

Viroses e sua Importância na Viticultura Brasileira

Gilmar Barcelos Kuhn¹
Osamar Nickel²

RESUMO - A videira (*Vitis* spp.) é afetada por inúmeras viroses e muitas constituem causas da baixa produtividade e da perda de qualidade da uva. Das viroses de importância para a viticultura mundial, já foram identificadas no Brasil quatro de maior relevância: enrolamento da folha (*leafroll*), intumescimento dos ramos (*corky bark*), caneluras do tronco (*stem grooving*, *stem pitting*) e degenerescência da videira (*fanleaf*); e duas de menor relevância econômica que ocorrem de forma latente na maioria das cultivares: necrose das nervuras (*vein necrosis*) e manchas das nervuras (*fleck*). No presente trabalho, é feito um breve relato sobre estas doenças, abrangendo incidência, danos, etiologia, sintomatologia, epidemiologia, diagnose e controle.

Palavras-chave: Diagnose; Seleção sanitária; Termoterapia; *Vitis* spp.

INTRODUÇÃO

São conhecidas na videira (*Vitis* spp.) dezenas de doenças consideradas de origem viral (Martelli, 1993). 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 a certas tendências regionais, como o plantio de cultivares sensíveis ou em razão das

condições edafoclimáticas regionais que favorecem a ocorrência de vetores.

VIROSES CONHECIDAS NO BRASIL

Nas regiões vitícolas brasileiras, onde a videira tem importância econômica e social, a presença de viroses tem sido uma constatação comum. Das viroses de importância para a viticultura mundial, foram identificadas no Brasil, enrolamento da folha, intumescimento dos ramos, caneluras do tronco e degenerescência da videira, além da necrose das nervuras e manchas das nervuras.

Enrolamento da folha da videira

A natureza viral da doença do enrolamento da folha foi demonstrada pela primeira vez na Alemanha, nos anos 30. Na Califórnia, a doença foi inicialmente chamada de *White Emperor disease*. Atualmente, é conhecida por *grapevine leafroll virus*.

No Brasil, a virose foi constatada no estado de São Paulo e no Rio Grande do Sul, atingindo de 78 a 98% das produtoras, tintas e americanas, enquanto que, nos porta-enxertos, observou-se sua ocorrência em 15,6 a 33% das plantas amostradas (Kuniyuki & Costa, 1987 e Kuhn, 1989b).

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 pela virose variam em função da suscetibilidade varietal, estirpe do vírus e intensidade da infecção. Em plantas da cultivar Cabernet Franc, vinífera tinta mais

plantada para a elaboração de vinho fino, severamente afetadas em comparação com as plantas sadias, verificou-se redução de 42,4% no número de cachos; de 61,8% no peso da produção; de 65,2% no vigor, expresso pelo peso da poda hibernar; e de 2,7°Brix ou 25,6 g/l, no teor de açúcares redutores da uva (Kuhn, 1989a). 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 (Zanuz et al., 1992).

Agente causal

O agente causal do enrolamento da folha ainda não foi definitivamente caracterizado. Até o presente, isolaram-se sete vírus *grapevine leafroll associated virus - 1 a 7* (GLRaV - 1 a 7), associados aos tecidos de videiras afetadas (Boscia et al., 1995). Embora ainda não exista prova definitiva da relação causa-efeito entre enrolamento e estes vírus, há consenso de que essa disfunção seja causada por um complexo viral.

Trata-se de vírus pertencentes ao gênero *Closterovirus*, monoparticulados, flexíveis e filamentosos de 1.500-2.200 nm com genomas de ssRNA (fita simples), de 15 a 20 kb (mil pares de bases) e peso molecular das subunidades da capa protéica (cp) de 35 a 43 kDa, exceto em GLRaV-2 que é de 26 kDa (Zimmermann et al., 1990 e Murphy et al., 1995). GLRaV-2 e, aparentemente, GLRaV-3 são transmissíveis por via mecânica para hospedeiros herbáceos, cujo espectro é restrito, basicamente, a *Nicotiana* spp. (Monette et al., 1990).

Sintomatologia

Além da videira, nenhum outro hospedeiro natural é conhecido para a doença.

¹Eng^o Agr^o, M. Sc., Pesq. EMBRAPA-CNPV, Caixa Postal 130, CEP 95700-000 Bento Gonçalves, RS.

²Eng^o Agr^o, Ph.D., Pesq. EMBRAPA-CNPV, Caixa Postal 130, CEP 95700-000 Bento Gonçalves, RS.

As plantas afetadas apresentam sintomas que variam com as condições climáticas, época do ano, fertilidade do solo, estirpe do vírus e cultivar. São facilmente reconhecidos em cultivares sensíveis, em especial no fim do ciclo vegetativo, antes da queda das folhas. Em plantas muito afetadas, os sintomas podem começar a se pronunciar a partir da floração, porém é mais comum que se expressem na época próxima à maturação da uva. O sintoma mais característico da doença é o enrolamento dos bordos da folha para baixo, observado com relativa facilidade nas cultivares européias (*Vitis vinifera*) tintas e brancas. Nas viníferas tintas, o limbo toma uma coloração vermelho-violácea, permanecendo o tecido ao longo das nervuras principais com a cor verde normal. Nas viníferas brancas infectadas, o limbo toma uma leve coloração amarelo-pálida, às vezes mais pronunciada no tecido ao longo das nervuras principais. Se a infecção é severa, as plantas afetadas podem ser facilmente detectadas. Já no caso de estirpes menos agressivas do vírus, a diferenciação entre plantas doentes e sadias de viníferas brancas torna-se mais difícil, ocorrendo apenas um leve enrolamento das folhas e clorose entre as nervuras principais. Nas cultivares viníferas, tanto as brancas como as tintas, o limbo das folhas das plantas infectadas tem 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, os sintomas podem-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. Observam-se, apenas 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.

No cacho, o sintoma mais comum, em especial nas cultivares viníferas tintas, é a maturação irregular e retardada da uva, que chega a não se completar em plantas muito afetadas. Além disso, nas plantas mais afetadas, o número e o tamanho dos cachos são menores. Na vegetação, verifica-se um acentuado enfraquecimento, que dá à planta um aspecto nítido de definhamento.

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; 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.

Epidemiologia

A disseminação natural do vírus nos vinhedos por vetores começou a ser considerada a partir da década de 80, com a constatação de que GLRa V-2 e V-3 eram transmitidos de videira para videira pelas cochonilhas *Planococcus ficus*, *P. longispinus* e *Pseudococcus affinis* (Roscioglione et al., 1983, Boscia et al., 1993 e Golino et al., 1995).

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

Intumescimento dos ramos da videira

Esta doença foi descrita pela primeira vez na Califórnia com o nome de *grapevine rough bark*. Posteriormente, foi denominada *grapevine corky bark* e considerada de origem viral. Até o momento, o único hospedeiro natural conhecido para o vírus é a videira (*Vitis* spp.).

O intumescimento dos ramos ocorre na maioria dos países vitícolas e afeta muitas cultivares comerciais de produtoras e de porta-enxertos, sem que estas apresentem sintomas aparentes. No Brasil, constatou-se a doença em cultivares de produtoras e

de porta-enxertos numa incidência de até 20 e 4%, respectivamente (Kuniyuki & Costa, 1987 e Kuhn, 1992a).

O vírus induz a redução do vigor, a queda na produção e o definhamento de ramos em cultivares suscetíveis. Nas cultivares americanas 'Isabel', 'Niágara Rosada' e 'Niágara Branca' ocorre queda progressiva de produtividade, a uva não completa a maturação, há queda no teor de açúcar e a planta pode morrer em poucos anos. Nas cultivares de *Vitis vinifera*, o vírus, quando associado ao sintoma de engrossamento na região da enxertia, causa a morte de mudas nos primeiros dois a três anos após a enxertia (Kuhn, 1992a).

Agente causal

O vírus do intumescimento do ramo da videira, *grapevine virus B* (GVB), até recentemente classificado como Trichovírus, foi transferido para o novo gênero dos Vitivírus (Martelli et al., 1994), juntamente com os vírus *grapevine virus A* (GVA), *grapevine virus C* (GVC), *grapevine virus D* (GVD) isolados de videiras afetadas pelo *rugose wood complex* (Martelli, 1993). GVB é especificamente associado ao intumescimento do ramo (Bonavia et al., 1996). Seu genoma é constituído de ssRNA de senso positivo e de cerca de 700-800 nm de comprimento, e subunidades da cp que variam de 22,5 a 23 kDa (Boscia et al., 1993). Como os outros ex-trichovírus de videiras, o GVB é transmissível por via mecânica para uma gama de hospedeiros herbáceos, a maioria *Nicotiana* spp.

Sintomatologia

Nas cultivares americanas (*Vitis labrusca*), como a 'Isabel', 'Niágara Rosada' e 'Niágara Branca', os sintomas são facilmente observados e caracterizam-se pelo intumescimento dos entrenós do ramo do ano, com fendilhamento longitudinal do tecido afetado. Estes 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 morre e fica com um aspecto corticento. Sob este tecido observam-se caneluras. Os ramos afetados tendem a se curvar para baixo, sendo destacados da planta com facilidade, principalmente quando há formação de tecido corticento na região de sua inserção.

A maturação do ramo é irregular e, normalmente, ele seca total ou parcialmente no período de repouso da planta. 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. A uva não completa a maturação e a planta definha gradativamente, com a seca parcial ou total dos ramos afetados, e pode morrer em poucos anos. Em algumas cultivares viníferas e híbridas, pode ser observado o avermelhamento ou amarelamento das folhas, que se evidencia no outono. Esta coloração anormal abrange toda a área foliar, inclusive os tecidos ao longo das nervuras. No entrenó da base do ramo do ano, ocorrem fissuras e há formação de tecido corticento na região de inserção. Outro sintoma associado à presença do vírus é o engrossamento na região da enxertia, principalmente em mudas de um a três anos. Forma-se 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. Quando este tecido é retirado, verifica-se, na superfície do lenho, a presença de caneluras que avançam em direção ao tronco da produtora. Até o momento, o único hospedeiro natural conhecido para o vírus é a videira (*Vitis* spp.).

Epidemiologia

O patógeno é transmitido através do material vegetativo, seja pela multiplicação por estacas ou gemas, seja através de enxertia. A dispersão natural do vírus não é conhecida, embora em países como o México e Israel seja mencionada, em determinadas regiões, uma rápida disseminação da doença nos vinhedos. Há algumas evidências de transmissão experimental do vírus através das cochonilhas *Planococcus ficus* e *Pseudococcus affinis* (Boscia et al., 1993) e por cigarrinhas (Moutous & Hevin, 1986). Não há nenhuma constatação de contaminação de plantas através de ferramentas e tesoura de poda.

Caneluras do tronco da videira

Esta doença é conhecida na maioria das áreas vitícolas do mundo. Foi descrita pela primeira vez na Itália com o nome de *legno riccio*, sendo também conhecida

como *stem-pitting*, *wood-pitting* e mais recentemente *rugose wood complex*. No Brasil, a doença é conhecida com o nome de cascudo e caneluras do tronco. Dependendo da cultivar, os níveis de incidência da doença variam de 3 a 10%, mas podem ser superiores a 50% em cultivares muito suscetíveis em vinhedos com mais de 12 anos (Kuniyuki & Costa, 1987 e Kuhn, 1992c).

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

Agente causal

Também pertencente ao *rugose wood complex*, a etiologia das caneluras não está esclarecida. Estão incluídos no complexo os Víti-vírus GVA, GVB, GVC e GVD (Chevalier et al., 1995 e Garau et al., 1994). Os componentes do *rugose wood complex* (*Rupestris stem pitting* - caneluras; *Corky bark* GVB - intumescimento do ramo; *Kober stem grooving* GVA e LN33 *stem grooving* - acanaladuras) podem ser separados através de testes de indexagem com as cultivares indicadoras 'Rupestris du Lot', 'LN33' e 'Kober 5BB' (Martelli, 1993). GVA é transmissível para hospedeiros herbáceos (*C. quinoa*, *C. amaranticolor*, *Gomphrena globosa*) e para várias *Nicotiana* spp. GVA, GVC e GVD possuem partículas de cerca de 700 a 825 nm, com ssRNA de cerca de 7349 a 7600 nucleotídeos (nt) e subunidades de cp de 20, 45 a 22,5 kDa. São transmissíveis para *C. quinoa*, *C. amaranticolor* e *G. globosa* (GVA) e várias *Nicotiana* spp. (GVA, GVB e GVD) (Agran et al., 1990, Monette & James, 1990 e Monette & Green, 1992).

Sintomatologia

Em cultivares sensíveis observa-se, sob a casca do tronco da videira na superfície do lenho, a formação de caneluras, que correspondem ao local onde a casca penetra no tronco, prejudicando a formação dos vasos condutores da seiva. O número de caneluras, seu comprimento e sua largura

variam, dependendo da sensibilidade da cultivar afetada e da estirpe do patógeno. As plantas doentes, em geral, diminuem o vigor 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. Muitas cultivares produtoras européias e americanas têm-se mostrado altamente suscetíveis. As caneluras podem ser observadas até nas raízes, especialmente em cultivares muito suscetíveis, como a do porta-enxerto '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 deficiente dos vasos condutores na região também afetada. A morte de plantas normalmente ocorre entre seis e dez anos de idade e até mais cedo, quando ambas as cultivares (porta-enxerto e enxerto) são muito sensíveis. Em muitas cultivares, a doença permanece em estado latente.

Epidemiologia

A disseminação a longa distância dos vírus do *rugose wood complex* (caneluras) ocorre por via do material vegetativo contaminado e através de enxertia. As primeiras evidências da dispersão natural de um dos componentes do complexo (intumescimento) foram obtidas no México e em Israel, corroborada posteriormente por relatos similares da África do Sul (Tanne et al., 1989; Engelbrecht & Kasdorf, 1990). Demonstrou-se que GVA pode ser transmitido de videiras para hospedeiros herbáceos pelas cochonilhas *Pseudococcus longispinus*, *Planococcus citri*, *P. ficus* e *Pseudococcus affinis* (Agran et al., 1990 e Roscioglione et al., 1983). Não se tem registro da transmissão de nenhum dos componentes do complexo de uma videira a outra através 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. Sua ocorrência é assinalada em todos os países vitícolas (Bovey et al., 1980). No Brasil, essa doença tem pouca expressão, com incidência de 2 a 3% (Kuniyuki & Costa, 1987 e Kuhn, 1992c).

Nos Estados Unidos e na Europa, a doença é uma das mais importantes economicamente. Os danos causados variam com a cultivar afetada e 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 (Martelli & Savino, 1988).

Agente causal

O vírus que causa a doença *grapevine fanleaf virus* (GFLV) possui partículas isométricas de 30nm de diâmetro, e pertence à família *Comoviridae* e ao gênero *Nepovirus* (Quacquarelli et al., 1976). GFLV é triparticulado. Seu genoma possui duas espécies de RNA, ambas necessárias à infecção, de fita simples e senso positivo (infectivo) RNA1 e RNA2. Também ocorrem moléculas lineares ou circulares de RNA de baixo peso molecular, chamadas satélite (RNA3), que às vezes interferem na expressão dos sintomas (Murphy et al., 1995). GFLV é facilmente transmissível por via mecânica, para mais de 30 espécies de sete famílias botânicas (Martelli & Savino, 1988). *C. quinoa*, *C. amaranticolor*, *Cucumis sativus* e *G. globosa* são os principais hospedeiros herbáceos; a reação pode ser latente e variar segundo o isolado do vírus (Savino et al., 1985). Os capsídeos de nepovírus são compostos de uma proteína de 55-60 kDa.

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; redução do tamanho, além de manchas translúcidas de formas variadas observadas, normalmente, na primavera. Nos ramos, são vistos entrenós curtos, bifurcações, achatamentos e nós duplos, 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.

Outro sintoma é a coloração amarelo-ouro nas folhas, causada por uma estirpe específica do vírus 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. Outra estirpe do vírus causa somente o amarelecimento do tecido ao longo das nervuras principais e pode se estender às nervuras secundárias. As folhas com amarelecimento nas nervuras podem ficar assimétricas. Geralmente, as plantas doentes são menos desenvolvidas.

Epidemiologia

O vírus é disseminado no vinhedo pelos nematóides *Xiphinema index* Thorne & Allen e *X. italiae* Meyl, sendo o *X. index* mais eficiente na transmissão do vírus no campo. 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 (Martelli & Savino, 1988).

Necrose das nervuras da videira

Descrita pela primeira vez na França com o nome de *necrose des nervures de la vigne* (Legin & Vuittenez, 1973), essa virose já foi identificada no Brasil (Kuhn, 1994 e Kuniyuki et al., 1997).

A doença é conhecida nas principais regiões vitícolas do mundo, e afeta ampla gama de cultivares (Martelli, 1993). Na Itália, a doença foi verificada com frequência de até 80% em clones selecionados nas regiões Central e Sul (Martelli & Prota, 1985). No Brasil, a incidência do vírus atingiu níveis de 70,8%, 46% e 34,4%, respectivamente, em cultivares de uvas viníferas, porta-enxertos e uvas comuns (Kuhn, 1994 e Kuniyuki et al., 1997).

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, bem visível na página inferior das folhas da base, evoluindo para outras folhas com o crescimento do ramo. Quando a necrose é muito intensa, pode induzir um enrugamento e uma 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. Estes sintomas são observados somente no porta-enxerto 'R110' (*Vitis rupestris* x *Vitis berlandieri*). Nas demais cultivares, a doença é latente. Além do 'R110', o porta-enxerto *V. berlandieri* x *V. riparia*, conhecido regionalmente com o nome de 'Solferino', reage à infecção, embora com escurecimento em forma de estrias nos ramos e pecíolos e o franzimento das folhas (Kuhn, 1994). Nestas duas cultivares, quando as plantas estão muito afetadas, ocorre severa redução do crescimento, que evolui para o definhamento total das plantas.

Epidemiologia

O patógeno é transmitido através do material vegetativo e 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, nos vinhedos, 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 (Martelli, 1993), inclusive no Brasil

(Kuniyuki & Costa, 1987 e Kuhn, 1992b). Nenhum outro hospedeiro natural além da videira é conhecido.

A doença tem ocorrido nos vinhedos brasileiros com frequência. A incidência tem sido de até 56% e 18,1% em cultivares de produtoras e de porta-enxertos, respectivamente (Kuniyuki & Costa, 1987 e Kuhn, 1992b). 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 um vírus não-transmissível por via mecânica, com partículas isométricas de ssRNA de tamanho aparente de 7,4kb. As subunidades protéicas do capsídeo têm peso molecular de 28kDa (Boulila et al., 1990 e Boscia et al., 1991).

Sintomatologia

Os sintomas da doença localizam-se nas folhas novas e de meia-idade da cultivar do porta-enxerto 'Rupestris St. George', como manchas translúcidas, sem forma definida, que acompanham as nervuras, em especial as de 3ª e 4ª ordens. Estas manchas aparecem distribuídas em parte ou em toda a lâmina foliar. 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 intensidade menor. Nas demais cultivares comerciais, o vírus ocorre de forma latente.

Epidemiologia

O vírus é transmitido através do material vegetativo e da enxertia. Não é conhecido nenhum vetor e não há constatação de contaminação de plantas através de ferramentas ou tesoura de poda.

TÉCNICAS DE DIAGNOSE

Os métodos de diagnóstico das viroses da videira podem ser agrupados em três segmentos. Os dois primeiros e mais tradicionais incluem a indexagem biológica e o diagnóstico serológico e imunoenzimático. Mais recentemente desenvolveram-se os métodos de diagnóstico molecular.

A indexagem biológica utiliza plantas indicadoras que reagem com sintomas típicos, quando infectadas. As principais indicadoras constam no Quadro 1.

A serologia é um importante complemento do método biológico; em muitas situações representa ótima alternativa. O teste imunoenzimático ELISA, especialmente o tipo direto de duplo sanduíche "ELISA" (Clark & Adams, 1977), é um dos mais difundidos para o diagnóstico de vírus de plantas. Outros testes de ELISA e variantes indiretas trabalham com fragmentos F(ab)2 de anticorpos, com anticorpos produzidos em espécies diferentes de animais e com anti-anticorpos. Com estas variantes, pode-se aumentar a sensibilidade da detecção de estirpes de um mesmo vírus remotamente relacionadas, ou incrementar a capacidade de diferenciação de estirpes próximas de um mesmo vírus (Barbara & Clark, 1982 e Koenig, 1985). Dot-ELISA e NC-ELISA são essencialmente iguais ao DIBA (*dot immuno-binding assay*), que difere somente pela ligação de antígenos a uma membrana de nitrocelulose e cujo produto da reação enzimática é insolúvel (Hibi & Saito, 1985).

Os métodos biológicos e imunoenzimáticos têm importância fundamental em programas para produzir, manter e propagar material básico livre de vírus.

Entretanto, a indexação biológica e ELISA (e variantes) têm algumas limitações. A amostragem (época e tipo de

tecido) é crítica, e muitos vírus ocorrem em concentrações baixas, às vezes abaixo do limite de detecção. Há relatos de variação na reação de plantas indicadoras, segundo as condições ambientais. Finalmente, o tempo necessário à expressão de sintomas em indicadoras pode chegar a mais de dois anos, o que torna o teste oneroso.

Grande parte dos vírus de plantas tem o seu genoma constituído de RNA de senso positivo (mRNA) e fita simples. Durante sua replicação em plantas infectadas, são sintetizados RNA genômico e subgenômico de fita dupla (fd), com o dobro do peso molecular do genoma viral. Estas moléculas, possíveis formas replicativas desses vírus, podem ser separadas por eletroforese e utilizadas no diagnóstico, considerando-se que este tipo de RNA geralmente está ausente de plantas sadias (Nickel & Cortes, 1990 e Rezaian et al., 1991).

A transferência *western blot*, comumente utilizada na caracterização de proteínas virais em videiras (Hu et al., 1990, Namba et al., 1991 e Monette & Green, 1992), é um método imunoeletrorético em que proteínas virais, em extratos de videiras infectadas, são separadas por eletroforese e, a seguir, transferidas e detectadas em membranas de nylon ou nitrocelulose, por reação com anticorpos específicos para o antígeno (Towbin et al., 1979).

Na hibridação molecular são utilizadas membranas e sondas com seqüência de nucleotídeos complementares aos agen-

QUADRO 1 - Cultivares Indicadoras e o Tempo Necessário de Observação para a Expressão de Sintomas nos Testes de Indexagem

Virose	Indicadoras	Expressão dos Sintomas
Enrolamento da folha (<i>Grapevine leafroll</i>)	'Cabernet Franc', 'Cabernet Sauvignon', 'Pinot Noir', 'Mission', 'Baco 22 A'	12 a 36 meses
Intumescimento do ramo (Corky bark)	'LN33'	6 a 18 meses
Caneluras do tronco (<i>Kober stem grooving</i> , <i>Rupestris stem pitting</i>)	'Kober 5BB', 'Rupestris du Lot'	24 meses
Necrose das nervuras	'R 110'	3 a 18 meses
Degenerescência da videira (<i>grapevine fanleaf virus</i>)	'Rupestris du Lot'	6 a 18 meses
<i>Grapevine fleck virus</i>	'Rupestris St. George'	6 a 18 meses

tes procurados, para detecção de DNA (*Southern blot*) e RNA (*Northern blot*) (Sambrook et al., 1989). Essas sondas podem ser encomendadas comercialmente ou obtidas via síntese de cDNA (Minafra & Hadidi, 1994 e Fuchs et al., 1991). Ultimamente tem crescido, em face do grande aumento da sensibilidade dos marcadores não-radioativos, a preferência da marcação de sondas com "etiquetas frias", como a marcação com biotina ou com peroxidase. Iguamente sensível é a marcação com digoxigenina, que goza de crescente popularidade.

A hibridação molecular, ou reação visualizada através de manchas em membranas, em suas duas reações: hibridação de transferência *northern* (RNA) e *southern* (DNA), embora altamente específica e sensível, requer a síntese de cDNA por técnicas de DNA recombinante e etiquetagem *in vitro*. Alternativamente, a sonda pode ser um oligonucleotídeo produzido em sintetizadores automáticos ou, ainda, via transcrição reversa – reação de polimerase em cadeia (RT-PCR). Essas características tornam a hibridação molecular pouco adequada para o diagnóstico rápido em grande número de amostras, sendo, no entanto, ferramenta importante no exame de material de elite.

Conhecendo-se pelo menos parte da seqüência do agente viral de interesse, é possível o diagnóstico via PCR, processo automatizado de amplificação cíclica, em termocicladores, do agente de interesse e, visualização por eletroforese do DNA amplificado. A imunocaptura – reação de polimerase em cadeia (IC-PCR) utiliza-se da captura de antígenos existentes na amostra, com anticorpos específicos previamente a PCR (Minafra & Hadidi, 1994).

MÉTODOS DE CONTROLE

A metodologia de controle é comum a todas as viroses citadas. No campo, o único meio viável de controlar doenças causadas por vírus é através da seleção sanitária e eliminação de vetores. Após infectada, é impossível curar a planta no campo pelos métodos tradicionalmente utilizados para outras doenças:

a) 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 dois 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 (Quadro 1).

b) Termoterapia

É o meio mais eficiente e seguro de obter planta sadia a partir de uma planta infectada. A técnica consiste em submeter a planta afetada a temperaturas entre 37-38°C, por período que varia, normalmente, entre 30-90 dias, dependendo do vírus. Após o tratamento, as extremidades dos brotos (1-3cm) são enraizadas *in vitro* e, posteriormente, as plantas desenvolvidas são submetidas a testes de diagnose para comprovar a eliminação dos vírus.

c) Controle de nematóide vetor

Devem-se eliminar as plantas com o máximo das raízes e introduzir culturas pouco suscetíveis aos nematóides como alfafa e cereais, durante 7-10 anos. O tempo 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. O produto mais recomendado é o DD (1-2 dicloropropano 50%, 1-3 dicloropropeno 50%) na dose de 500-1.500 l/ha (Villalba & Cutillas, 1988). As condições do solo devem permitir a perfeita volatilização e difusão do gás, ou seja, umidade média e temperatura entre 10°C e 27°C, preferencialmente 16°C em profundidade de 20cm. Em áreas novas ou não infestadas com vetores, o ideal é a utilização de material certificado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRAN, M.K.; DI TERLIZZI, B.; MINAFRA, A.; SAVINO, V.; MARTELLI, G.P.; ASKRI, F. Occurrence of grapevine virus A (GVA) and other closteroviruses in tunisian grapevine affected by leafroll disease. *Vitis*, Geneva, v.29, n.1, p.43-48, 1990.
- BARBARA, D.J.; CLARK, M.F. A simple indirect ELISA using F(ab')₂ fragments of immunoglobulin. *Journal of General Virology*, Cambridge, v.58, p.315-322, 1982.
- BONAVIA, M.; DIGIARO, M.; BOSCIA, D.; BOARI, A.; BOTTALICO, G.; SAVINO, V.; MARTELLI, G.P. Studies on "corky rugose wood" of grapevine and on the diagnosis of grapevine virus B. *Vitis*, Geneva, v.35, n.1, p.53-58, 1996.
- BOSCIA, D.; GRIEF, C.; GUGERLI, P.; MARTELLI, G.P.; WALTER, B.; GONSALVES, D. Nomenclature of leafroll-associated putative closteroviruses. *Vitis*, Geneva, v.34, p.171-175, 1995.
- BOSCIA, D.; MARTELLI, G.P.; SAVINO, V.; CASTELLANO, M.A. Identification of the agent of grapevine fleck disease. *Vitis*, Geneva, v.30, p.97-105, 1991.
- BOSCIA, D.; SAVINO, V.; MINAFRA, A.; NAMBA, S.; ELICIO, V.; CASTELLANO, M.A.; GONSALVES, D.; MARTELLI, G.P. Properties of a filamentous virus isolated from grapevines affected by corky bark. *Archives of Virology*, New York, v.130, p.109-120, 1993.
- BOULILA, M.; BOSCIA, D.; DI TERLIZZI, B.; CASTELLANO, M.A.; MINAFRA, A.; SAVINO, V.; MARTELLI, G.P. Some properties of a phloem-limited non mechanically-transmissible grapevine virus. *Journal of Phytopathology*, Berlin, v.129, p.151-158, 1990.
- BOVEY, R.; GARTEL, W.; HEWITT, W.B.; MARTELLI, G.P.; VUITTENEZ, A. *Virus and virus: like diseases of grapevines*. [Paris]: Payot Lausanne, 1980. 181p.
- CHEVALIER, S.; GREIF, C.; CLAUZEL, J.M.; WALTER, B.; FRITSCH, C. Use of immunocapture-polymerase chain reaction procedure for the detection of grapevine virus A in Kober Stem Grooving-infected Grapevines. *Journal of Phytopathology*, Berlin, v.143, p.369-373, 1995.
- CLARK, M.F.; ADAMS, A.N. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, Cambridge, v.34, p.475-483, 1977.
- ENGELBRECHT, D.J.; KASDORF, G.G.F. Transmission of grapevine leafroll disease and associated closterovirus by the vine mealybug *Planococcus ficus*. *Phytophylactica*, Pretoria, v.22, p.347-354, 1990.
- FUCHS, M.; PINCK, M.; ETIENNE, L.; PINCK,

- L.; WALTER, B. Characterization and detection of grapevine fanleaf virus by using cDNA probes. **Phytopathology**, Saint Paul, v.81, n.5, p.559-565, May 1991.
- GARAU, R.; PROTA, V.A.; PIREDDA, R.; BOSCIA, D.; PROTA, U. On the possible relationship between Kober stem grooving and grapevine virus A. **Vitis**, Geneva, v.33, n.3, p.161-163, 1994.
- GOLINO, D.A.; SIM, S.T.; ROWHANI, A. Transmission studies of grapevine leafroll associated virus and grapevine corky bark associated virus by the obscure mealybug. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.46, n.3, p.408, 1995.
- HIBI, T.; SAITO, Y. Immunobinding assay for the detection of tobacco mosaic virus in infected tissues. **Journal of General Virology**, Cambridge, v.66, p.1191-1194, 1985.
- HU, J.S.; GONSALVES, D.; TELIZ, D. Characterization of closterovirus-like particles associated with grapevine leafroll disease. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.128, p.1-14, 1990.
- KOENIG, R. Antikörper im Dienst der Pflanzenvirologie. **Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes**, Braunschweig, v.37, n.11, p.161-170, 1985.
- KUHN, G.B. Efeitos causados pelo vírus do enrolamento da folha da videira na cultivar Cabernet Franc. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.14, n.3/4, p.280-283, out./dez., 1989a.
- KUHN, G.B. Identificação, incidência e controle do vírus do enrolamento da folha da videira no Estado do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.14, n.3/4, p. 220-226, out./dez.1989b.
- KUHN, G.B. Intumescimento dos ramos da videira ("corky bark"), doença constatada no Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.17, n.4, p.399-406, dez. 1992a.
- KUHN, G.B. Manchas das nervuras da folha da videira (*Vitis* spp.), doença constatada no Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, v.17, n.4, p.435-440, dez. 1992b.
- KUHN, G.B. Necrose das nervuras, doença que ocorre de forma latente na maioria das cultivares de videira no Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.19, n.1, p.79-83, mar. 1994.
- KUHN, G.B. Principais vírus e doenças consideradas de origem viral que ocorrem nos vinhedos do Rio Grande do Sul. Bento Gonçalves: EMBRAPA-CNPUV, 1992c. 27p. 1992c. (EMBRAPA-CNPUV. Circular Técnica, 16).
- KUNIYUKI, H.; COSTA, A.S. Incidência de vírus da videira em São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.12, n.3, p.240-245, set. 1987.
- KUNIYUKI, H.; KUHN, G.B.; YUKI, V.A.; COSTA, A.S. Ocorrência, transmissão e termoterapia do agente da necrose das nervuras da videira no Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n.2, p.186-190, jun. 1997.
- LEGIN, R.; VUITTENEZ, A. Comparaison des symptomes et transmission par greffage d'une mosaïque nerveuse des *Vitis vinifera* de la marbrure de *Vitis rupestris* e d'une affection nécrotique des nervures de l'hybride Rup. Berl. 110R. **Rivista di Patologia Vegetale**, v.9, p.57-63, 1973. Supplem.
- MARTELLI, G.P. **Graft-transmissible diseases of grapevines: handbook for detection and diagnosis**. Rome: FAO, 1993. 263p.
- MARTELLI, G.P.; CANDRESSE, T.; NAMBA, S. Trichovirus: a new genus of plant viruses. **Archives of Virology**, New York, v.134, p.451-455, 1994.
- MARTELLI, G.; PROTA, U. Virose della vite. **Italia Agricola**, Milano, v.122, n.2, p.201-228, 1985.
- MARTELLI, G.P.; SAVINO, V. Fanleaf degeneration. In: PEARSON; R.C.; GOHEEN, A.C. (Ed.). **Compendium of grape diseases**. Saint Paul, Minnesota: American Phytopathological Society Press, 1988. p.48-49.
- MINAFRA, A.; HADIDI, A. Sensitive detection of grapevine virus A, B, or leafroll-associated III from viruliferous mealybugs and infected tissue by cDNA amplification. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v.47, n.1/2, p.175-188, 1994.
- MONETTE, P.L.; GODKIN, S.E.; JAMES, D. Mechanical transmission of a closterovirus from in vitro shoot tip cultures of a leafroll-affected grapevine to *Nicotiana benthamiana*. **Vitis**, Geneva, v.29, p.49-55, 1990.
- MONETTE, P.L.; GREEN, M.J. Molecular and serological comparisons of capsid proteins of grapevine virus A and a grapevine corky bark-associated virus. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v.14, p.267-270, 1992.
- MONETTE, P.L.; JAMES, D. Use of in vitro cultures of *Nicotiana benthamiana* for the purification of grapevine virus A. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Hague, v.23, p.131-134, 1990.
- MOUTOUS, G.; HEVIN, M. Transmission expérimentale de la maladie de l'écorce liégeuse de la vigne, "Corky bark", par la cicadelle *Scaphoideus littoralis* Ball (Homoptera Jassidae). **Agronomie**, Paris, v.6, n.4, p.387-392, 1986.
- MURPHY, F.A.; FAUQUET, C.M.; BISHOP, D. H. L.; GHABRIAL, S. A.; JARVIS, A. W.; MARTELLI, G.P.; MAYO, M.A.; SUMMERS, M.D. **Virus taxonomy: 6th report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. Vienna: Springer Verlag, 1995. p.461-464.
- NAMBA, S.; BOSCIA, D.; AZZAM, O.; MAIXNER, M.; HU, J.S.; GOLINO, D.; GONSALVES, D. Purification and properties of closteroviruslike particles associated with grapevine corky bark disease. **Phytopathology**, Saint Paul, v.81, n.9, p.964-970, Sept.1991.
- NICKEL, O.; CORTES, M.H.B. Separating naturally trapped strains of the citrus tristeza virus by ds-RNA analysis. **Revista de Investigaciones Agropecuarias**, Buenos Aires, v.32, n.1, p.32-41, 1990.
- QUACQUARELLI, A.; GALLITELLI, D.; SAVINO, V.; MARTELLI, G.P. Properties of grapevine fanleaf virus. **Journal of General Virology**, Cambridge, v.32, p.349-360, 1976.
- REZAIAN, M.A.; KRAKE, L.R.; CUNYING, Q.; HAZZALIN, C.A. Detection of virus-associated dsRNA from leafroll infected grapevines. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v.31, p.325-334, 1991.
- ROSCIGLIONE, B.; CASTELLANO, M. A.; MARTELLI, G. P.; SAVINO, V.; CANNIZZARO, G. Mealybug transmission of grapevine virus A. **Vitis**, Geneva, v.22, p.331-347, 1983.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2.ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. 3v.
- SAVINO, V.; CHERIF, C.; MARTELLI, G.P. A natural serological variant of Grapevine fanleaf virus. **Phytopathologia Mediterranea**, Bologna, v.24, p.29-34, 1985.
- TANNE, E.; BEN-DOV, Y.; RACCAH, B. Transmission of the corky-bark disease by the mealybug *Planococcus ficus*. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, Israel, v.17, p.1, 1989.
- TOWBIN, H.; STAHELIN, T.; GORDON, J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v.76, p.4350-4354, 1979.
- VILLALBA, V.P.; CUTILLAS, A.M. Virosis. In: Los PARASITOS de la vid. Madrid: Mundi-Prensa, 1988. p.201-220.
- ZANUZ, M.C.; RIZZON, L.A.; KUHN, G.B. Efeito da virose do enrolamento da folha na composição química do vinho Cabernet Franc. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.14, n.3, p.219-226, 1992.
- ZIMMERMANN, D.; BASS, P.; LEGIN, R.; WALTER, B. Characterization and serological detection of four closterovirus: like particles associated with leafroll disease of grapevine. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.130, p.277-288, 1990.