

3 DOENÇAS VIRAIS

Tbor Vinícius Martins Fajardo

Gilmar Barcelos Kubn

Osmar Nickel

INTRODUÇÃO

São conhecidas na videira (*Vitis* spp.) cerca de 50 doenças consideradas de origem viral. A videira, por ser propagada vegetativamente, facilita a disseminação desses patógenos e favorece o aparecimento de doenças complexas, pelo acúmulo de diferentes vírus numa mesma planta. Muitas dessas doenças estão bem identificadas e caracterizadas, enquanto, outras dependem ainda de estudos complementares para definir sua natureza etiológica. Algumas ocorrem de forma ocasional na videira, aparentemente sem expressão econômica. Outras, embora causem prejuízos econômicos importantes, estão restritas a determinadas regiões ou países, possivelmente condicionadas por certas características regionais, como o plantio de cultivares sensíveis ou por condições edafoclimáticas que favoreçam a ocorrência de vetores.

Nas regiões vitícolas brasileiras tradicionais, onde os vinhedos foram formados com material introduzido há muitos anos de outros países, principalmente da Europa, a presença de viroses é comum. Na época, pouca seleção sanitária era conduzida e, conseqüentemente, o material vegetativo infectado era facilmente distribuído entre regiões e países, especialmente os porta-enxertos, nos quais a infecção viral freqüentemente é latente. Outro fator que contribuiu decisivamente para tão altos níveis de incidência de vírus foi o total desconhecimento dessas doenças, as quais começaram a ser estudadas no Rio Grande do Sul somente na década de 70.

Como a maioria das cultivares de videira, em especial as uvas finas (*Vitis vinifera*), é suscetível às doenças virais,

ainda hoje, há uma alta incidência desses patógenos nas nossas regiões produtoras. A disseminação é facilitada, em grande parte, no momento da obtenção de porta-enxertos e garfos de produtoras para enxertia, pelo fato de o material vegetativo ser originado de vinhedos mais antigos da região ou introduzido de outras regiões, porém, sem atender a requisitos sanitários.

Merecem destaque seis das principais doenças ou complexos virais que afetam a videira no Brasil.

DESCRIÇÃO DAS PRINCIPAIS DOENÇAS

Enrolamento-da-folha-da-videira

Esta virose foi constatada no Estado de São Paulo e no Rio Grande do Sul atingindo de 78% a 98% das produtoras viníferas, enquanto nos porta-enxertos, sua ocorrência foi de 15,6% a 33% das plantas amostradas.

A virose causa sérios prejuízos à videira, afetando o número, o peso e o tamanho dos cachos, além de diminuir o teor de açúcar da uva, a longevidade da planta e a qualidade do vinho. Os danos causados variam em função da suscetibilidade varietal, estirpe do vírus e intensidade da infecção. Em plantas da cultivar Cabernet Franc, vinífera tinta plantada para elaboração de vinho fino, severamente afetadas em comparação com plantas sadias, verificou-se redução de 42,4% no número de cachos; de 62,8% no peso da produção; de 65,2% no vigor, expresso pelo peso da poda hiberna; e de

2,7° Brix ou 25,6 g/L no teor de açúcares redutores da uva. No vinho elaborado com uvas da mesma cultivar afetadas pela virose foi verificada uma perda de 15% no teor alcoólico e diminuição acentuada na intensidade da cor do vinho.

Agente causal

É o vírus do enrolamento da folha da videira ("*Grapevine leafroll associated virus*", GLRaV), pertencente ao gênero *Ampelovirus* (antigo *Closterovirus*). Até o presente, isolaram-se oito vírus (GLRaV-1 a -8), sorologicamente distintos, associados aos tecidos de videiras afetadas. Há consenso de que essa virose seja causada por um complexo viral, embora cada um dos vírus possa ocorrer de forma isolada. GLRaV-3 ocorre com maior frequência em todo o mundo; GLRaV-1 e -3 já foram detectados no Brasil e, mais recentemente, o GLRaV-2 em vinhedos paulistas.

São vírus que possuem um único tipo de partícula, alongada e flexuosa, com cerca de 1.400 a 2.200 nm de comprimento e 12 nm de diâmetro. Apresentam o genoma composto por RNA fita simples de 15 a 20 kb (1.000 nucleotídeos) e peso molecular das subunidades da capa protéica de 35 a 43 kDa, exceto em GLRaV-2 que é de 26 kDa. Somente GLRaV-2 *Closterovirus* é transmissível pela via mecânica para hospedeiros herbáceos, cujo espectro é restrito, basicamente, a *Nicotiana* spp.

Sintomatologia

Os sintomas variam com as condições climáticas, época do ano, fertilidade do solo, estirpe do vírus e com a cultivar. São facilmente reconhecidos em cultivares sensíveis, em especial no fim do ciclo vegetativo, antes da queda das folhas pelo enrolamento dos bordos da folha para baixo, observado nas cultivares européias (*Vitis vinifera*) tintas e brancas (Fig. 1A e 1B), embora possa ocorrer infecção sem que as folhas se enrolem. Nas viníferas

tintas o limbo adquire uma coloração vermelho-violácea, permanecendo, em geral, o tecido ao longo das nervuras principais com a cor verde normal (Fig. 2A e 2B). Nas viníferas brancas infectadas, o limbo toma uma leve coloração amarelópálida, às vezes mais pronunciada no tecido ao longo das nervuras principais. Nas cultivares viníferas, tanto brancas como tintas, as folhas das plantas infectadas apresentam o limbo com aspecto rugoso, quebradiço e de consistência mais grossa do que nas folhas de plantas sadias. Os sintomas causados pela virose, independentemente da cultivar, aparecem sempre a partir da base dos ramos, evoluindo para as demais folhas da extremidade. Dependendo do nível de infecção e da virulência da estirpe viral, os sintomas podem ser discretos e se restringir às folhas da base dos ramos.

As videiras americanas (*Vitis labrusca*) e híbridas, que predominam em área cultivada no Brasil, não mostram os sintomas característicos da doença. Pode ser observado, em cultivares como Niágara Branca, Niágara Rosada e Concord, leve enrolamento e, às vezes, queimadura entre as nervuras principais, bem como redução no desenvolvimento da planta. Na cultivar Isabel, a redução no crescimento é o sintoma mais evidente. Já as cultivares de porta-enxertos não mostram qualquer sintoma nas folhas quando infectadas pelo vírus, o que torna impossível a distinção entre plantas sadias e doentes pela simples observação.

Nos cachos de plantas muito afetadas, o sintoma mais comum é a maturação irregular e retardada da uva, chegando até a não se completar. Além disso, nas plantas muito afetadas, o número e o tamanho dos cachos são menores e as plantas tornam-se totalmente definhadas.

Sintomas de avermelhamento ou amarelamento das folhas, semelhantes aos causados pela virose, podem ser induzidos por outras causas como: deficiência de potássio, de magnésio ou de boro; ataque

de cigarrinhas e ácaros; asfixia da planta pelo excesso de umidade no solo; infecção por outros patógenos (vírus, fitoplasma e fungos radiculares); efeito fitotóxico de pesticidas e outras causas que interrompam a circulação normal da seiva da planta.

Nenhum outro hospedeiro natural é conhecido para o vírus além da videira.

Epidemiologia

A disseminação natural dos vírus nos vinhedos por vetores começou a ser considerada a partir da constatação experimental de que GLRaV-1 e GLRaV-3 são transmitidos de videira para videira pelas cochonilhas algodonosas da família



Foto: G.B. Kuhn



Fig.1. Enrolamento da folha em vinífera branca. (A) Planta com sintomas fortes, (B) enrolamento dos bordos do limbo foliar na página inferior da folha.

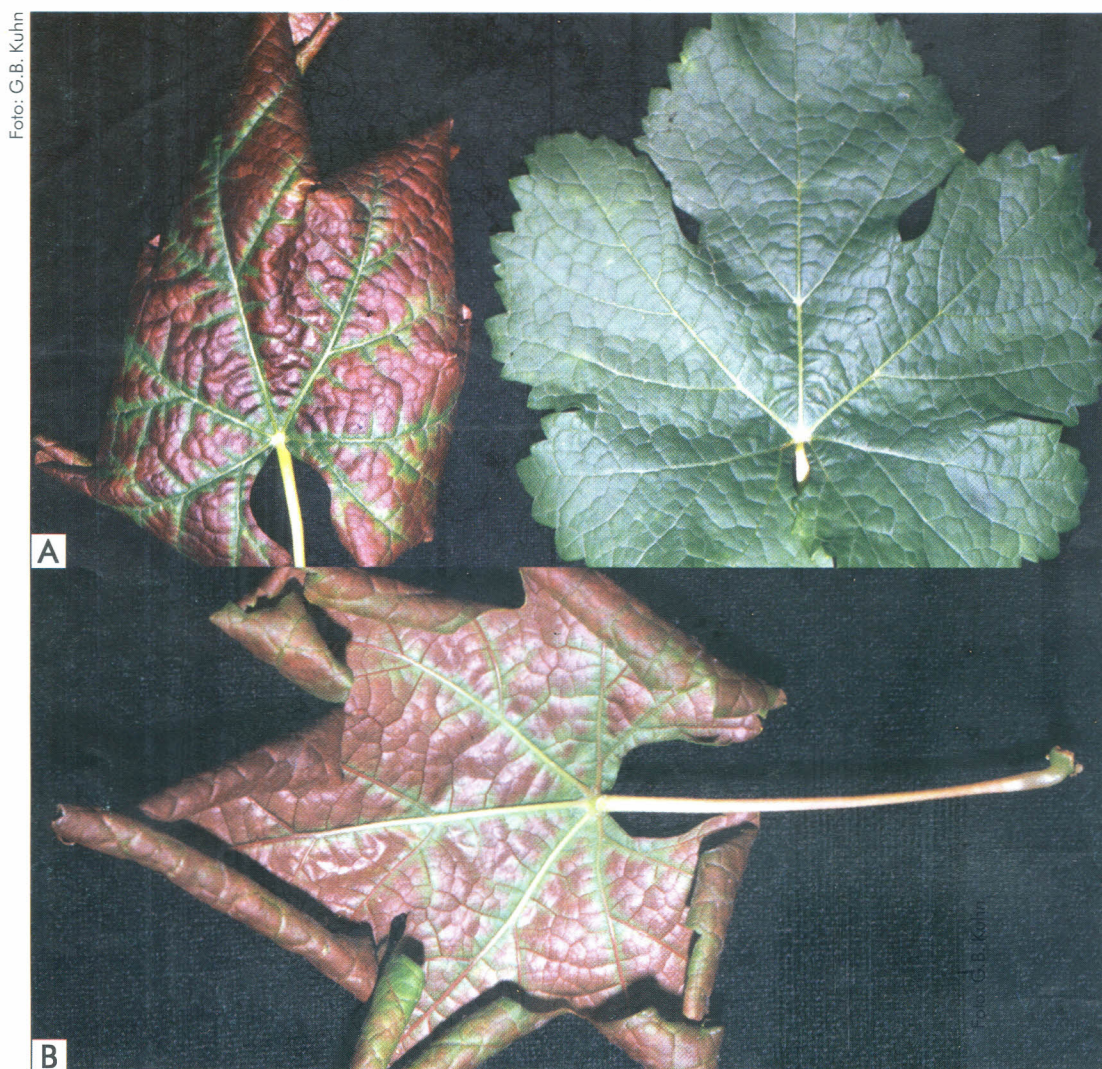


Fig.2. Enrolamento da folha em vinífera tinta. (A) Folha com sintomas (esquerda) e folha sadia (direita); (B) Página inferior da folha com sintomas.

Pseudococcidae (*Planococcus ficus*, *Planococcus citri*, *Pseudococcus longispinus*, *Pseudococcus calceolariae*, *Pseudococcus affinis* (= *P. viburni*), *Heliococcus bobemicus* e *Phenacoccus aceris*) e por cochonilhas de carapaça da família *Coccidae* (*Pulvinaria vitis* e *Parthenolecanium corni*). No entanto, existem poucas informações disponíveis sobre a ocorrência, a dispersão e a bioecologia dessas espécies de cochonilhas em videiras na região vitícola da Serra Gaúcha.

Na ausência de cochonilhas, já relatadas como vetoras de GLRaV-1, outras cochonilhas poderiam estar disseminando esse vírus em vinhedos. Há relato de que a cochonilha *Neopulvinaria innumerabilis* poderia estar envolvida na disseminação desse vírus.

A ocorrência da cochonilha-parda *Parthenolecanium persicae* é freqüente em vinhedos da região vitícola da Serra Gaúcha, devendo ser objeto de estudo para verificar sua possível atuação na disseminação de vírus. Outras espécies como a cochonilha-algodão (*Icerya schrottkyi*) e as cochonilhas-do-tronco (*Hemiberlesia lataniae*, *Diplaspidotus tessaratus* e *D. fossor*), que ocorrem no Brasil, também deverão ser estudadas como potenciais vetoras de vírus na videira.

Como as cochonilhas, a princípio, são vetores de vírus pouco eficientes, em razão da sua baixa mobilidade nas plantas, a definição da importância epidemiológica desse tipo de vetor ainda necessita de maiores estudos. No padrão relatado de

disseminação do GLRaV-3 em videiras a campo, observa-se a dispersão do vírus, preferencialmente, entre plantas vizinhas dentro da linha de plantio, o que implica estar envolvida a atuação de um vetor pouco móvel.

A disseminação de longa distância ocorre através do material propagativo infectado, durante o processo de formação das mudas, independentemente do método de enxertia. Não há informação de transmissão de vírus pela tesoura de poda ou pelo contato das raízes.

Complexo rugoso da videira

Quatro viroses constituem o complexo rugoso da videira (“*Grapevine rugose wood complex*”), causando alterações no lenho de plantas infectadas: o intumescimento-dos-ramos (“*Corky bark*”) e as caneluras-do-tronco, estas, por sua vez, associadas às viroses “*Rupestris stem pitting*”, “*Kober stem grooving*” e “*LN33 stem grooving*”. Essas viroses podem ser separadas por meio de testes biológicos com cultivares indicadoras (*Rupestris* do Lot, Kober 5BB e LN33) específicas para cada vírus (Tabela 1).

Intumescimento-dos-ramos-da-videira

Esta doença foi descrita pela primeira vez na Califórnia (EUA), tendo sido, posteriormente, denominada “*Grapevine corky bark*”. O intumescimento-dos-ramos ocorre na maioria dos países vitícolas, afetando muitas cultivares comerciais de produtoras e de porta-enxertos sem que estas apresentem sintomas aparentes. No Rio Grande do Sul e em São Paulo tem sido constatada em cultivares americanas e viníferas, numa incidência de 2,3% a

20%. Em algumas áreas isoladas a infecção supera 50%.

Nas cultivares americanas Isabel, Niágara Rosada e Niágara Branca, ocorre queda progressiva de produtividade, a uva não completa a maturação, há redução no teor de açúcar e a planta pode morrer em poucos anos. Em cultivares de *Vitis vinifera*, a presença desse vírus, associada ao sintoma de engrossamento na região da enxertia, causa a morte de mudas nos primeiros 2 ou 3 anos após a enxertia.

Agente causal

O vírus B da videira (“*Grapevine virus B*”, GVB) é o vírus associado ao intumescimento do ramo da videira. Recentemente, foi classificado no gênero *Vitivirus*, juntamente com os vírus GVA, GVC, GVD isolados de videiras afetadas pelo complexo rugoso. Seu genoma, com aproximadamente 7.600 nucleotídeos, é constituído de RNA fita simples e senso positivo. A partícula viral tem cerca de 800 nm de comprimento (Fig.3), e as subunidades da capa protéica possuem 23 kDa de peso molecular. Como os outros ex-*Trichovirus* da videira, o GVB é transmissível pela via mecânica para uma gama de hospedeiros herbáceos, a maioria *Nicotiana* spp.



Foto: César M. Chagas

Fig.3. Micrografia eletrônica de partículas de “*Grapevine virus B*” (GVB), em contrastação negativa com acetato de uranila a 2%, em extrato de *Nicotiana occidentalis* infectada com GVB.

Tabela 1. Cultivares indicadoras e tempo necessário de observação até a expressão de sintomas nos testes de indexação biológica.

Viroses / Vírus envolvidos	Indicadoras	Expressão dos sintomas
Enrolamento da folha da videira ("Grapevine leafroll associated virus", GLRaV-1 a GLRaV-9)	Cabernet Franc Cabernet Sauvignon Merlot Pinot Noir Mission	6 a 24 meses
Complexo rugoso da videira		
Intumescimento-dos-ramos ("Corky bark") ("Grapevine virus B", GVB)	LN 33	3 a 18 meses
"Kober stem grooving" (*) (Grapevine virus A, GVA)	Kober 5BB	24 meses
"Rupestris stem pitting" (*) ("Rupestris stem pitting associated virus", GRSPaV)	Rupestris du Lot	24 meses
"LN33 stem grooving" (*)	LN 33	24 meses
Degenerescência-da-videira ("Grapevine fanleaf virus", GFLV)	Rupestris du Lot	2 a 18 meses
Necrose-das-nervuras ("Grapevine vein necrosis")	R 110	3 a 18 meses
Mancha-das-nervuras ("Grapevine fleck virus", GFkV)	Rupestris du Lot Kober 5BB	3 a 18 meses

(*) viroses associadas às caneluras do tronco.
Fonte: Embrapa Uva e Vinho, 2001.

A diagnose da doença pode ser feita por meio de testes de indexagem biológica utilizando-se a cultivar indicadora LN33 (Couderc 1613 x Thompson Seedless), que é extremamente sensível ao vírus e expressa sintomas típicos da virose (Fig. 4A).

Sintomatologia

Nas cultivares americanas (*Vitis labrusca*), como a Isabel, Niágara Rosada e Niágara Branca, os sintomas são facilmente observados e se caracterizam pelo intumescimento dos entrenós do ramo do ano, com fendilhamento longitudinal do tecido afetado (Fig. 4B e 4C). Esses

sintomas podem ser observados também no pecíolo das folhas próximas às regiões afetadas dos ramos. Com o amadurecimento do ramo, o tecido da região intumescida fica com um aspecto corticento. Os ramos afetados são destacados da planta com facilidade, principalmente quando há formação de tecido corticento na região de sua inserção. Nas plantas muito afetadas, a brotação é retardada e fraca. As folhas tendem a enrolar os bordos para baixo, além de caírem mais tardiamente no outono. Em cultivares americanas, a planta definha gradativamente, com seca parcial ou total dos ramos afetados, podendo morrer em poucos anos.

Em algumas cultivares viníferas e híbridas pode ser observado averme-

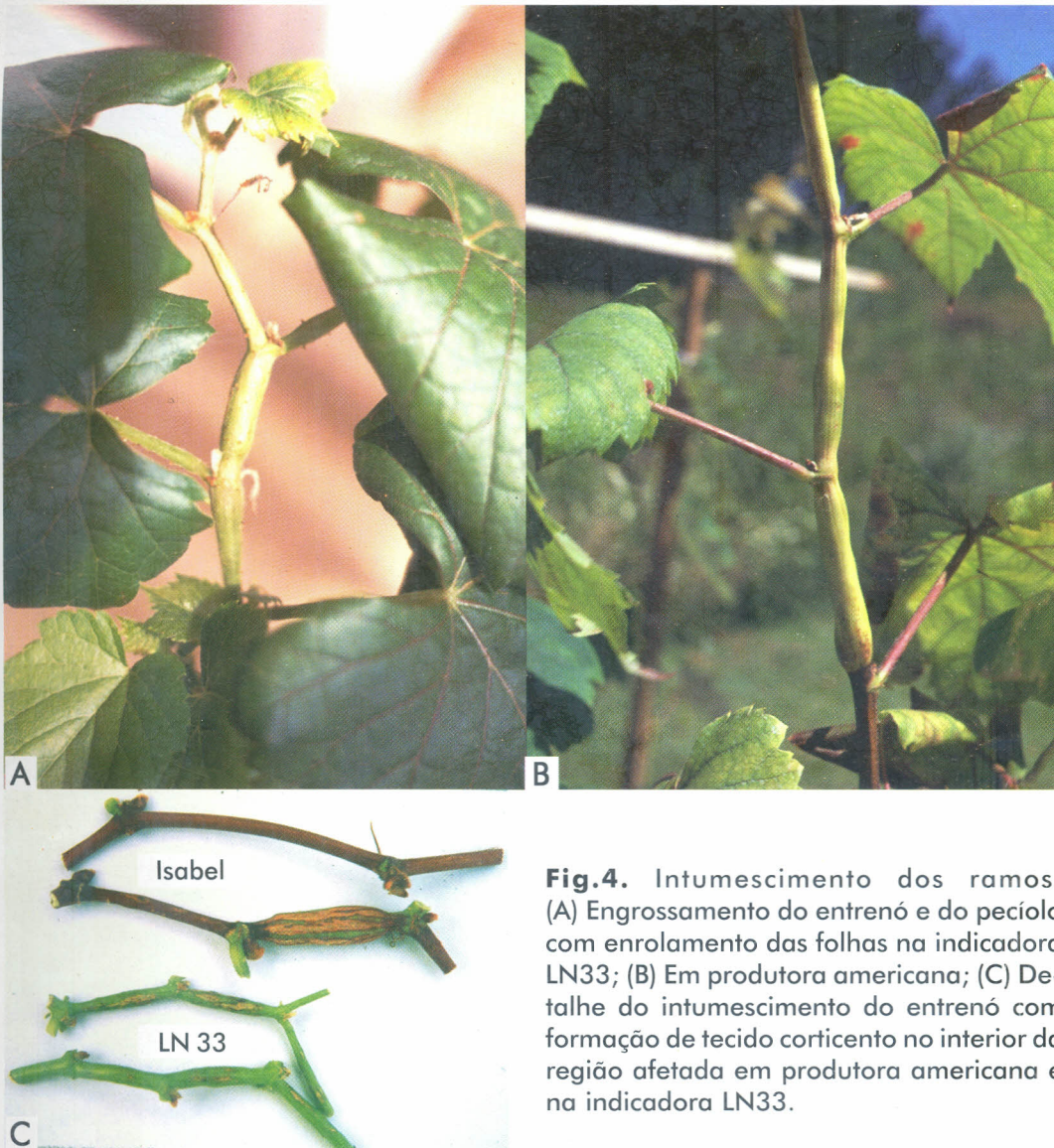


Fig.4. Intumescimento dos ramos. (A) Engrossamento do entrenó e do pecíolo com enrolamento das folhas na indicadora LN33; (B) Em produtora americana; (C) Detalhe do intumescimento do entrenó com formação de tecido corticento no interior da região afetada em produtora americana e na indicadora LN33.

lhamento intenso nas folhas, em cultivares tintas (Fig. 5A e 5B), ou amarelamento e enrolamento dos bordos foliares, em cultivares brancas (Fig. 5C), que se evidenciam no outono. Essa coloração anormal abrange toda a área foliar, inclusive os tecidos ao longo das nervuras e, em viníferas, está associada ao complexo rugoso da videira do qual o intumescimento dos ramos é um dos componentes.

Outro sintoma associado à presença do vírus é o engrossamento na região da enxertia, principalmente em mudas de 1 a 3 anos. Forma-se nessas um volume excessivo de tecido de consistência esponjosa na região e acima da enxertia. O tecido, quando maduro, adquire aspecto

corticento e apresenta fendilhamentos longitudinais. Até o momento o único hospedeiro natural conhecido para o vírus é a videira.

Epidemiologia

O patógeno é disseminado pelo material vegetativo, por meio da multiplicação por estacas ou gemas, e é transmitido pela enxertia. A disseminação natural do intumescimento dos ramos foi relatada em Israel e no México associada à possível atuação de um inseto vetor. Posteriormente, foi realizada a transmissão experimental do GVB por cochonilhas da família *Pseudococcidae*: *Planococcus ficus*,



Fig.5. Complexo rugoso da videira. (A) Sintoma inicial em folha de cultivar vinífera tinta; (B) Planta de cultivar vinífera tinta com avermelhamento intenso das folhas; (C) Em folha de cultivar vinífera branca, mostrando amarelamento e enrolamento do limbo foliar (direita) e folha sadia (esquerda).

Planococcus citri, *Pseudococcus longispinus* e *Pseudococcus affinis*. Também não há constatação de contaminação de plantas por meio de ferramentas e tesoura de poda.

Caneluras-do-tronco-da-videira

Esta doença é conhecida na maioria das áreas vitícolas do mundo. No Brasil é conhecida com o nome de caneluras do tronco ou cascudo. Os níveis de incidência da doença variam, dependendo da cultivar, de 3% a 10%, mas podem ser superiores a 50% em cultivares muito suscetíveis nos vinhedos com mais de 12 anos.

A severidade dos sintomas depende da combinação produtora/porta-enxerto, suscetibilidade de cultivares e virulência da estirpe do vírus. Nas combinações mais sensíveis, a doença causa o declínio e a subsequente morte da planta, que pode ocorrer aos 7-8 anos após a infecção. O declínio sempre é acompanhado de uma progressiva redução da colheita até a improdutividade total da planta.

Agente causal

A etiologia das caneluras-do-tronco não está totalmente esclarecida, pertencendo, porém, ao complexo rugoso da

videira. As caneluras-do-tronco são devidas à presença de uma ou mais das seguintes viroses: “*Rupestris stem pitting*”, “*Kober stem grooving*” e “*LN33 stem grooving*”. Ao “*Rupestris stem pitting*” e ao “*Kober stem grooving*” estão especificamente associados os vírus “*Rupestris stem pitting associated virus*” (RSPaV) e “*Grapevine virus A*” (GVA), respectivamente.

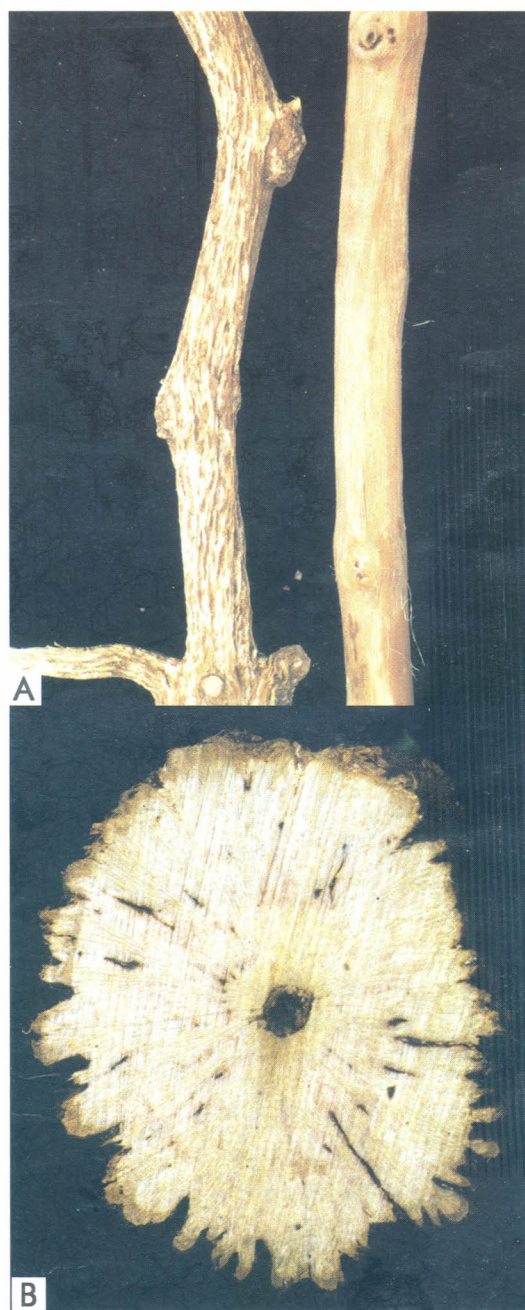
Recentemente foi caracterizado o RSPaV, pertencente ao gênero *Foveavirus*, e possuindo partículas alongadas e flexuosas, com cerca de 800 nm de comprimento, RNA fita simples com aproximadamente 8700 nucleotídeos e proteína capsial de 28 kDa. Este vírus tem sido identificado como agente causal de caneluras em tronco de videiras, em particular, aquelas induzidas na indicadora *Rupestris*. Não é transmitido mecanicamente, via inoculação com extrato foliar.

GVA é transmissível para hospedeiros herbáceos (*Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor*, *Gomphrena globosa* e *Nicotiana* spp). Possui partículas alongadas com cerca de 800 nm de comprimento e RNA fita simples com aproximadamente 7.400 nucleotídeos. As subunidades da capa protéica têm 22,5 kDa de peso molecular. GVA e GVB apresentam certo nível de relacionamento sorológico.

Sintomatologia

Em cultivares sensíveis, caneluras são observadas sob a casca do tronco da videira na superfície do lenho. As caneluras correspondem ao local onde a casca penetra no tronco prejudicando a formação dos vasos condutores da seiva (Fig. 6A e 6B). O número de caneluras, o seu comprimento e a largura variam de acordo com a sensibilidade da cultivar afetada e com a estirpe do patógeno. As plantas doentes, em geral, têm seu vigor diminuído e há retardamento na brotação das gemas, de uma a duas semanas. A casca do tronco é mais grossa e de aspecto corticento. Em algumas combinações enxerto/porta-

enxerto, os sintomas podem se limitar a um dos componentes, quando o outro é tolerante. Os porta-enxertos normalmente mostram sintomas nítidos da doença (Fig. 7). Muitas cultivares de produtoras viníferas e americanas são altamente suscetíveis (Fig. 8A e 8B). As caneluras podem ser observadas até nas raízes, especialmente em cultivares muito suscetíveis, como o porta-enxerto



Fotos: G. B. Kuhn

Fig.6. Caneluras-do-tronco-da-videira. (A) Tronco de videira vinífera mostrando as caneluras do tronco (esquerda), (B) Corte transversal em tronco de videira vinífera mostrando reentrâncias no lenho do tronco.

Rupestris du Lot. Também pode ocorrer na região da enxertia uma diferença de diâmetro entre o enxerto e o porta-enxerto. As folhas das cultivares tintas podem apresentar avermelhamento em plantas muito afetadas em função da formação anormal dos vasos condutores na região afetada. A morte de plantas normalmente ocorre entre 6 e 10 anos de idade, e até mais cedo, quando ambas as cultivares (porta-enxerto e enxerto) são sensíveis. Em muitas cultivares a doença permanece em estado latente.

Foto: G.B. Kuhn



Fig.7. Porta-enxerto Rupestris du Lot com sintomas das caneluras do tronco, evidenciando a penetração da casca no lenho (direita) e sadio (esquerda).

Epidemiologia

A disseminação de longa distância das caneluras-do-tronco ocorre pelo material vegetativo contaminado, e a transmissão, por meio de enxertia. Demonstrou-se que GVA pode ser transmitido entre videiras ou para hospedeiras herbáceas pelas cochonilhas



Fig.8. Caneluras-do-tronco-da-videira. (A) Detalhe das caneluras no lenho num tronco de produtora vinífera; (B) Ramos de videira americana com caneluras do tronco, evidenciando a penetração da casca no lenho.

da família *Pseudococcidae*: *Pseudococcus longispinus*, *Pseudococcus affinis*, *Planococcus citri* e *Planococcus ficus*, havendo ainda um relato de transmissão por *Neopulvinaria innumerabilis* (*Coccidae*). Em relação ao RSPaV não há vetor relatado para este vírus. Também não se tem registro da transmissão das caneluras do tronco de uma videira a outra por meio de ferramentas ou tesoura de poda.

Degenerescência-da-videira

A degenerescência é uma das mais antigas e bem caracterizadas das viroses da videira. É conhecida como “*Court noué*” ou “*Dégénérescence infectieuse*”, na França, e “*Grapevine fanleaf degeneration*”, nos Estados Unidos, e ocorre em todos os países vitícolas. No Brasil, essa doença tem pouca expressão, com incidência de 2% a 3%.

Nos Estados Unidos e na Europa, a doença é uma das mais importantes economicamente. Os danos causados variam com a cultivar afetada e com a estirpe do vírus. As cultivares mais sensíveis sofrem um declínio progressivo, queda de até 80% na produção, perda de qualidade da uva, diminuição na pega da enxertia e no enraizamento das mudas.

Agente causal

O vírus dos entrenós curtos (“*Grapevine fanleaf virus*”, GFLV) é o agente causador da doença. Possui partículas isométricas de 30 nm de diâmetro, pertence à família *Comoviridae* e ao gênero *Nepovirus*, é triparticulado e seu genoma é composto por dois RNAs (RNA 1 e RNA 2) de fita simples e senso positivo (infectivo), ambos necessários à infecção. O capsídeo do GFLV é composto de subunidades de uma proteína de 54 kDa, codificada pelo RNA 2.

GFLV é transmissível pela via mecânica para mais de 30 espécies de sete

famílias botânicas. *Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor*, *Gomphrena globosa* e *Cucumis sativus* são os principais hospedeiros herbáceos; a reação pode ser latente e variar segundo o isolado do vírus.

Sintomatologia

A doença afeta todos os órgãos da videira. Nas folhas ocorrem deformações com distribuição anormal das nervuras; ângulo do pecíolo muito aberto ou fechado; assimetria foliar com dentes pontiagudos e redução do tamanho, além de manchas translúcidas de formas variadas observadas, normalmente, na primavera. Nos ramos, observam-se entrenós curtos, bifurcações, achatamentos e nós duplos (Fig. 9A), proliferação de gemas e brotação fraca e atrasada. Nos cachos, o número e tamanho das bagas são menores e há formação de bagoinhas, ou seja, bagas que permanecem pequenas e verdes (Fig. 9B).

Outro sintoma é a coloração amarelo-ouro nas folhas, causada por uma estirpe específica do GFLV que induz o mosaico-amarelo. Esse amarelecimento ocorre primeiro como manchas pequenas de forma e tamanho distintos, normalmente de distribuição irregular na lâmina foliar (mosaico), e evolui, em seguida, para uma coloração amarelo-ouro (Fig. 10). Outra estirpe do vírus causa somente o amarelecimento do tecido ao longo das nervuras principais e pode se estender às nervuras secundárias (Fig. 11). As folhas com amarelecimento nas nervuras podem ficar assimétricas. Geralmente, as plantas doentes são menos desenvolvidas.

As indicadoras herbáceas *Chenopodium amaranticolor* e *C. quinoa* reagem com sintomas sistêmicos de mosqueado e clareamento de nervuras nas folhas novas e, ocasionalmente, pequenas lesões locais cloróticas nas folhas inoculadas, quando inoculadas mecanicamente com GFLV (Fig. 12).



Fig.9. Degenerescência da videira. (A) Ramo exibindo bifurcação e achatamento, (B) cacho com formação de baguinhas (bagas que não se desenvolvem) em virtude da infecção pelo vírus dos entrenós curtos.

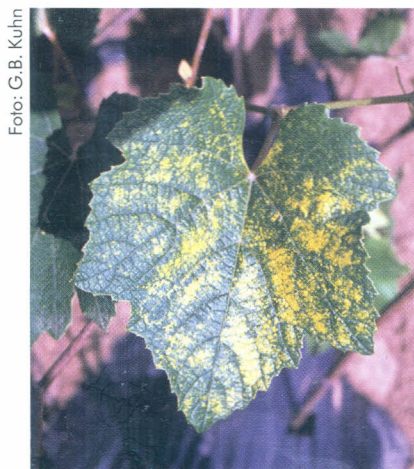


Fig.10. Mosaico-amarelo causado por estirpe do GFLV.

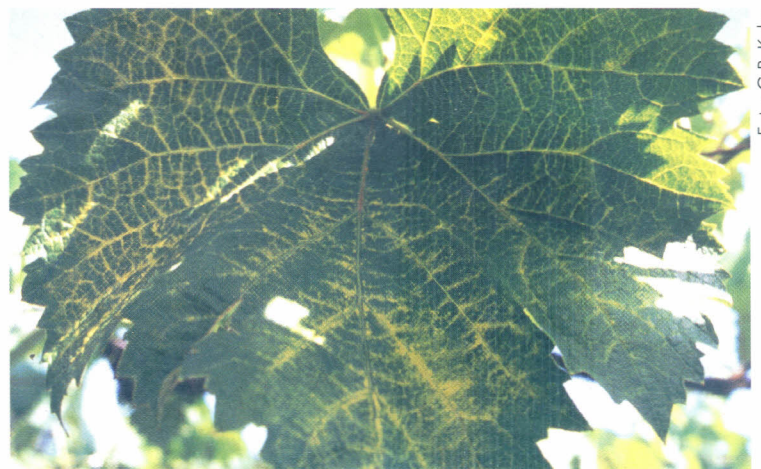


Fig.11. Faixa amarela nas nervuras causada por estirpe do GFLV.



Fig.12. *Chenopodium quinoa* exibindo pequenas lesões locais cloróticas e, inicialmente, mosqueado e clareamento de nervuras nas folhas inoculadas com GFLV.

Epidemiologia

O vírus é disseminado em vinhedos no Hemisfério Norte pelos nematóides *Xiphinema index* e *X. italiae*, sendo o *X. index* mais eficiente na transmissão do GFLV no campo. No Brasil, já foram constatadas quatro espécies de *Xiphinema* em videira, *Xiphinema americanum* (Sin. *X. brevicolle*), *X. index*, *X. brasiliensis* e *X. krugi*. Contudo, a possível atuação dessas espécies como vetoras de GFLV ainda necessita ser avaliada em vinhedos do País.

Os restos de raízes de plantas doentes que ficam no solo permanecem viáveis por alguns anos e servem de fonte de inóculo, em áreas infestadas por nematóides vetores.

Necrose-das-nervuras-da-videira

Descrita pela primeira vez na França com o nome de *Necrose des nervures de la vigne*, essa virose já foi identificada no Brasil.

A doença é conhecida nas principais regiões vitícolas do mundo e afeta ampla gama de cultivares. Na Itália, a doença foi verificada com frequência de até 80% em clones selecionados nas Regiões Central e Sul. No Brasil, a incidência da virose atingiu níveis de 70,8%, 46% e 34,4%, respectivamente, em cultivares de uvas viníferas, porta-enxertos e uvas comuns.

Nas cultivares afetadas, os efeitos parecem ser de pouca relevância econômica. Mesmo assim, por ser uma doença latente na quase totalidade das cultivares comerciais, e por sua alta ocorrência, tem sido normalmente incluída nos programas de seleção sanitária.

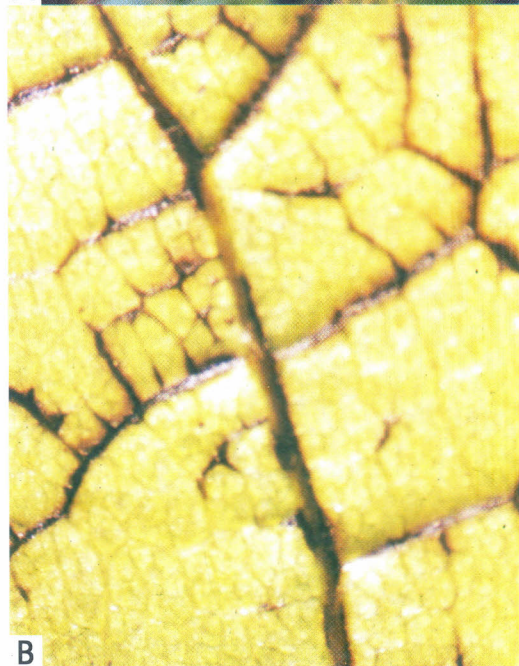
Agente causal

O patógeno causador da doença é desconhecido, perpetua-se através do material vegetativo, é transmitido por união de tecidos e pode ser eliminado por termoterapia.

Sintomatologia

Ocorre necrose nas nervuras, visível na página inferior das folhas da base, evoluindo para outras folhas com o crescimento do ramo (Fig. 13A e 13B). Quando a necrose é muito intensa, pode induzir enrugamento e assimetria da lâmina foliar. Na superfície dos ramos verdes e no pecíolo da folha ocorrem estrias necróticas. Nas plantas muito afetadas, a coloração

verde das folhas é bem menos intensa e a necrose das nervuras pode evoluir para manchas necróticas que abrangem grande parte da área foliar, em especial nas folhas da base. Esses sintomas são observados somente no porta-enxerto R110 (*Vitis rupestris* x *V. berlandieri*). Nas demais cultivares, a doença é latente. Além do R110, o porta-enxerto *Vitis berlandieri* x *V. riparia*, conhecido regionalmente com o nome de Solferino, reage à infecção com escurecimento em forma de estrias nos ramos e pecíolos e o franzimento das folhas.



Fotos: G.B. Kuhn

Fig.13. Porta-enxerto R110 afetado pela necrose das nervuras. (A) Planta no campo mostrando folha basal com sintoma; (B) detalhe das nervuras necrosadas.

Nessas duas cultivares, quando as plantas estão muito afetadas, ocorre severa redução do crescimento, que evolui para o definhamento total das plantas.

Epidemiologia

O patógeno perpetua-se no material vegetativo e é transmitido pela união de tecidos. As tentativas de transmissão por inoculação mecânica para plantas herbáceas, até o momento, não tiveram sucesso. Não há nenhuma constatação de contaminação de plantas através de ferramentas e tesoura de poda. Também não é conhecido nenhum vetor do patógeno. Não se conhece outro hospedeiro natural para o patógeno, além da videira.

Manchas-das-nervuras-da-videira

Constatada pela primeira vez na Califórnia, essa doença já foi registrada na maioria dos países vitícolas do mundo, inclusive no Brasil. Nenhum outro hospedeiro natural além da videira é conhecido.

A doença ocorre nos vinhedos brasileiros com frequência e com incidência de até 56% e 18,1% em cultivares de produtoras e de porta-enxertos, respectivamente. Tendo em vista sua alta ocorrência e por ser latente em praticamente todas as cultivares viníferas e de porta-enxertos, essa virose faz parte dos programas de seleção sanitária da maioria dos países vitícolas.

Agente causal

O agente causal é o vírus-das-manchas-das-nervuras-da-videira (“*Grapevine fleck virus*”, GFkV), gênero *Moculavirus*. Esse vírus não é transmissível mecanicamente, é limitado ao floema, possui partículas isométricas de 30 nm de diâmetro e RNA fita simples de cerca de 7,5 kb. As subunidades protéicas do capsídeo têm peso molecular de 28 kDa.

Sintomatologia

Os sintomas da doença localizam-se nas folhas novas e de meia idade da cultivar do porta-enxerto Rupestris du Lot, como manchas translúcidas, sem forma definida, que acompanham as nervuras, em especial as de terceira e quarta ordens. Essas manchas aparecem distribuídas em parte ou em toda a lâmina foliar (Fig.14). Outros sintomas comuns são a abertura excessiva do seio peciolar, a assimetria com distorção e a deformação das folhas. As plantas muito afetadas são menos desenvolvidas e podem apresentar as folhas com os bordos voltados para cima. O porta-enxerto Kober 5BB também mostra os sintomas da doença porém com menor intensidade. Nas demais cultivares comerciais, o vírus ocorre de forma latente.

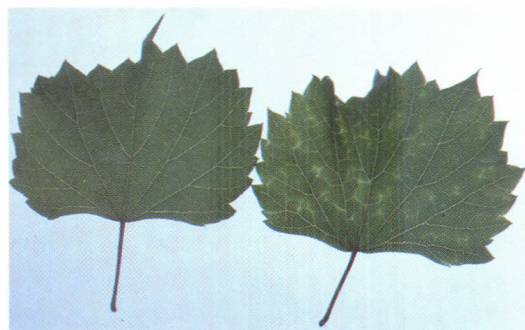


Foto: G.B. Kuhn

Fig.14. Folhas do porta-enxerto Rupestris du Lot afetado pela virose da mancha das nervuras (direita) e sadia (esquerda).

Epidemiologia

O vírus é disseminado pelo material vegetativo e transmitido pela enxertia. Não há constatação de contaminação de plantas através de ferramentas ou tesoura de poda.

A disseminação natural de GFkV em vinhedos tem sido observada, ligando esse fato à atuação de um possível vetor aéreo.

TÉCNICAS DE DIAGNOSE

Infecções múltiplas envolvendo diversos vírus são comuns em videiras, o que torna o diagnóstico baseado em sintomas de

campo praticamente impossível. Muitas cultivares não apresentam sintomas evidentes, seja porque a infecção é latente ou porque ela é influenciada por fatores como a reação varietal e a idade da planta. Outros fatores também podem induzir sintomas semelhantes aos causados por vírus, como carência ou excesso de nutrientes e ataque de outros patógenos ou pragas. Desse modo, as técnicas de diagnóstico são ferramentas valiosas para a identificação de infecções virais.

Entre as técnicas de diagnose inclui-se a indexagem biológica em plantas indicadoras lenhosas, em que os resultados podem demorar de 2 meses a 2 anos. Neste tipo de teste, são utilizadas como indicadoras cultivares de videira que reagem com sintomas característicos de cada vírus inoculado, normalmente, por enxertia verde ou de mesa. Apesar do tempo de avaliação e as variações na reação das plantas indicadoras que podem ocorrer, em função das condições ambientais, a indexagem biológica é necessária pela sua confiabilidade, e por oferecer informações relevantes sobre o comportamento biológico do isolado e sua identidade. As principais videiras indicadoras e as viroses e/ou vírus que elas detectam constam da Tabela 1.

Na indexagem biológica também pode-se utilizar plantas herbáceas indicadoras, tais como várias espécies de fumo (*Nicotiana* spp.), *Chenopodium quinoa* e *C. amaranticolor* (Fig. 12). A transmissão do vírus é feita pela inoculação mecânica, ou seja, friccionando o extrato foliar de videira sobre as folhas da indicadora herbácea. A indicadora reagirá com sintomas típicos de infecção viral em até duas semanas. A limitação dessa técnica está no reduzido número de indicadoras que reagem positivamente àqueles vírus que infectam videira.

As técnicas sorológicas baseiam-se no reconhecimento do antígeno (proteína viral) por um anticorpo produzido contra a proteína viral em animais como coelhos e camundongos. São importantes complementos do método biológico e, em muitas

situações, representam ótima alternativa. No teste sorológico ELISA, a combinação antígeno/anticorpo é detectada pela reação de uma enzima (conjugada ao anticorpo) com o seu substrato e a avaliação do teste é feita medindo-se a densidade ótica (cor) do produto da reação. ELISA, e suas variantes, é especialmente adequado para monitoramento, em programas que visam selecionar, manter e propagar material básico livre de vírus, sendo o teste mais amplamente utilizado com fruteiras em geral. Em videira, diversos vírus podem ser diagnosticados por sorologia, incluindo alguns de importância econômica. A Fig. 15 apresenta o resultado final do teste ELISA, desenvolvido especificamente para a detecção do GLRaV-3 em amostras foliares de videira. Assim, o diagnóstico sorológico apresenta-se como opção vantajosa pois pode reunir simplicidade, baixo custo, alta sensibilidade e confiabilidade.

O teste Dot-ELISA distingue-se do ELISA tradicional pelo suporte sólido que é utilizado. Em lugar da placa de microtitulação, o extrato foliar das amostras é depositado sobre uma membrana de nitrocelulose. Outra modificação importante ocorre no desenvolvimento da reação, em que se usam diferentes sistemas de substrato/enzima, e o produto da reação enzimática é insolúvel e de cor púrpura.

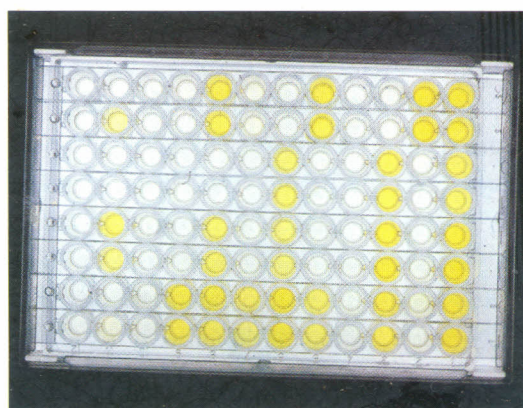


Foto: G. V. Barros

Fig.15. Placa mostrando o resultado final do teste ELISA, desenvolvido para a detecção do GLRaV-3 em diversas amostras foliares de videira. Poços de cor amarela indicam amostras infectadas e poços incolores correspondem a amostras sadias.

A amostragem é um fator extremamente crítico no diagnóstico sorológico, e a flutuação de concentração dos vírus, segundo a estação do ano, e a sua distribuição desuniforme nos tecidos vegetais podem produzir resultados falso-negativos. Assim, devem ser definidos fatores como época de coleta das amostras, tipo, idade e posição do tecido na planta. Essa situação aplica-se sobremaneira aos vírus que infectam videira, pois, em geral, estes apresentam baixa concentração nos tecidos vegetais, muitas vezes concentrando-se apenas em determinadas partes da planta, como acontece com o GLRaV, que se concentra especificamente no floema. Estas peculiaridades devem ser consideradas na execução do diagnóstico sorológico, caso contrário poderão dificultá-lo ou mesmo inviabilizá-lo.

Dessa forma, a realização do teste ELISA para a detecção dos vírus GLRaV, GVA e GVB é recomendada a partir de folhas de videira colhidas em final do ciclo vegetativo, utilizando-se principalmente as nervuras e os pecíolos. Já para o GFLV e o GFkV, o teste ELISA é indicado a partir de folhas colhidas em início do ciclo vegetativo. Nos estádios de desenvolvimento indicados, a concentração viral é mais elevada, permitindo a segura detecção viral.

Além da indexagem biológica e dos testes sorológicos, para o diagnóstico e a caracterização de vírus são utilizados métodos moleculares, que se valem das diferentes características da proteína capsídica e do ácido nucléico, constituintes básicos da partícula viral. Tais técnicas são complementares à sorologia para o diagnóstico e a caracterização viral, embora pouco adequadas para o diagnóstico rápido em grande número de amostras, e são ferramentas importantes na seleção de material básico.

As proteínas virais, que compõem a capa que envolve a partícula viral, podem ser separadas por eletroforese, procedimento no qual as proteínas migram através de géis impulsionadas por uma

corrente elétrica. As proteínas separadas são visualizadas pelo tingimento com corantes específicos e as informações obtidas por esse procedimento, a exemplo do peso molecular da proteína capsídica, auxiliam na caracterização e no diagnóstico viral.

A transferência *western blot*, comumente utilizada na caracterização de proteínas virais em videiras, é um método imunoeletroforético em que proteínas virais, em extratos de videiras infectadas, são separadas por eletroforese e, a seguir, transferidas e detectadas em membranas de nitrocelulose, pela reação com anticorpos específicos para o antígeno.

Conhecendo-se pelo menos parte da sequência de nucleotídeos do agente viral de interesse, é possível o diagnóstico via PCR (Reação em cadeia da polimerase). Esse é um processo automatizado de amplificação (aumento do número de cópias) cíclica do DNA molde do agente de interesse, conduzido em termocicladores. A avaliação é realizada pela visualização do DNA amplificado em géis submetidos a eletroforese (Fig. 16).

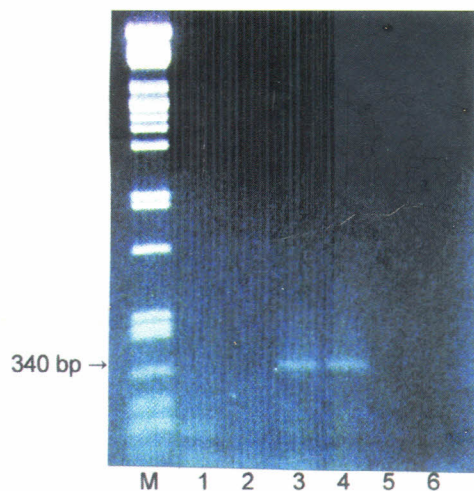


Fig.16. Análise eletroforética em gel de agarose 1,5%, corado com brometo de etídio, da amplificação por PCR de um fragmento de DNA de 340 bp (seta) obtido com "reagentes" (oligonucleotídeos) específicos para GLRaV-3. Amplificação a partir de RNA total extraído de pecíolos e nervuras foliares de videiras. Amostras 1, 2, 5 e 6, sadias, e amostras 3 e 4, infectadas com GLRaV-3.

A técnica de PCR é extremamente sensível e específica, possibilitando a detecção de quantidades ínfimas do patógeno dentro de uma amostra da planta infectada ou de um inseto vetor virulífero, o que torna o diagnóstico baseado nessa técnica bastante preciso.

CONTROLE

A metodologia de controle é comum a todas as viroses citadas e divide-se nos pontos a seguir.

Utilização de material propagativo sadio

O controle das viroses da videira somente é viável, no campo, por meio da utilização de material vegetativo sadio do porta-enxerto e da produtora. Como alguns dos vírus que afetam a videira podem ser latentes em muitas cultivares comerciais, ou seja, as plantas quando infectadas não mostram os sintomas característicos da doença, é impossível selecionar plantas sadias pela simples observação no campo. Faz-se necessário obter mudas ou material de propagação em locais que disponham de material comprovadamente livre de vírus.

Recomenda-se assim, na implantação ou renovação de vinhedos, a aquisição de mudas ou material propagativo certificados ou fiscalizados, ou seja, que tenham identidade varietal e garantia de sanidade. Esse tipo de material pode ser obtido em órgãos oficiais, que desenvolvam programas de produção de material vegetativo de videira livre de vírus, ou em viveiristas idôneos, que multipliquem material sadio sob controle de órgãos oficiais. Outra opção é a aquisição de mudas, via importação através do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de viveiristas que forneçam o certificado de sanidade expedido por órgão oficial do país de origem. A aquisição de mudas de uma fonte idônea dá maior segurança de que

não estejam afetadas por viroses, doenças difíceis de serem detectadas no momento da aquisição das mudas.

Não se recomenda que o viticultor produza suas mudas a partir da seleção de material vegetativo em seu próprio vinhedo ou de outros produtores, pois, como mencionado, os sintomas de infecção viral no campo nem sempre são evidentes. No entanto, caso o viticultor faça a opção de produzir sua própria muda, ele deve seguir épocas adequadas para selecionar plantas matrizes. Para o enrolamento, a melhor época é a do fim do ciclo vegetativo da planta, antes da queda das folhas, enquanto para as viroses do complexo rugoso a melhor época é a do período de repouso da planta.

A maioria dos viticultores e viveiristas está consciente do risco que os patógenos virais representam para sua atividade econômica. Uma vez infectada por vírus, é impossível curar uma planta no campo pelos métodos tradicionalmente utilizados para outras doenças. Somente técnicas como a cultura de tecido e/ou termoterapia são eficientes no controle das viroses de videira. Países onde a viticultura tem longa tradição há muito estabeleceram sistemas de limpeza clonal e distribuição de material propagativo. No Brasil, a Embrapa Uva e Vinho e outras instituições oficiais têm, ao longo de anos, desenvolvido programas de produção e distribuição de material vegetativo de videira livre de vírus.

Seleção sanitária

É feita em etapas, envolvendo uma série de atividades e testes biológicos até se chegar às plantas que servirão como fonte de propagação.

No vinhedo é feita a seleção massal, através de observações minuciosas, marcando-se as plantas sem sintomas aparentes e com boa produção. Em seguida, pode ser feita a seleção clonal, ou seja, de cada planta marcada são formados

clones e observados detalhadamente por um período de 2 ou mais anos. Tanto na seleção massal quanto na clonal, as observações são feitas em diversas épocas do ano, visto que os sintomas das viroses podem aparecer em diferentes estádios do desenvolvimento da planta. As plantas que se mostrarem aparentemente sadias na seleção morfológica são submetidas aos testes diagnósticos para comprovar sua sanidade. A técnica comumente usada para detectar vírus em plantas lenhosas é a indexagem sobre cultivares indicadoras específicas para cada vírus (Tabela 1).

Termoterapia associada ao cultivo *in vitro*

É o meio mais eficiente e seguro de obter planta sadia a partir de uma planta infectada por vírus. A técnica consiste em submeter a planta afetada a temperaturas entre 37 °C e 38 °C, umidade de 80% a 90% e fotoperíodo de 16 horas de luz, por período que varia, normalmente, de 30 a 150 dias, dependendo do vírus. Após o tratamento térmico, procede-se a micropropagação de segmentos caulinares de uma gema (1 a 2 cm), obtidos das extremidades dos brotos crescidos durante a termoterapia. Estes segmentos são cultivados e enraizados *in vitro*. Posteriormente, as plantas desenvolvidas são transferidas para vasos em casa de vegetação e submetidas a testes de diagnose para comprovar a eliminação dos vírus.

Controle de vetores

Os Ampelovirus (antigos *Closterovirus*) (GLRaV-1 e -3) e os *Vitivirus* (GVA e GVB) são transmitidos de maneira não circulativa semi-persistente pelas cochonilhas relatadas como vetoras. De modo geral, nesse tipo de relação vírus-vetor, os insetos podem transmitir o vírus após 15 minutos de acesso de aquisição, sendo que a eficiência na transmissão pode aumentar com períodos de alimentação mais longos, e cerca de 30 minutos de acesso de inoculação, não

havendo período latente. Os vetores retêm a habilidade de transmitir os vírus por períodos que variam de uma até 48 horas. O vírus não se replica nos vetores e não há passagem transovariana. Quando testada a transmissão de GLRaV-3 pelas cochonilhas *Pseudococcus longispinus* e *P. calceolariae*, só foi obtida a transmissão entre videiras pelo primeiro instar de ambas cochonilhas.

As dificuldades verificadas no controle de cochonilhas da videira, quando, além de pragas são também vetoras de vírus, estão exatamente em evitar a transmissão do patógeno, pois o vetor pode transmitir o vírus à planta antes de morrer em decorrência do efeito do inseticida. No caso de insetos-praga há conceitos que balizam um controle eficiente, tais como o manejo integrado de pragas e o nível de dano econômico, ou seja, a cultura pode conviver com um certo nível de infestação da praga sem sofrer prejuízos econômicos significativos e, portanto, sem justificar a interferência com defensivos químicos. Quando o mesmo inseto é vetor de vírus, esses conceitos não se aplicam, pois mesmo uma reduzida população de insetos pode eficientemente disseminar o vírus em campo. Por todos esses aspectos, o controle de insetos vetores de vírus, seja cochonilha ou outro qualquer (cigarrinha, etc.), é um tema importante que demanda estudos adicionais, específicos para cada situação, procurando definir questões como a eficiência e o alcance dessa prática.

Para o controle de vírus transmitidos por nematóides, devem-se eliminar as plantas (videiras) com o máximo das raízes e introduzir culturas pouco suscetíveis aos nematóides como alfafa e cereais, durante 7 a 10 anos. O tempo de cultivo dessas gramíneas pode ser maior ou menor dependendo da população dos nematóides e do tipo de solo, se arenoso ou argiloso. Caso se queira plantar a videira de imediato, deve-se fazer um tratamento rigoroso do solo com nematicida apropriado seguindo-se rigorosamente as recomendações de utilização do produto.