAACTGACATTGAAG	752	50°C	TZANETAKIS, Ioannis E. <i>et al.</i> , 2004.
SCV 345F SCV 345R	CATTGGTGGCAGACCCATCA TTCAGGACCTATTTGATGACA	345	58°C	THOMPSON, J. R <i>et al.</i> , 2003.
SCV 844F SCV 1438R	CCAGATGACCATAAGATCATAGG CCATTATGCGGTATGTACAATC	595	55°C	Do autor, 2024.
SVBV 422F SVBV 422R	AGTAAGACTGTTGGTAATGCCA TTTCTCCATGTAGGCTTTGA	422	52°C	THOMPSON, J. R <i>et al.</i> , 2003.
SMoV 219F SMoV 219R	TAAGCGACCACGACGACTGTGACAAAG TCTTGGGCTTGGATCGTCACCTG	219	50°C	THOMPSON, J. R <i>et al.</i> , 2003.
SMoV 1108F SMoV 2386R	GCGGACGCTGTTGCCACTT TCCGCCGCTCCCACTGATT	1298	59°C	CIEŚLIŃSKA, Mirosława, 2019.
SMYEV 217F SMYEV 217R	GTGTGCTCAATCCAGCCAG CATGGCACTCATTGGAGCTGGG	217	50°C	HE, L. I. <i>et al.</i> , 2007.
SMYEV F SMYEV R	TTACCGCTGCAGTTGTAGGGT TAGAAGAAGTGAGARGAAACYCCC	500	58,5°C	XIANG, Yu <i>et al.</i> , 2020.
SLRSV 1772F SLRSV 2372R	GGTTYATGCCWGGTAG CCACTRCCMCCCAT	601	49°C	DUARTE <i>et al.</i> , 2016.

AM: tamanho do fragmento amplificado; pb: pares de bases; TM: temperatura de anelamento.

Fonte: Do autor (2025)

2.5 PCR e primers

Para determinar a presença ou ausência de fitoplasmas foi realizada a PCR utilizando 1 µL do DNA total extraído, 2,5 µL do tampão 10x da Taq polimerase High Fidelity Hot Start, 1 µL do primer forward e 1 µL do primer reverse (Tabela 2), ambos na concentração de 10 pM, 1 µL de dNTP's a 2 mM, 0,25 µL da enzima Taq polimerase High Fidelity Hot Start e água ultrapura tratada com DEPC para um total de 25 µL. Na amplificação foi utilizando aquecimento inicial de 94 °C por 30 segundos seguido de 35 ciclos: 94°C por 15 segundos, e 50°C temperatura de anelamento (Tabela 2) por 15 segundos e 72°C por 15 segundos, com uma extensão final a 72°C por 5 minutos.

Tabela 2 – Primers utilizados para diagnose de fitoplasma.

Primers	Sequência de nucleotídeos (3' – 5')	AM (kb)	TM (°C)	Referência
R16R2	GAAACGACTGCTAAGACTGG	1200	50°C	Gundersen e Lee, 1996.
R16F2N	TGACGGGCGGTGTGTACAAACCCCG			

AM: tamanho do fragmento amplificado; kb: kilobases; TM: temperatura de anelamento.

Fonte: Do autor (2025)

2.6 Sequenciamento e análise filogenética do SLRSV

Dentre os isolados analisados neste trabalho, foram selecionados 8 isolados, sendo 4 dele de origem nacional e 4 de origem internacional, ou seja, importados da Espanha. Os fragmentos amplificados por PCR foram purificados utilizando o kit de purificação de produtos da PCR ("*Products Purification Kit*", Mebep Bioscience) e enviados para sequenciamento pelo método de Sanger, realizado na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

Para as análises das sequências, foi utilizado o National Center for Biotechnology Information (NCBI, Bethesda, MD, EUA). O alinhamento das sequências de nucleotídeos (nt) e aminoácidos (aa) foi realizado empregando o algoritmo Clustal W disponível no servidor online (www.genome.jp/tools-bin/clustalw).

As relações filogenéticas foram investigadas com base nas sequências de nucleotídeos e aminoácidos, utilizando o algoritmo *neighbor-joining*. Para garantir a confiabilidade das análises, aplicou-se o método de bootstrap com 2.000 repetições. As análises filogenéticas foram conduzidas no software MEGA11 (Tamura, Stecher e Kumar, 2021), utilizando isolados do *GenBank* como referência (Tabela 3).

Tabela 3 - Isolados disponíveis no *GenBank* empregados para comparação com os isolados.

Acesso <i>GenBank</i>	Espécie	Origem geográfica	Referência
AY860979.1_oficial	SLRSV	Estados Unidos	TZANETAKIS, I. E. <i>et al.</i> , 2005
KT923163.1	SLRSV	Suíça	DUARTE <i>et al.</i> , 2016
HM591198.1	SLRSV	Nova Zelândia	TANG, Joe; CLOVER, Gerard RG., 2013
HM591196.1	SLRSV	Nova Zelândia	TANG, Joe; CLOVER, Gerard RG., 2013
MF796974.1	SLRSV	Holanda	DULLEMANS, A. M. <i>et al.</i> , 2020
MF796988.1	SLRSV	Holanda	DULLEMANS, A. M. <i>et al.</i> , 2020
MF797000.1	SLRSV	Holanda	DULLEMANS, A. M. <i>et al.</i> , 2020
MF796994.1	SLRSV	Noruega	DULLEMANS, A. M. <i>et al.</i> , 2020
MG062674.1	SLRSV	Holanda	DULLEMANS, A. M. <i>et al.</i> , 2020
MN082041.1	SLRSV	Nova Zelândia	<i>Unpublished</i>
MW854292.1	SLRSV	Nova Zelândia	<i>Unpublished</i>
X75165.1	SLRSV	Nova Zelândia	EVERETT, K. R., <i>et al.</i> , 1994

Acesso <i>GenBank</i>	Espécie	Origem geográfica	Referência
OR513895.1	SLRSV	França	MARAIS, Armelle <i>et al.</i> , 2024.
OR228509.1	CnVYV	Coreia do Sul	<i>Unpublished</i>
OR996054.1	CnVYV	Coreia do Sul	<i>Unpublished</i>
OM311160.1	SLRSV	China	<i>Unpublished</i>
LC760338.1	CnVYV	Japão	<i>Unpublished</i>

SLRSV: strawberry latent ringspot virus; CnVYV: cnidium vein yellowing virus.

Fonte: Do autor (2025)

3 RESULTADOS

3.1 Ocorrência de viroses e de fitoplasma

A análise das amostras coletadas revelou a incidência de viroses entre as mudas adquiridas importadas da Espanha, e nas mudas produzidas em território nacional, especificamente da região do sul de Minas Gerais. Os resultados obtidos neste estudo estão descritos na Tabela 4.

Para as infecções simples, caracterizadas neste estudo com a detecção de uma única espécie de vírus, as amostras provenientes do âmbito nacional, o strawberry vein banding virus (SVBV) apresentou a maior taxa de infecção, sendo identificado em 14 amostras (14,6%) (Tabela 4). O strawberry mottle virus (SMoV) foi encontrado em 5 amostras, correspondendo a 4,9%, enquanto o strawberry latent ringspot virus (SLRSV) esteve presente em 7 amostras, com uma incidência de 6,8%. O strawberry mild yellow edge virus (SMYEV) foi detectado em 2 amostras, representando uma incidência de 1,9%. Não houve detecção dos strawberry crinkle virus (SCV), strawberry pallidosis-associated virus (SPaV) ou de fitoplasmas, indicando a ausência desses patógenos nas amostras analisadas.

Nas amostras provenientes da Espanha e comercializadas no Brasil, a incidência de SMYEV foi de 1,6%, com 1 amostra positiva (Tabela 4). Os vírus SVBV e SLRSV foram ambos detectados em 3 amostras, apresentando uma incidência de 4,8%. O SMoV esteve presente em 5 amostras (7,9%). Assim como nas amostras nacionais, não houve detecção de SCV, SPaV ou fitoplasmas, sugerindo a ausência desses agentes etiológicos nas condições analisadas.

Em relação às múltiplas infecções, caracterizado neste estudo como a detecção de mais de uma espécie de vírus na amostra, foram detectadas coinfeções em 25 amostras provenientes da importação. Dentre elas, as seguintes combinações: SMYEV+SMoV, SMYEV+SLRSV, SMYEV+SVBV+SMoV+SLRSV e SMoV+SLRSV, foram observadas com um único registro, cerca de 1,6% de incidência. Coinfeções por SVBV + SMoV, com

4,8%, e SMYEV + SVBV + SMoV foram observadas em 3,2% das amostras, enquanto 6,3% apresentaram a associação entre SVBV + SMoV + SLRSV. A coinfeção SVBV + SLRSV foi detectada em 7,9% das amostras, e a combinação SMYEV + SVBV + SLRSV foi a mais frequente, representando 11,1% dos casos (Tabela 4).

Trinta e quatro por cento das amostras nacionais apresentaram coinfeção. Dentre elas, 1,9% apresentaram as combinações SVBV + SMoV + SLRSV, SMYEV + SLRSV e SMYEV + SMoV + SLRSV, cada uma. Coinfecções por SMYEV + SVBV + SLRSV foram detectadas em 10% das amostras, enquanto 4,9% apresentaram SMYEV + SVBV + SMoV, SMYEV+SVBV e SVBV+SLRSV. A coinfeção SMYEV + SVBV + SMoV + SLRSV foi identificada em 5,8% das amostras, já SMYEV + SMoV, com 0,9% e SVBV + SMoV foi a mais frequente, ocorrendo em 6,8% dos casos (Tabela 4).

Tabela 4 - Incidência das espécies virais e fitoplasma analisadas neste trabalho para as duas regiões estudadas.

INFECÇÕES SIMPLES				
Espécie	Nacional		Internacional	
	Positivas	%	Positivas	%
SMYEV	2	1,9	1	1,6
SVBV	15	14,6	3	4,8
SMoV	5	4,9	5	7,9
SLRSV	7	6,8	3	4,8
SPaV	0	0	0	0
SCV	0	0	0	0
Fitoplasma	0	0	0	0
INFECÇÕES MIXTAS				
Combinações entre espécies	Nacional		Internacional	
	Positivas	%	Positivas	%
SMYEV + SVBV	5	4,9	0	0
SMYEV + SMoV	1	0,9	1	1,6
SMYEV + SLRSV	2	1,9	1	1,6
SMoV + SLRSV	0	0	1	1,6
SVBV + SMoV	7	6,8	3	4,8
SVBV + SLRSV	5	4,9	5	7,9
SMYEV + SVBV + SMoV	5	4,9	2	3,2
SMYEV + SMoV + SLRSV	2	1,9	0	0
SMYEV + SVBV + SLRSV	5	4,9	7	11,1
SVBV + SMoV + SLRSV	2	1,9	4	6,3
SMYEV + SVBV + SMoV + SLRSV	6	5,8	1	1,6
Total negativas	34	33	26	41,2
TOTAL	103		63	

Fonte: Do autor (2025).

3.2 Análise filogenética do SLRSV

As análises de identidade das sequências, realizadas tanto para nucleotídeos quanto para aminoácidos, evidenciaram a similaridade entre os isolados obtidos neste estudo e as

sequências de referência disponíveis no *GenBank*.

As análises de identidade de nucleotídeos corroboraram para uma ausência de diversidade dos isolados brasileiros e internacionais, com uma identidade de 100% (Tabela 5). Contudo, ao compará-los com os isolados de referência do *GenBank*, as identidades apresentaram variação entre 60% a 98%, evidenciando maior diversidade genética em relação aos isolados oriundos de outras regiões geográficas. Por exemplo, isolados da Nova Zelândia (MN082041, MW854292 e X75165), Noruega (MF796994), Holanda (MF796974, MF796988 e MF797000) apresentaram identidades superiores a 80% com os isolados brasileiros e internacionais, enquanto os isolados da Holanda (MG062674), França (OR513895) e China (OM311160) apresentaram valores inferiores a 68% de identidade.

Os resultados das análises de identidade de aminoácidos apresentaram uma identidade de 100% entre os isolados nacionais e os internacionais, indicando uma relação genética muito próxima e sugerindo homogeneidade entre os isolados (Tabela 6). Por outro lado, ao comparar os isolados brasileiros e internacionais com os isolados do *GenBank*, os resultados foram semelhantes aos de nucleotídeos. A identidade de aminoácidos variou entre 95% a 100% com os isolados da Nova Zelândia (MN082041, MW854292 e X75165), Noruega (MF796994), Holanda (MF796974, MF796988 e MF797000). E os isolados: Holanda (MG062674), França (OR513895) e China (OM311160) apresentaram uma identidade entre 69% a 71%.

Esses resultados destacam a homogeneidade genética dos isolados brasileiros, ao mesmo tempo em que revelam diferenças importantes quando comparados com isolados de áreas geograficamente distantes, o que pode refletir adaptações locais ou barreiras genéticas associadas à dispersão do vírus.

Tabela 5. Porcentagem (%) de identidade entre as sequências de nucleotídeos da região RNA2 dos isolados do Brasil com *GenBank*.

Nº	Isolado	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1	1_Internacional	-	100	100	100	100	100	100	100	79	100	90	90	89	88	80	80	68	88	85	85	66	68	68	66	68
2	2_Internacional		-	100	100	100	100	100	100	79	100	90	90	89	88	80	80	68	88	85	85	66	68	68	66	68
3	3_Internacional			-	100	100	100	100	100	79	100	90	90	89	88	80	80	68	88	85	85	66	68	68	66	68
4	4_Internacional				-	100	100	100	100	79	100	90	90	89	88	80	80	68	88	85	85	66	68	68	66	68
5	1_Nacional					-	100	100	100	79	100	90	90	89	88	80	80	68	88	85	85	66	68	68	66	68
6	2_Nacional						-	100	100	79	100	90	90	89	88	80	80	68	88	85	85	66	68	68	66	68
7	3_Nacional							-	100	79	100	90	90	89	88	80	80	68	88	85	85	66	68	68	66	68
8	4_Nacional								-	79	100	90	90	89	88	80	80	68	88	85	85	66	68	68	66	68
9	AY860979_EUA									-	79	79	79	79	79	87	87	66	79	81	81	67	66	66	66	66
10	KT923163_Suica										-	90	90	89	88	80	80	68	88	85	85	66	68	68	66	68
11	HM591198_NZ											-	100	89	92	78	80	68	90	86	86	66	68	68	65	68
12	HM591196_NZ												-	89	92	78	80	68	90	86	86	66	68	68	65	68
13	MF796974_Holanda													-	90	81	80	66	91	83	83	65	65	65	64	65
14	MF796988_Holanda														-	80	78	66	95	83	83	66	66	66	64	66
15	MF797000_Holanda															-	86	66	80	80	80	67	66	66	68	67
16	MF796994_Noruega																-	66	78	80	80	66	66	66	67	67
17	MG062674_Holanda																	-	65	67	66	68	73	73	78	72
18	MN082041_NZ																		-	84	84	66	66	66	63	67
19	MW854292_NZ																			-	98	66	67	67	64	67
20	X75165_NZ																				-	66	67	67	64	38
21	OR513895_Franca																					-	67	67	66	65
22	OR228509_Coreia																						-	100	74	98
23	OR996054_Coreia																							-	74	98
24	OM311160_China																								-	73
25	LC760338_Japao																									-

Fonte: Do autor (2025)

Tabela 6. Porcentagem (%) de identidade entre as sequências de aminoácidos da região RNA2 dos isolados do Brasil com *GenBank*.

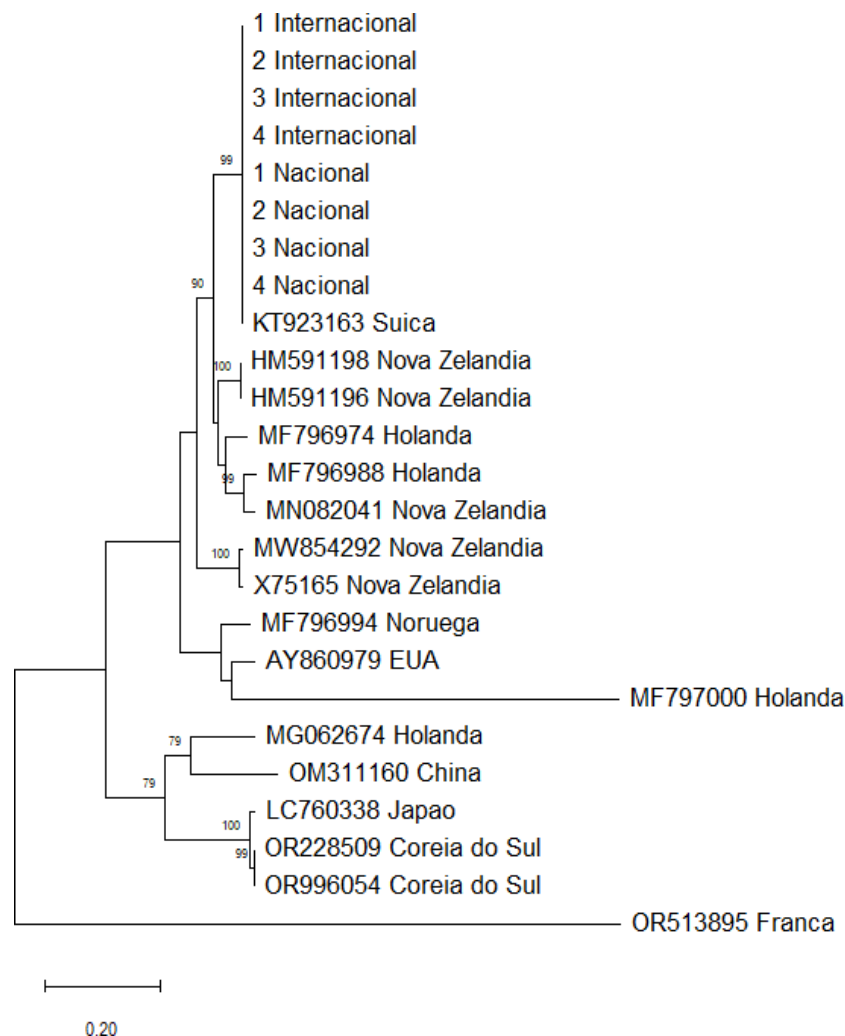
Nº	Isolado	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1	1_Internacional	-	100	100	100	100	100	100	100	95	100	98	98	98	98	96	95	69	98	98	98	71	69	69	70	69
2	2_Internacional		-	100	100	100	100	100	100	95	100	98	98	98	98	96	95	69	98	98	98	71	69	69	70	69
3	3_Internacional			-	100	100	100	100	100	95	100	98	98	98	98	96	95	69	98	98	98	71	69	69	70	69
4	4_Internacional				-	100	100	100	100	95	100	98	98	98	98	96	95	69	98	98	98	71	69	69	70	69
5	1_Nacional					-	100	100	100	95	100	98	98	98	98	96	95	69	98	98	98	71	69	69	70	69
6	2_Nacional						-	100	100	95	100	98	98	98	98	96	95	69	98	98	98	71	69	69	70	69
7	3_Nacional							-	100	95	100	98	98	98	98	96	95	69	98	98	98	71	69	69	70	69
8	4_Nacional								-	95	100	98	98	98	98	96	95	69	98	98	98	71	69	69	70	69
9	AY860979_EUA									-	95	95	95	95	95	97	97	70	95	95	96	71	68	68	71	69
10	KT923163_Suica										-	98	98	98	98	96	95	69	98	98	98	71	69	69	70	69
11	HM591198_NZ											-	100	100	100	97	96	69	99	99	99	70	69	69	70	68
12	HM591196_NZ												-	100	100	97	96	69	99	99	99	70	69	69	70	68
13	MF796974_Holanda													-	100	97	96	69	99	99	99	70	69	69	70	68
14	MF796988_Holanda														-	97	96	69	99	99	99	70	69	69	70	68
15	MF797000_Holanda															-	97	69	97	96	97	70	69	69	71	70
16	MF796994_Noruega																-	69	95	95	96	70	68	68	70	68
17	MG062674_Holanda																	-	70	69	70	72	86	86	94	86
18	MN082041_NZ																		-	98	98	71	69	69	71	69
19	MW854292_NZ																			-	98	70	69	69	70	68
20	X75165_NZ																				-	70	68	68	71	69
21	OR513895_Franca																					-	72	72	71	71
22	OR228509_Coreia																						-	100	87	97
23	OR996054_Coreia																							-	87	97
24	OM311160_China																								-	86
25	LC760338_Japao																									-

Fonte: Do autor (2025).

As árvores filogenéticas para nucleotídeos e aminoácidos dos isolados obtidos neste estudo e do isolados do *GenBank* do strawberry latent ringspot virus (SLRSV) foi realizada utilizando o algoritmo *neighbor-joining*, com suporte estatístico obtido por meio do método de bootstrap com 2.000 repetições.

Os isolados brasileiros e internacionais apresentaram maior proximidade entre si e com o isolado da Suíça (KT923163), agrupando-se em clado. E com os isolados da Holanda (MF796974 e MF796988) e Nova Zelândia (HM591198, HM591196 e MN082041), reforçando a hipótese de que a introdução do vírus no Brasil pode ter ocorrido a partir de material vegetal importado dessas regiões (Figura 3).

Figura 3 - Árvore filogenética construída com base na sequência dos nucleotídeos do RNA2 do SLRSV.

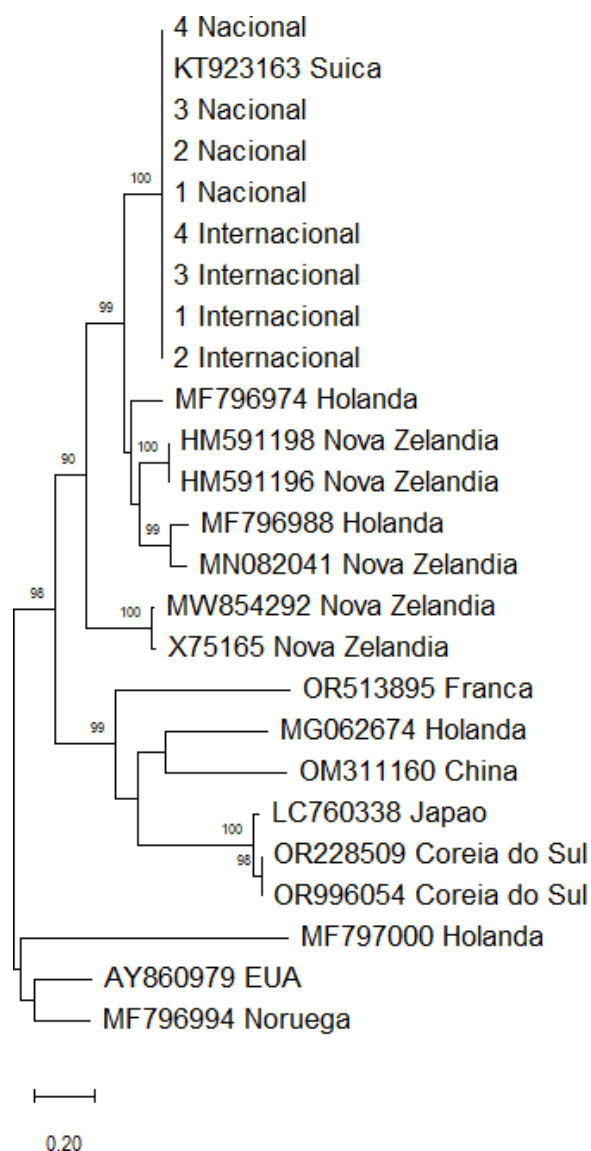


Legenda: Foi utilizado o programa MEGA11 (Tamura, Stecher e Kumar, 2021) e *neighbor-joining* com bootstrap de 2000 repetições. Apenas os valores de bootstrap maior do que 70% são mostrados.

Fonte: Do autor (2025).

Na análise com os aminoácidos, os isolados brasileiros e internacionais também formaram um clado com os isolados da Suíça (KT923163), Nova Zelândia (HM591198, HM591196 e MN082041) e Holanda (MF796974 e MF796988), reforçando a hipótese de uma origem genética comum, indicando possíveis rotas de disseminação global do vírus (Figura 4). Repetindo o mesmo padrão observado para os nucleotídeos.

Figura 4 - Árvore filogenética construída com base na sequência dos aminoácidos do RNA2 do SLRSV.



Legenda: Foi utilizado o programa MEGA11 (Tamura, Stecher e Kumar, 2021) e *neighbor-joining* com bootstrap de 2000 repetições. Apenas os valores de bootstrap maior do que 70% são mostrados.

Fonte: Do autor (2025).

4 DISCUSSÃO

A detecção de SLRSV em mudas de morango no Brasil provoca preocupações e levanta questões sobre a introdução e disseminação do vírus no território nacional. Estudos anteriores indicam que a propagação de vírus quarentenários em culturas perenes ocorre frequentemente por meio do uso de mudas contaminadas (Martin *et al.*, 2012; Thompson *et al.*, 2018).

A análise das amostras revelou uma elevada ocorrência de coinfeções virais, indicando que diversos vírus podem estar circulando simultaneamente nas mudas comercializadas, tanto de origem nacional (SVBV+SMoV com 6,8% de incidência) como internacional (SMYEV+SVBV+SLRSV com 11,1% de incidência). As diferenças na distribuição dessas coinfeções entre as localidades sugerem que fatores como a presença de vetores, práticas agrícolas e condições ambientais influenciam a disseminação e permanência desses patógenos na cultura do morango. Estudos como o de Mozafari *et al.* (2022) já documentaram infecções mistas em morangueiros, ressaltando a necessidade de estratégias integradas de manejo que abordem múltiplos patógenos simultaneamente.

Os resultados também apontaram uma incidência maior de SLRSV em mudas nacionais (6,8%) em comparação com as mudas importadas (4,8%). Os resultados obtidos indicam uma maior incidência dos vírus analisados nas amostras de origem nacional, possivelmente devido a fatores ambientais, práticas culturais ou à origem do material propagativo. Estes achados ressaltam a importância do monitoramento fitossanitário contínuo e da adoção de medidas preventivas para mitigar a disseminação das viroses na cultura do morango.

A alta frequência de SVBV e SMoV nas coinfeções pode estar associada à sua transmissão por pulgões (*Chaetosiphon* spp.), visto que ambos são transmitidos pela mesma espécie de vetor (Martin e Tzanetakis, 2006). A disseminação desses vírus pode ocorrer de maneira sinérgica, com infecções conjuntas sendo favorecidas pelo mesmo vetor biológico. Por outro lado, a presença frequente de SLRSV em coinfeções com SVBV e SMoV levanta questões sobre sua disseminação, já que esse vírus quarentenário é transmitido por nematoides (*Xiphinema* spp.) e não por insetos (Mollov *et al.*, 2014). Essa coexistência sugere que outros mecanismos, como a transmissão mecânica ou o transporte de mudas contaminadas, devem estar envolvidos na transmissão e introdução do vírus. A ausência de infecções causadas por SCV, SPaV e fitoplasma pode estar relacionada à especificidade dos vetores desses patógenos, que diferem dos demais vírus detectados.

A transmissão de vírus por vetores é um dos principais fatores que determinam a disseminação e severidade das infecções virais em plantas. A alta incidência de coinfeções entre vírus transmitidos por pulgões destaca a relevância desse vetor na epidemiologia das viroses do morangueiro. Estudos indicam que coinfeções podem resultar em interações sinérgicas, onde um vírus facilita a infecção de outro ao suprimir as defesas da planta (Martin e Tzanetakis, 2006). Além disso, a presença de SLRSV junto a SVBV e SMoV levanta a hipótese de que sua disseminação possa ocorrer de forma indireta.

Por outro lado, coinfeções como SVBV+SLRSV são menos prováveis de ocorrerem na natureza por seus vetores, pulgão e nematoide, respectivamente. Essa associação sugere que as plantas já deveriam estar infectadas antes do plantio na área cultivada ou que outros mecanismos de disseminação, como o uso de mudas contaminadas, possam estar envolvidos. A presença dessa coinfeção também levanta a possibilidade de que o nematoide vetor esteja presente na região, o que representaria um risco adicional para a disseminação do SLRSV e reforça a importância do monitoramento fitossanitário, dado que esse nematoide é uma praga regulamentada quarentenária ausente no Brasil, segundo a Instrução Normativa SDA/MAPA (Brasil, 2021).

A análise genômica revelou que os isolados brasileiros apresentam identidade genética de 100% entre si, sugerindo uma origem comum e uma disseminação clonal no país, assim como as amostras importadas da Espanha. Essa similaridade sugere que, embora o vírus possa ter sido introduzido no Brasil por meio de mudas importadas, sua dispersão pode ter ocorrido predominantemente dentro do território nacional por meio de mudas clonadas e distribuídas localmente, corroborando a hipótese de uma disseminação restrita no Brasil, facilitando estratégias direcionadas de manejo. Esse padrão de agrupamento foi igualmente relatado por Costa *et al.* (2021) para outros patógenos no Brasil.

Além disso, os resultados demonstraram uma proximidade genética significativa entre os isolados brasileiros e importados, com os isolados da Suíça (KT923163), Nova Zelândia (HM591198, HM591196 e MN082041) e Holanda (MF796974 e MF796988), esse resultado demonstra que entre os isolados estudados e os encontrados em outros países sugere que essas regiões também devem receber mudas provenientes da Espanha, principal exportadora de material propagativo de morango na Europa. Essa conexão evidencia a necessidade de uma investigação mais detalhada sobre as rotas comerciais e sanitárias envolvidas na distribuição dessas mudas. Essa dinâmica foi discutida por Ranawaka *et al.* (2020), que destacaram a relação entre o comércio de mudas e a introdução de patógenos, bem como a redução da diversidade genética local.

Os resultados deste estudo reforçam a necessidade de monitoramento contínuo e da implementação de práticas de manejo integrado para o controle da disseminação do SLRSV e dos demais vírus. A vigilância epidemiológica, o controle rigoroso sobre o comércio de material vegetal contaminado e o manejo adequado de vetores são essenciais para minimizar os impactos econômicos e fitossanitários desses patógenos na cultura do morango (Massart *et al.*, 2017). Estudos demonstram que vírus latentes em plantas perenes, como o morangueiro, podem permanecer assintomáticos por longos períodos, dificultando a detecção e favorecendo sua propagação em mudas comercializadas (Rwahnih *et al.*, 2012).

Apesar dos avanços no estudo das viroses e fitoplasmas em morangueiro, a literatura ainda apresenta lacunas e, muitas vezes, está desatualizada. Além disso, diversos estudos relatam desafios técnicos na manipulação molecular dessa cultura, devido à presença de compostos que dificultam a extração de ácidos nucleicos, um obstáculo mencionado por Jaakola *et al.* (2001) e Gambino *et al.* (2008). Dessa forma, este estudo contribui significativamente para o entendimento da epidemiologia de diferentes espécies virais no Brasil e reforça a importância de investimentos em pesquisa para o desenvolvimento de estratégias de controle mais eficazes.

5 CONCLUSÃO

Este estudo reforça a importância do monitoramento e controle fitossanitário na cultura do morangueiro, considerando a diversidade de vírus que comprometem sua produtividade e qualidade. A detecção de SLRSV, SVBV, SMYEV e SMoV evidencia a necessidade de estratégias eficazes de manejo integrado, incluindo o uso de mudas certificadas, práticas agrícolas adequadas e monitoramento contínuo para mitigar a disseminação desses patógenos.

Dentre os vírus identificados, o SLRSV (strawberry latent ringspot virus) merece destaque por ser um patógeno quarentenário, cuja presença pode representar sérias implicações para a produção e o comércio de mudas de morango. Sua detecção reforça a necessidade de medidas rigorosas de biossegurança e certificação sanitária, a fim de evitar sua disseminação para novas áreas de cultivo. Além disso, sua ocorrência em coinfeções com SVBV e SMoV levanta questionamentos sobre possíveis interações sinérgicas e mecanismos adicionais de transmissão, que devem ser investigados para um melhor entendimento de sua disseminação.

A caracterização genética dos isolados de SLRSV revelou tanto similaridades quanto variações em relação a outros isolados previamente descritos, indicando a necessidade de abordagens específicas para o manejo desse patógeno. Diante da sua relevância quarentenária, recomenda-se a continuidade das pesquisas, com ênfase na identificação de novos isolados, no aprimoramento de métodos de diagnóstico e na implementação de estratégias de controle mais eficazes. A adoção de medidas preventivas e de manejo integrado, aliadas a políticas de biossegurança mais rigorosas, é essencial para minimizar os impactos desse vírus e garantir a sanidade da cultura do morangueiro no Brasil.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R. *et al.* (2019). Coinfecção de patógenos virais em culturas de morango: implicações para o manejo de doenças. **Plant Pathology Journal**, 33(2), 213-222.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa SDA nº 85, de 21 de dezembro de 2021**. Inclui na Lista de Pragas Quarentenárias Ausentes (PQA) as pragas especificadas no Anexo da Instrução Normativa SDA nº 39, de 1º de outubro de 2018. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 22 dez. 2021.

BRUNT, A. A.; CRABTREE, K.; DALY, M.; ELLIOTT, M. Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database. **Cambridge: CABI Publishing**, 1996.

CIEŚLIŃSKA, Mirosława. Genetic diversity of seven Strawberry mottle virus isolates in Poland. **The plant pathology journal**, v. 35, n. 4, p. 389, 2019.

CHEN, Ling *et al.* Genetic diversity and phylogenetic characteristics of viruses in lily plants in Beijing. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1127235, 2023.

CONCI, Vilma Cecilia *et al.* **Advances in characterization and epidemiology of strawberry viruses and phytoplasmas** in Argentina. 2017.

COSTA, J. *et al.* (2021). Análise filogenética de isolados do strawberry latent ringspot virus da América do Sul. **Journal of Phytopathology**, 169(4), 345-353.

DUARTE, Priscilla de Sousa Geraldino *et al.* Establishment of a bank of positive controls for diagnosis of quarantine viruses and viroids in Brazil through PCR and RT-PCR. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 86, p. 31–41, ago. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219416300382>. Acesso em: 24 dez. 2024.

DULLEMANS, A. M. *et al.* Creation of a new genus in the family Secoviridae substantiated by sequence variation of newly identified strawberry latent ringspot virus isolates. **Archives of Virology**, v. 165, n. 1, p. 21-31, 2020.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Doenças causadas por vírus**. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/MesaSerraGaucha/virus.htm>. Acesso em: 31 jan. 2025.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Principais doenças do morangueiro no Brasil e seu controle**. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/916685/1/CT96.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2025.

EVERETT, K. R.; MILNE, K. S.; FORSTER, R. L. S. Nucleotide sequence of the coat protein genes of strawberry latent ringspot virus: lack of homology to the nepoviruses and comoviruses. **Journal of general virology**, v. 75, n. 7, p. 1821-1825, 1994.

FAOSTAT. **Statistical Database of the Food and Agriculture Organization**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat>. Acesso em: 22 jan. 2025.

GAMBINO, Giorgio; PERRONE, Irene; GRIBAUDO, Ivana. A rapid and effective method for RNA extraction from different tissues of grapevine and other woody plants. **Phytochemical Analysis**, v. 19, n. 6, p. 520-525, 2008.

GUNDERSEN, D. E.; LEE, I. M. Ultrasensitive Detection of Phytoplasmas by Nested-PCR Assays Using Two Universal Primer Pairs. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 35, n. 3, p. 144–151, 1996. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/42685262>. Acesso em: 22 out. 2024.

HAZMAN, Mohamed *et al.* Double lysis: an integrative time-saving method yielding high-quality RNA from strawberry. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 18, p. 1-8, 2020.

HE, L. I. *et al.* Isolation and identification of virus dsRNA from strawberry plants. **Agricultural Sciences in China**, v. 6, n. 1, p. 86-93, 2007.

HUSSAIN, S.; KHAN, M. A.; ASLAM, S. *et al.* Genetic improvement in strawberries: challenges and opportunities. **Journal of Berry Research**, v. 12, n. 3, p. 154-169, 2022.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Produção Agrícola Municipal, 2020. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 22 jan. 2025.

JAAKOLA, Laura *et al.* Isolation of high quality RNA from bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruit. **Molecular biotechnology**, v. 19, p. 201-203, 2001.

JONES, A. L.; ALPHEUS, M. Plant nematology in agriculture: concepts and applications. **Nematology Journal**, v. 35, n. 4, p. 101-110, 2003.

MARAIS, Armelle *et al.* Comparative performance evaluation of double-stranded RNA high-throughput sequencing for the detection of viral infection in temperate fruit crops. **Phytopathology®**, p. PHYTO-12-23-0480-R, 2024.

MARTIN, Robert R.; TZANETAKIS, Ioannis 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.

MARTIN, Robert R.; TZANETAKIS, Ioannis E. Characterization and recent advances in detection of strawberry viruses. **Plant disease**, v. 90, n. 4, p. 384-396, 2006.

MARTINS, C. R. F.; SOUZA, P. F. N.; SILVA, T. H. Pathogen diversity in strawberry crops. **Revista de Fitopatologia Brasileira**, v. 44, n. 2, p. 67-75, 2019.

MASSART, Sebastien *et al.* Uma estrutura para a avaliação de biossegurança, impactos comerciais, regulatórios e científicos de vírus e viroides de plantas identificados por tecnologias NGS. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 45, 2017.

MOLLOV, D.; LOCKHART, B.; ZLESAK, D. C.; BRISTOW, P. Complete nucleotide sequence of a new virus from strawberry exhibiting decline symptoms. **Archives of Virology**, v. 159, n. 1, p. 245-248, 2014.

MOZAFARI, A.A., VAFABEE, Y., HAJIZADEH, M. *et al.* Strawberry crinkle (SCV) and Strawberry mottle (SMoV) viruses affect yield and physio-biochemical responses of three strawberry cultivars under different seasonal conditions. *Mol Biol Rep* **49**, 8651–8661 (2022). <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07701-w>

PEILL, Matthew. **The Strawberry Aphid, *Chaetosiphon Fragaefolii* (Cockerell)(Hemiptera: Aphididae), as a Vector of Strawberry Decline Disease Associated Viruses in Commercial Strawberries and Alternative Hosts**. 2021. Tese de Doutorado. Acadia University.

RANAWAKA, Buddhini *et al.* Homo sapiens: The superspreader of plant viral diseases. *Viruses*, v. 12, n. 12, p. 1462, 2020.

RWAHNIH, Maher Al *et al.* Gene from a novel plant virus satellite from grapevine identifies a viral satellite lineage. *Virus Genes*, v. 47, p. 114-118, 2013.

SILVA, André Felipe Carrapatoso Peralta da. **A fiscalização do comércio de sementes e mudas como ferramenta de prevenção e controle de pragas dos vegetais**. 2013.

TAMURA, K.; STECHER, G.; KUMAR, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, v. 38, n. 7, p. 3022-3027, 2021.

TANG, Joe; WARD, Lisa I.; CLOVER, Gerard RG. The diversity of strawberry latent ringspot virus in New Zealand. *Plant disease*, v. 97, n. 5, p. 662-667, 2013.

THOMPSON, J. R. *et al.* Multiplex RT-PCR detection of four aphid-borne strawberry 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.

THOMPSON, J. R.; JELKMANN, W. The detection and variation of Strawberry mottle virus. *Plant disease*, v. 87, n. 4, p. 385-390, 2003.

TZANETAKIS, I. E.; KELLER, K. E.; MARTIN, R. R. The use of reverse transcriptase for efficient first-and second-strand cDNA synthesis from single-and double-stranded RNA templates. *Journal of virological methods*, v. 124, n. 1-2, p. 73-77, 2005.

TZANETAKIS, Ioannis E. *et al.* Identification and detection of a virus associated with strawberry pallidosis disease. *Plant disease*, v. 88, n. 4, p. 383-390, 2004.

TZANETAKIS, Ioannis E.; MARTIN, Robert R. Strawberry chlorotic fleck: identification and characterization of a novel Closterovirus associated with the disease. *Virus research*, v. 124, n. 1-2, p. 88-94, 2007.

XIANG, Yu *et al.* Genetic diversity of strawberry mild yellow edge virus from eastern Canada. *Archives of Virology*, v. 165, p. 923-935, 2020.

ZHANG, X. *et al.* (2019). Diversidade filogenética do strawberry latent ringspot virus na Europa e Ásia. *Virus Evolution*, 15(2), 233-241.

