



TESTE ELISA PARA DETECÇÃO DE VÍRUS EM VIDEIRAS DE MESA CULTIVADAS NO SUBMÉDIO DO VALE DO SÃO FRANCISCO

ADRIANA DA LUZ BARROS SANTANA¹; NATONIEL FRANKLIN DE MELO²; JACIARA
DE SOUZA BISPO³; LARISSA ROMERO LARANJEIRA⁴

INTRODUÇÃO

A videira (*Vitis* spp.) é uma frutífera cultivada em todo o mundo, estando entre as frutas de maior importância comercial em termos de valor econômico (REIS; REIS, 2016). O polo Petrolina-PE/Juazeiro-BA no Submédio do Vale do São Francisco destaca-se como a principal região produtora de uvas finas de mesa (*Vitis vinifera*) do país, contribuindo com mais de 90% da exportação, sendo em 2013 exportados 43.084.692 quilos de uva, correspondendo a cerca de 99,7% da exportação brasileira (JULIÃO et al., 2017).

Entre as doenças que afetam a videira àquelas causadas por vírus são bastante destrutivas, não existindo até o momento medidas curativas que possam ser utilizadas para controlar essas doenças. Entre os danos causados por agentes virais em videira, citam-se perdas significativas na produção, alteração na pigmentação e no tamanho de bagas, maturação tardia e irregular dos frutos e redução no teor de sólidos solúveis, redução no enraizamento de bacelos e no pegamento das enxertias, aumento da suscetibilidade do material às injúrias, e até morte de plantas (ATALLAH et al., 2012).

A comercialização e utilização de mudas de videira está condicionada ao cumprimento de normas que visam garantir a qualidade física e fitossanitária das mudas, através da Portaria Nº 37, de 13 de fevereiro de 2006 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Essas normas estendem-se aos viveiros e unidades de propagação *in vitro*, e também à planta matriz e as mudas, sendo utilizado um protocolo para diagnose para detecção de nove vírus (*Grapevine leafroll-associated virus* - GLRaV-1, -2, -3, -7; *Grapevine fanleaf virus* - GFLV; *Grapevine fleck virus* - GFkV; *Arabis Mosaic virus* - ArMV; *Grapevine virus A* - GVA e *Grapevine virus B* – GVB), considerados de interesse econômico. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a incidência de vírus em cultivares de videira para mesa cultivadas no Submédio do Vale do São Francisco.

¹Universidade Federal do Vale do São Francisco. Email: adriana.l.barrossanta@gmail.com

²Embrapa Semiárido. Email: natoniel.melo@embrapa.br

³Universidade do Estado da Bahia. Email: jaciabispo@ymail.com

⁴Universidade Estadual de Feira de Santana. Email: larissee_llarangeira@hotmail.com

MATERIAL E MÉTODOS

Em julho de 2017 foram coletadas estacas lenhosas de 29 cultivares de uvas de mesa, descritas a seguir: A1118, A1581, IAC 77526 'Aurora', Beauty Seedless, Cardinal, Centennial Seedless, CG 102024 Dacari, CG 28.467 'Emperatriz', CG 33.716, CG 39.915, CG 40016 Damarim, CG 4113, CG 87.746, CG 87.908, Christmas Rose, Concord Clone, Feal, Fiesta, Flame Seedless, Italia Clone 1, Italia Melhorada, July Muscat, Jupiter, Loose Perlette, Muscatel Caillaba, Paulistinha, Perlette, Ruby Seedless e Saturn, provenientes do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Semiárido localizado na Estação Experimental de Mandacaru em Juazeiro-BA.

Foram coletadas cinco estacas, com seis gemas, por cultivar, tratadas com solução à base de fungicida em conjunto com um inseticida, para desinfestar o material vegetativo antes do plantio, que foi realizado em vasos plásticos contendo substrato (25% de vermiculita, 50% de areia fina, e 25% de húmus). Após o plantio os vasos permaneceram em casa de vegetação, sendo irrigados manualmente uma vez ao dia. 90 dias após o plantio foram coletadas 6 folhas de cada genótipo (3 folhas basais consideradas folhas velhas e 3 folhas apicais consideradas folhas novas) juntamente com os pecíolos. As mesmas foram identificadas e colocadas em sacos plásticos e levadas ao Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semiárido em Petrolina-PE onde foram armazenadas em Ultrafreezer a -80 °C.

As folhas foram cortadas com o auxílio de um bisturi, separando-se o limbo foliar das nervuras. Após os cortes, o material foi armazenado em sacos de papel, identificados como pecíolo velho (PV) (nervuras mais pecíolos retirados das folhas velhas) e limbo novo (LN) (limbo foliar retirado das folhas novas) de acordo com o Protocolo do Kit Agritest para o ensaio de ELISA (Fonte: KIT AGRITEST - PLANT HEALTH MANAGEMENT). Ao final o material foi mantido em freezer a -20 °C até a continuação do ensaio. Seguindo a ordem da sequência do Protocolo Agritest, 10 placas de Microtitulação com 96 poços de fundo V estéreis (uma para cada vírus) foram separadas e identificadas de acordo com cada um dos 10 vírus testados (GVA, GVB, GFkV, GFLV, GLRaV-1 -2 -3 e V-7, ArMV, GCMV).

Seguiu-se o protocolo para o revestimento das placas, de acordo com a recomendação do fabricante para cada tipo ou grupo de vírus. Para leitura da absorbância utilizou-se um leitor de microplacas Multiskan Go (Thermo Scientific) com 405 nm de comprimento de onda. As amostras com absorbância duas vezes maior que a média dos controles negativos foram consideradas como positivas para a presença do vírus.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram detectadas seis espécies virais em 18 das 29 cultivares de uva para mesa analisadas, representando 50% de infecção por vírus. Segundo estudo de Naidu et al. (2015) foram detectados

em todo mundo cerca de 70 vírus e agentes etiológicos semelhantes a vírus, relacionados a viroses em videiras, sendo que as videiras uma das espécies mais sensíveis às infecções causadas por estes agentes (MENG et al., 2017).

No presente estudo observou-se reação positiva para a presença de GVA nas cultivares A1118, A1581, CG 28.467 'Emperatriz', CG 39.915, Fiesta, Jupiter, Muscatel Caillaba, Paulistinha e Ruby Seedless; GVB na cultivar Feal; GLRaV1 na cultivar Christmas Rose; GLRaV2 nas cultivares IAC 77526 'Aurora', Cardinal, CG 87.746, Christmas Rose, Feal, Flame Seedless, Italia Melhorada, Perlette e Ruby Seedless; ArMV nas cultivares IAC 77526 'Aurora', Cardinal, CG 87.746, Christmas Rose, Feal e Flame Seedless, e GFLV nas cultivares IAC 77526 'Aurora', Beauty Seedless, Cardinal, CG 87.746, Flame Seedless e Itália Melhorada. Observaram-se nove infecções simples, que ocorrem quando apenas um vírus infecta a planta (50% do total de cultivares infectadas), e nove infecções mistas, que ocorrem quando dois ou mais vírus infectam a planta (50% do total de cultivares infectadas).

Nas principais regiões produtoras de uva do mundo, as espécies de vírus mais relatadas no que tange a sua importância econômica são os GLRaVs de 1 a 4. Porém, as espécies com mais relevância no Brasil são GLRaVs de 1 a 6 (MARTELLI et al., 2012; BASSO et al., 2014), sendo que o GLRaV-1 foi o primeiro vírus associado ao enrolamento da folha em videira identificado (HABILÍ et al., 2017) e considerado o causador da doença mais grave das videiras. Os vírus que causam o enrolamento da folha (GLRaV's) provocam 60% de perdas em todo o mundo, na produção de uvas (MARTELLI, 2000). Catarino et al. (2015) avaliando a incidência de vírus em videiras no Nordeste, verificaram a presença de GVA, GVB, GLRaV-2 e GLRaV-3 em amostras de videiras cultivadas no Vale do Submédio do São Francisco, observando, no entanto, maiores valores de incidência em relação às porcentagens observadas no presente trabalho. Entretanto, esses autores não detectaram a presença do GFLV e do ArMV, sendo o último relatado pela primeira vez em uvas de mesa no Brasil. Os vírus ArMV, GFkV, GVA, GVB, GLRaV-1 e GFLV são considerados pragas de importância econômica na produção de uvas, pois provocam sérios sintomas nas plantas de videira infectadas, que resultam em perdas significativas durante os ciclos de produção.

CONCLUSÕES

O teste ELISA foi eficiente na detecção de vírus em videira nas condições desse trabalho, sendo os vírus com maior incidência nas amostras analisadas o GLRaV-2, o GVA, o ArMV e o GFLV.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Vale do São Francisco por fornecer os meios necessários para a conclusão do Curso de mestrado; à Embrapa Semiárido por toda a estrutura, financiamento e suporte oferecidos; à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco pela concessão da bolsa (Processo Facepe IBPG-1474-5.01/16).

REFERÊNCIAS

ATALLAH, S.S.; GÓMEZ, M.I.; FUCHS, M.F.; MARTINSON, T.E. Economic impact of grapevine leafroll disease on *Vitis vinifera* cv. Cabernet Franc in Finger Lakes vineyards of New York. **American Journal Enology and Viticulture**, v. 63, p. 73-79, Mar. 2012.

BASSO, M.F.; FAJARDO, T.V.M.; PIO-RIBEIRO, G.; EIRAS, M.; ZERBINI, F.M. Avanços e perspectivas no estudo das doenças virais e subvirais em videira com ênfase na realidade brasileira. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.22, p. 160-207, 2014.

CATARINO, A.M.; FAJARDO, T.V.M.; PIO-RIBEIRO, G.; EIRAS, M.; NICKEL, O. Incidência de vírus em videiras no Nordeste brasileiro e caracterização molecular parcial de isolados virais locais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 3, p. 379-385, Mar. 2015.

HABILI, N.; KOMÍNEK, P.; LITTLE, A. Grapevine leafroll-associated virus 1 as a common grapevine pathogen. **Plant Viruses** 1, p. 63-68, 2007.

JULIÃO, C.C.B.; BRANCO, D.K.S.; LIMA, J.E. Exportação de uva no Vale do São Francisco: uma análise a partir de vetores autorregressivos. **Revista Econômica do Nordeste**, Fortaleza, v. 48, n. 2, p. 75-83, abr./jun., 2017.

MARTELLI, G.P. Major graft-transmissible diseases of grapevines: Nature, diagnosis, and sanitation. **In: Proc. 50th Anniversary Annu. Meet. ASEV**. Seattle. p. 231-236, 2000.

MARTELLI, G.P.; ABOU GHANEM-SABANADZOVIC, N.; AGRANOVSKY, A.A.; AL RWAHNIH, M.; DOLJA, V.V.; DOVAS, C.I.; FUCHS, M.; GUGERLI, P.; HU, J.S.; JELKMANN, W.; KATIS, N.I.; MALIOGKA, V.I.; MELZER, M.J.; MENZEL, W.; MINAFRA, A.; ROTT, M.E.; ROWHANI, A.; SABANADZOVIC, S.; SALDARELLI, P. Taxonomic revision of the family Closteroviridae with special reference to the grapevine leafroll-associated members of the genus Ampelovirus and the putative species unassigned to the family. **Journal of Plant Pathology**, EDIZIONI ETS, Pisa, n. 94 (1), p.7-19, 2012.

MENG, B.; MARTELLI, G.P.; GOLINO, D. A.; FUCHS, M. (Eds.) **Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management**. Springer International Publishing. 1 ed., p. 698, 2017.

NAIDU, R.A.; MAREE, H.J.; BURGER, J.T. Grapevine leafroll disease and associated viruses: a unique pathosystem. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.53, p.613-634, 2015.

REIS, L.P.; REIS, P.C.M.R. Viabilidade econômica do cultivo de uva irrigada no município de Petrolina, PE. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer – Goiânia, v. 13, n. 24. 2016.