

Candidatus phytoplasma* em *Prunus

Carlote Santos, Daniela Figueira, Sara Rodrigues e Eva Garcia

Laboratório de Fitossanidade – Instituto Pedro Nunes

O género ‘Candidatus Phytoplasma’ (‘Ca. Phytoplasma’) engloba um grupo de bactérias sem parede celular que colonizam o floema de **plantas** (hospedeiros) e tecidos de **insetos** (vetores) (Bertaccini *et al.*, 2022), causando doenças em diversas espécies de plantas por todo o mundo.

A transmissão deste agente patogénico a curtas distâncias está associada à atividade de insetos picadores-sugadores pertencentes à ordem Hemiptera (Marques, 2011) que se alimentam nos vasos condutores das plantas. A especificidade da relação **fitoplasma-inseto-hospedeiro** é complexa e variável, uma vez que a gama de hospedeiros é definida pelos hábitos alimentares do inseto vetor. Ou seja, o inseto vetor pode transmitir vários fitoplasmas a diversos hospedeiros de acordo com o seu padrão de alimentação, e a mesma planta pode ser infetada por uma ou múltiplas espécies de fitoplasmas (Weintraub & Beanland, 2006). A **transmissão** destes organismos a longas distâncias ocorre através da utilização de **material de propagação vegetativo contaminado**.

Os fitoplasmas são **parasitas obrigatórios** e não são cultiváveis *in vitro*, o que significa que o seu estudo e **classificação taxonómica** assenta, principalmente em **métodos moleculares** (Fránová *et al.* 2014). A classificação das espécies do género ‘Ca. Phytoplasma’ é baseada essencialmente na análise de sequências do gene 16S rRNA, tendo já sido identificadas mais de 40 espécies (Bertaccini, 2022).

As doenças causadas por este género estão bastante disseminadas, principalmente na **europa**, com elevado **impacto económico** em culturas de fruteiras, que pode incluir perda parcial ou, em casos extremos, perda total da produção (Marques, 2011). Em fruteiras destacam-se as seguintes espécies enquanto agentes causais de doença:

- ‘Ca. Phytoplasma mali’ (Proliferação da **macieira**);
- ‘Ca. Phytoplasma pyri’ (Declínio da **pereira**);
- ‘Ca. Phytoplasma solani’ (“Bois noir” da **videira**);
- ‘Ca. Phytoplasma prunorum’ (*apricot chlorotic leaf roll, plum leptonecrosis, peach yellowing, declining of plum, peach and almond*)
- ‘Ca. Phytoplasma pruni’ (Fitoplasmose das prunóideas (*X-disease*))

Todas estas espécies do género ‘Ca. Phytoplasma’ estão classificadas como organismos de quarentena pela Organização Europeia e Mediterrânica de Proteção das Plantas (EPPO) e inserem-se na lista A2 (pontualmente presentes no território EPPO e sob controlo oficial), com exceção de ‘**Ca. Phytoplasma pruni**’, incluído na lista A1 da EPPO (ausente da região EPPO) (EPPO, 2022). Relativamente à União Europeia, estão incluídos na Lista de pragas regulamentadas não sujeitas a quarentena (RNQP) descritas no Anexo IV da Diretiva 2000/29/CE do Conselho de 8 de maio de 2000.

Nas Prunóideas, em particular, apesar de algumas espécies serem hospedeiras de mais do que uma espécie de ‘Ca. Phytoplasma’, as que mais suscitam preocupação são ‘**Ca. Phytoplasma prunorum**’ – agente causal da doença **European stone fruit yellows (ESFY)**, bastante disseminado no continente europeu (Figura 1) (EPPO,

2023b); e ‘**Ca. Phytoplasma pruni**’, que, apesar da sua distribuição estar restrita ao continente americano (Figura 2), representa um risco elevado de introdução na Europa (EPPO, 2023a).

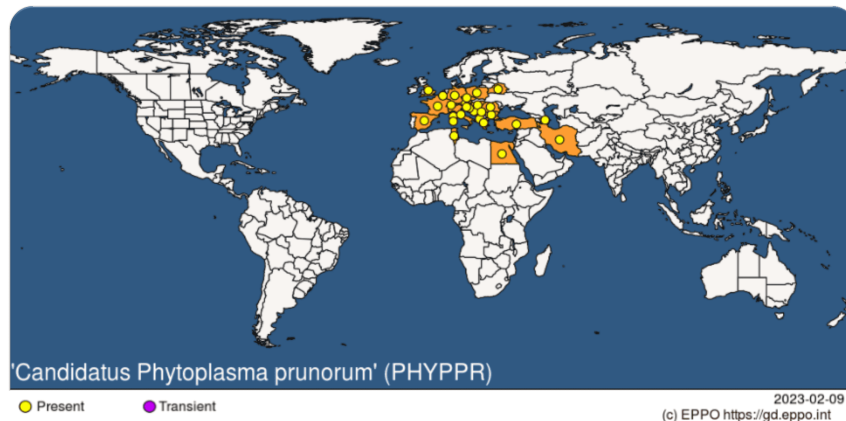


Figura 1. Mapa de distribuição geográfica de ‘Candidatus Phytoplasma prunorum’ (EPPO, 2023b).

‘**Ca. Phytoplasma prunorum**’ infeta de forma natural várias espécies selvagens e cultivares de *Prunus* (Ciešlińska, 2011). As Prunóideas mais suscetíveis a este organismo são o **damasqueiro** (*Prunus armeniaca*), o **pessegueiro** (*P. persica*), a **ameixeira-japonesa** (*P. salicina*) e a **ameixeira-europeia** (*P. domestica*). A cerejeira (*P. avium*) não é um hospedeiro comum deste fitoplasma, e em caso de infeção é aparentemente menos suscetível à doença (Ciešlińska, 2011). Nos hospedeiros suscetíveis, a doença afeta diretamente a quantidade e a qualidade do fruto e pode levar ao declínio da planta (EFSA, 2012).

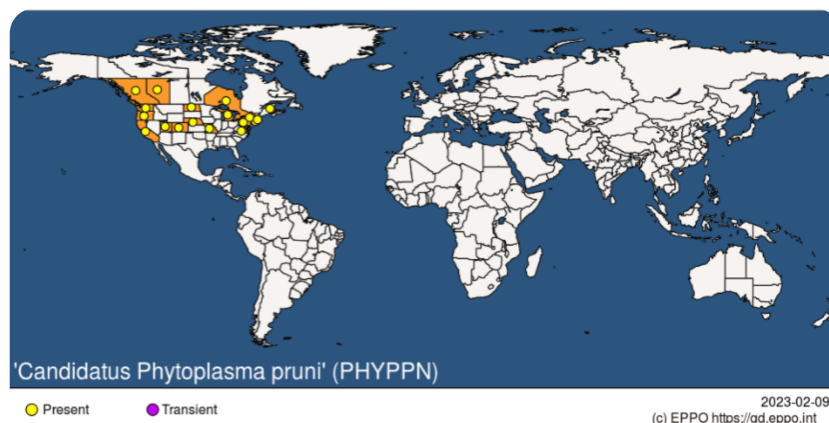


Figura 2. Mapa de distribuição geográfica de ‘Candidatus Phytoplasma pruni’ (EPPO, 2023a).

Na **Europa**, a presença de ‘**Ca. Phytoplasma prunorum**’ **teve impacto** nas principais zonas de produção de frutas de caroço (**stone fruit**), causando **prejuízos económicos** consideráveis (EFSA, 2012). A região da bacia mediterrânica é a zona onde se regista maior incidência da doença, tendo-se observado surtos graves ao longo dos últimos anos (Marcone *et al.*, 1996; Paltrinieri *et al.*, 2001; Paltrinieri *et al.*, 2004; Laviña *et al.*, 2004).

Cacopsylla pruni (Hemiptera: Psylloidea) é o principal inseto vetor de ‘**Ca. Phytoplasma prunorum**’, encontrando-se difundido no Paleártico Ocidental tendo sido detetado em 15 dos 27 países da EU (Steffek *et al.*, 2012). Recentemente, a lista de países em que o vetor se encontra presente foi atualizada, incluindo Portugal (Sauvion *et al.*, 2021) (Figura 3).

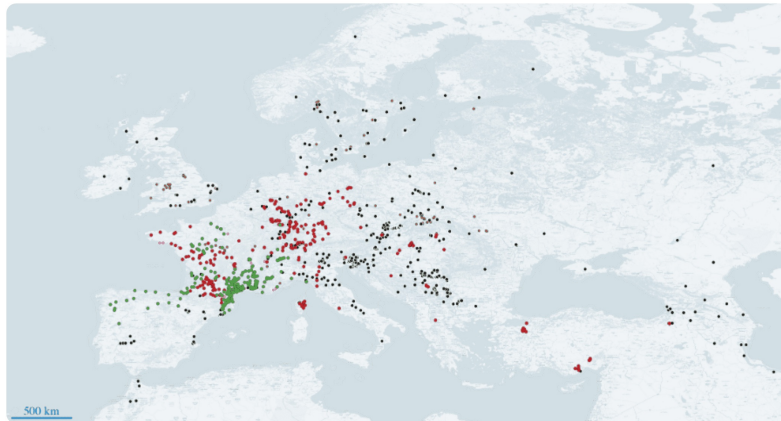


Figura 3. Mapa global dos 1716 dados de ocorrência disponíveis no conjunto de dados de *Cacopsylla pruni* (mapa gerado com QGIS 3.14). O mapa mostra a distribuição das espécies crípticas A (pontos verdes) e B (pontos vermelhos) de acordo com os dados disponíveis. No entanto, a maioria dos dados da literatura (pontos pretos), do GBIF (pontos cor de laranja) ou do catálogo *Psylloidea* da "Faune de France" (atualmente em publicação) não permite fazer uma distinção entre espécies crípticas (Adaptado de Sauvion *et al.*, 2021).

SINTOMATOLOGIA

‘Ca. Phytoplasma’ spp.

A **sintomatologia** pode variar de acordo com diferentes **fatores**, como a espécie da planta, o porta enxerto, o inóculo e a(s) espécie(s) de ‘Ca. Phytoplasma’, as condições climáticas, a idade das árvores e a população de inseto vetor presente (Marcone *et al.*, 2010), mas no geral o conjunto de sintomas é semelhante.

Os fitoplasmas colonizam a planta através da manipulação de várias vias metabólicas (Namba, 2019), desencadeando alterações profundas nos seus **processos fisiológicos**, nomeadamente ao nível da fotossíntese, substâncias de reserva e equilíbrio hormonal (Namba, 2019; Dermastia, 2019; Bertaccini, 2022). A resposta da planta a estas alterações origina sintomas muito característicos, consistindo normalmente em:

- Proliferação de rebentos de forma descontrolada e agrupamento de pequenos ramos, formando os **Witches’ Broom (vassouras e bruxa)**;
- **Crescimento retardado** da planta e presença anormal de folhas de tamanho reduzido;
- **Filoidia** (desenvolvimento de órgãos florais em estruturas foliares) e **virescência** (desenvolvimento anormal de pigmentação verde);
- **Alteração da cor** - avermelhamento das folhas superiores e da parte apical;
- **Amarelecimento** da parte aérea e declínio geral da planta (Bertaccini, 2022).

‘Ca. Phytoplasma prunorum’ (ESFY) e ‘Ca Phytoplasma pruni’ em Prunóideas

A sintomatologia associada às doenças provocadas pelas espécies ‘Ca Phytoplasma prunorum’ e ‘Ca Phytoplasma pruni’ é idêntica e compreende (Fig. 4):

- formação de **rebentos foliares prematuros**;
- **enrolamento** das folhas;
- desenvolvimento de **folhas** com um aspeto deteriorado/perfurado ou com uma **coloração outonal** (folhas amareladas ou avermelhadas) no verão;
- produção de **frutos** de **baixo calibre** e qualidade;
- necrose dos tecidos vasculares floémicos;
- morte de ramos e grande probabilidade de **morte da planta** infetada (Riedle-Bauer *et al.*, 2019).

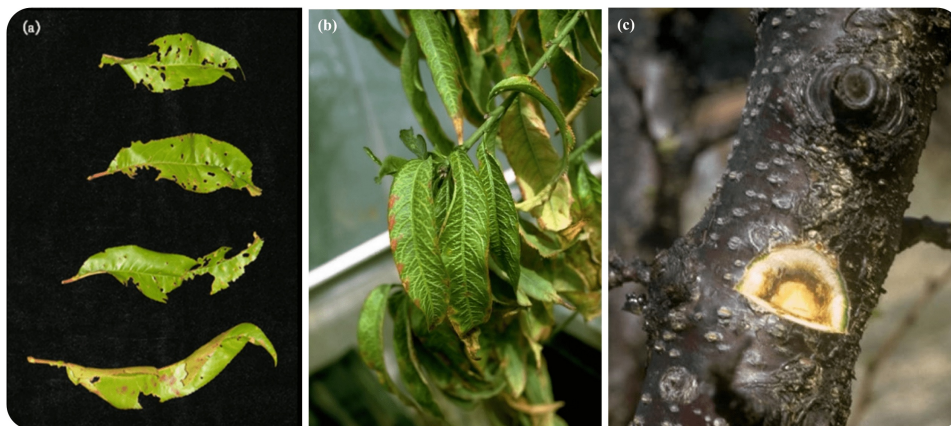


Figura 4. Sintomas de 'Ca. *Phytoplasma prunorum*' (ESFY): **(a)** folhas perfuradas e deterioradas (Davis *et al.*, 2013); **(b)** enrolamento das folhas e coloração amarelada (EPPO, 2023); **(c)**

Escurecimento e necrose dos tecidos vasculares floémicos (EPPO, 2023).

BIOLOGIA E ECOLOGIA

Em *Prunus* o fitoplasma pode ser transmitido através do respetivo **inseto vetor**, mas também por processos de **enxertia de material de propagação infetado**.

A doença causada por '**Ca. *Phytoplasma prunorum*'** (ESFY) **é considerada epidémica**, uma vez que se pode propagar rapidamente quando o ambiente é favorável ao crescimento das plantas hospedeiras e dos vetores (Carraro e Osler, 2003). ***C. pruni* (psilídeo da ameixeira) é o vetor primário de 'Ca. *Phytoplasma prunorum*'**. Este psilídeo completa uma geração por ano e passa o inverno como adulto em plantas de abrigo, geralmente coníferas em zonas de montanha. No final do inverno, *C. pruni* desloca-se das plantas de abrigo para espécies de *Prunus* cultivadas ou selvagens para oviposição. De maio até ao início de julho, a nova geração alimenta-se de espécies de *Prunus*. Assim que o desenvolvimento dos adultos está completo, *C. pruni* abandona as árvores de fruto e migra de novo para as plantas de abrigo para hibernar (Thébaud *et al.*, 2009). Durante este período, o fitoplasma coloniza e multiplica-se nas glândulas salivares do inseto (Thébaud *et al.*, 2009). *C. pruni* permanece infeciosa durante o inverno e na primavera seguinte. Após o período de hibernação de oito meses, *C. pruni* tem uma eficácia de transmissão de 60% (Thébaud *et al.*, 2009). Quando os insetos que hibernam chegam às árvores de fruto de caroço, já estão infetados e infeciosos (Carraro *et al.*, 2001). O período de transmissão natural dura enquanto o vetor estiver presente em espécies de *Prunus* (Carraro *et al.*, 2004). **O psilídeo transmite 'Ca. *Phytoplasma prunorum*' de uma forma persistente-propagativa** (Thébaud *et al.*, 2009). De acordo com um estudo, as fruteiras de caroço infetadas apresentam sintomas típicos de ESFY após um período de incubação de 4-5 meses. '**Ca. *Phytoplasma prunorum*'** pode persistir no caule dos hospedeiros *Prunus* durante o período de dormência do inverno, em nítido contraste com os fitoplasmas da proliferação da macieira e do declínio da pereira, que só sobrevivem ao inverno nas raízes dos hospedeiros (PPQ, 2022).

Após esta infeção, o fitoplasma invade o **sistema floémico** da planta infetada causando grandes **perturbações fisiológicas** devido à interrupção do processo de fornecimento de nutrientes a todos os seus órgãos, levando posteriormente à manifestação dos **sintomas** mencionados anteriormente (Figura 5).

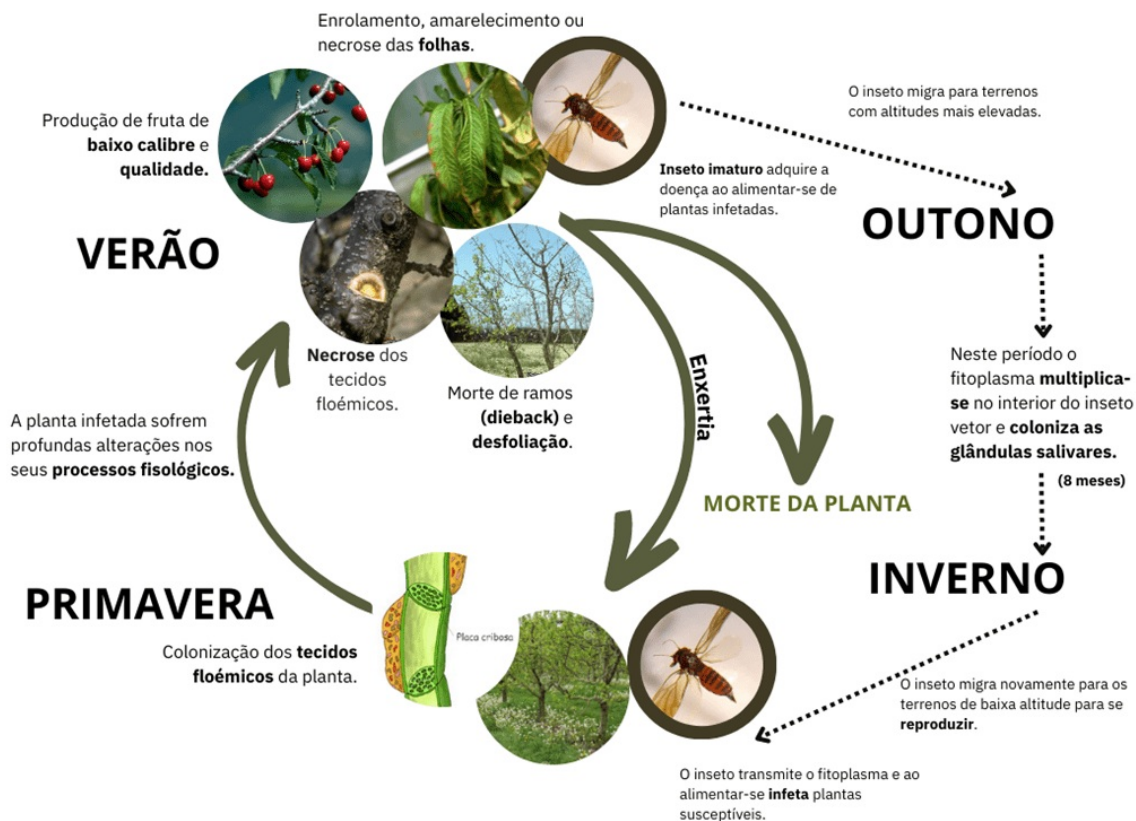


Figura 5. Ciclo epidemiológico das doenças provocadas pelo género '*Candidatus Phytoplasma*', em *Prunus*.

MITIGAÇÃO E CONTROLO

Não existem tratamentos **químicos** específicos e eficazes para controlo da doença (Marcone *et al.*, 2010), no entanto existem **medidas preventivas** que se podem adotar para **diminuir** a probabilidade de infeção, entre elas:

- garantir o uso de material de propagação certificado e **saudável** através de inspeção de terrenos de origem desse mesmo material, principalmente quando correspondem a países onde o agente patogénico está presente
- controlo de inseto vetor com aplicação de **inseticidas**;
- **destruição** de plantas infetadas e gestão sanitária do pomar;

Em algumas regiões, apesar dos esforços preventivos, a presença de espécies **selvagens** de hospedeiros, dificulta a gestão da dispersão de fitoplasmas e consequentemente da disseminação da doença (Marcone *et al.*, 2010).

BIBLIOGRAFIA

Bertaccini, A. (2022). Plants and Phytoplasmas: When Bacteria Modify Plants, *Plants*, 11(11), 1425.

Bertaccini, A.; Arocha-Rosete, Y.; Contaldo, N.; Duduk, B.; Fiore, N.; Montano, H.G.; Kube, M.; Kuo, C-H.; Martini, M.; Oshima, K.; Quaglino, F.; Schneider, B.; Wei, W.; Zamorano, A. (2022). Revision of the '*Candidatus Phytoplasma*' species description guidelines. *International Journal of Systematic and an Evolutionary Microbiology*, Vol.72, (4).

Carraro L, Ferrini F, Ermacora P & Loi N. (2002). Role of wild *Prunus* species in the epidemiology of European stone fruit yellows. *Plant Pathology*. 51, 513–517.

- Carraro, L., and R. Osler. (2003). European stone fruit yellows: a destructive disease in the Mediterranean basin. *Options Méditerranéennes, Série B* 45:113-117.
- Carraro, L., F. Ferrini, G. Labonne, P. Ermacora, and N. Loi. (2004). Seasonal infectivity of *Cacopsylla pruni*, vector of European stone fruit yellows phytoplasma. *Annals of Applied Biology* 144(2):191-195.
- Cieślińska, M. (2011). European stone fruit yellows disease and its causal agent '*Candidatus Phytoplasma prunorum*'. *Journal of Plant Protection Research*. 51(4): 441-447.
- Davis, R.E.; Zhao, Y.; Dally, E.L.; Lee, I-M.; Jomantiene, R.; Douglas, S. M. (2013). '*Candidatus Phytoplasma*' pruni', a novel taxon associated with X-disease of stone fruits, *Prunus* spp.: multilocus characterization based on 16S rRNA, secY, and ribosomal protein genes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Vol.63, (Pt_2).
- Dermastia, M. (2019). Plant Hormones in Phytoplasma Infected Plants. *Frontier Plant Science*. 10:477. Doi: 10.3389/fpls.2019.00477
- EFSA. (2012). Pest risk assessment for the European Community plant health: A comparative approach with case studies. EFSA Supporting Publications. 9(2).
- EPPO (2023b) '*Candidatus Phytoplasma*' prunorum. Disponível online em: <https://gd.eppo.int/taxon/PHYPPR>
- EPPO. (2022). EPPO Standards. EPPO A1 and A2 Lists of pests recommended for regulation as quarantine pests. PM ½ (31). Disponível online em: <https://gd.eppo.int/standards/PM1/>.
- EPPO. (2023*) '*Candidatus Phytoplasma*' pruni'. EPPO datasheets on pests recommended for regulation. Disponível online em: <https://gd.eppo.int/taxon/PHYPPN/datasheet>.
- Fránová J, Bertaccini A, Duduk B (2014) Molecular tools in COST FA0807 Action. In: Bertaccini A (ed.) Phytoplasmas and phytoplasma disease management: how to reduce their economic impact, 179-184.
- Laviña A., Sabaté J., García-Chapa M., Batlle A., Torres E. 2004. Occurrence and epidemiology of European stone fruit yellows phytoplasma in Spain. *Acta Horticulturae*. 657: 489-494.
- Marcone C., Ragazzino A., Seemüller E. 1996. European stone fruit yellows phytoplasma as the cause of peach vein enlargement and other yellows and decline diseases of stone fruits in Southern Italy. *Journal of Phytopathology*. 144 (11-12): 559-564.
- Marcone, C.; Jarauseh, B. & Jarauseh, W. (2010). '*Candidatus Phytoplasma*' prunorum, the causal agent of European stone fruit yellows: an overview. *Journal of Plant Pathology*, Vol. 92, No. 1 (19-34).
- Marques, A.I. (2011). Pesquisa de fitoplasmas das pomóideas e prunóideas em Portugal. Dissertação de mestrado, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa.
- Namba, S. (2019). Molecular and biological properties of phytoplasmas. *Proceedings of the Japan Academy, Ser. B Physical and Biological Sciences*. 2019, 95, 401-418.
- Paltrinieri S., Bertaccini A., Lugli A., Monari W. 2004. Three years of molecular monitoring of phytoplasma spreading in a plum growing area in Italy. *Acta Horticulturae*. 657: 501-506.
- Paltrinieri S., Martini M., Stefani E., Pondrelli M., Fideghelli C., Bertaccini A. 2001. Phytoplasma infection in peach and cherry in Italy. *Acta Horticulturae*. 550: 365-370.
- PPQ. (2022). Cooperative Agricultural Pest Survey (CAPS) Pest Datasheet for Genus species (Family): Common name. United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Plant Protection and Quarantine (PPQ), Raleigh, NC.
- Riedle-Bauer, M.; Paleskić, C.; Schwanzer, J.; Kölber, M.; Bachinger, K.; Antonielli, L.; Schönhuber, C.; Elek, R.; Stradinger, J.; Emberger, M.; Engel, C.; Makay, M.; Zajcsek, F.; & Brader, G. (2019). Epidemiological and molecular study on '*Candidatus Phytoplasma*' prunorum' in Austria and Hungary. *Annals of Applied Biology*.
- Sauvion N, Peccoud J, Meynard CN, Ouvrard D (2021) Occurrence data for the two cryptic species of *Cacopsylla pruni* (Hemiptera: Psylloidea). *Biodiversity Data Journal* 9: e68860. <https://doi.org/10.3897/BDJ.9.e68860>
- Steffek, R.; Follak, S.; Labonne, G.; & MacLeod, A. (2012). Distribution of '*Candidatus Phytoplasma prunorum*' and its vector *Cacopsylla pruni* in European fruit-growing areas: a review. 42 (2): 191-202.
- Thébaud, G.; Yvon, M.; Alary, R.; Sauvion, N.; & Labonne, G. (2008). Efficient transmission of '*Candidatus Phytoplasma prunorum*' is delayed by eight months due to a long latency in its Host-alternating vector. *The American Phytopathological Society*. Vol. 99, (3).
- Weintraub, P. G., and Beanland, Le A. (2006). Insect vectors of phytoplasmas. *Annual review of entomology*. 51: 91-111.

REFERENCIAS IMAGENS DO CICLO:

Inseto: https://www.galerie-insecte.org/galerie/Cacopsylla_pruni.html

pomar saudável: <https://pt.dreamstime.com/pomar-com-cerejeiras-vista-para-um-depois-de-florescer-na-alemanha-do-reino-image214197362>

tecidos floémicos: <https://www.goconqr.com/mapamental/560033/distribuicao-dos-materiais-nos-seres-vivos>