

Detecção do *Grapevine leafroll-associated virus 5* no Estado de São Paulo

Hugo Kuniyuki^{1**}, Jorge Albeto Marques Rezende^{2**}, José Osmar Gaspar^{3**}, Valdir Atsushi Yuki¹

¹Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Fitossanidade, Instituto Agrônomo / APTA, CP 28, CEP 13012-970 - Campinas, SP. ²Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, ESALQ, USP, CP 9, CEP 13418-900 - Piracicaba, SP. ³ Departamento de Botânica, IBILCE, UNESP, CEP 15054-000 - São José do Rio Preto, SP. **Bolsistas do CNPq.

Autor para correspondência: Hugo Kuniyuki

Data de chegada: 02/10/2006. Aceito para publicação em: 31/03/2008

1404

RESUMO

Kuniyuki, H.; Rezende, J.A.M.; Gaspar, J.O.; Yuki, V.A. Detecção do *Grapevine leafroll-associated virus 5* no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica*, v.34, n.4, p.366-367, 2008

O enrolamento da folha da videira (“grapevine leafroll”) é uma doença atribuída a pelo menos nove vírus sorologicamente distintos, *Grapevine leafroll-associated viruses 1 a 9* e designados GLRaV-1 a GLRaV-9. No Brasil, já é conhecida a existência do GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3 e GLRaV-6. Neste trabalho, foi demonstrada a ocorrência

do GLRaV-5 em amostras de videiras cultivadas no Estado de São Paulo, mediante teste de Biotina-ELISA. O vírus foi detectado com baixa incidência nas cultivares avaliadas, exceto na ‘Cardinal’, que apresentou 100% de infecção. Este é o primeiro relato da ocorrência do GLRaV-5 no Brasil.

Palavras-chave adicionais: *Vitis*, *Closteroviridae*, GLRaV-5

ABSTRACT

Kuniyuki, H.; Rezende, J.A.M.; Gaspar, J.O.; Yuki, V.A. Detection of *Grapevine leafroll-associated virus 5* in the State of Sao Paulo, Brazil. *Summa Phytopathologica*, v.34, n.4, p.366-367, 2008

Grapevine leafroll is a complex disease that can be caused by any one of the nine serologically distinct closteroviruses, referred to as *Grapevine leafroll-associated viruses 1 to 9* (GLRaV-1 to GLRaV-9). So far, it has been known the occurrence of GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3 and GLRaV-6 in Brazil. This work reports the

identification of GLRaV-5 in leafroll-infected grape material from the State of São Paulo, by Biotine-ELISA. The virus was detected with low incidence in tested grape cultivars, except in ‘Cardinal’, which showed 100% infected. This is the first report of GLRaV-5 in Brazil.

Keywords: *Vitis*, *Closteroviridae*, GLRaV-5

O enrolamento da folha da videira (“Grapevine leafroll disease” – GLR) é considerado uma das mais importantes viroses da videira (*Vitis* spp.) nos principais países produtores de uva, devido à elevada incidência e devido às significativas reduções na produção e qualidade dos frutos. Os sintomas característicos dessa doença, mais evidentes em cultivares sensíveis de *V. vinifera*, incluem enrolamento dos bordos foliares para baixo e coloração avermelhada ou amarelada das áreas internervais, com as nervuras principais e secundárias e áreas adjacentes do parênquima permanecendo verdes (5).

O GLR é atribuído a nove vírus sorologicamente distintos, de 1.400 a 2.200 nm de comprimento, denominados de *Grapevine leafroll-associated viruses 1 a 9* (GLRaV-1 a GLRaV-9). Todos esses vírus pertencem à família *Closteroviridae*. Com exceção do GLRaV-2 (gênero *Closterovirus*) e do GLRaV-7 (espécie ainda não estabelecida), os demais estão incluídos, como espécies ou possíveis espécies, no gênero *Ampelovirus* (7, 10). Esses vírus, separadamente ou em mistura, estão associados com a manifestação dos sintomas da doença (6).

A diagnose do enrolamento da folha é baseada em testes biológicos, empregando videiras indicadoras (5). Os GLRaVs mais comuns podem ser identificados por métodos imuno-enzimáticos, como ELISA e a

maioria deles, por métodos moleculares, como RT-PCR (3, 6, 11).

No Brasil, o enrolamento da folha ocorre de maneira generalizada em quase todas as regiões onde a videira é cultivada (1). Dos vírus associados à doença, é conhecida a ocorrência do GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3 e GLRaV-6, sendo o GLRaV-3 o vírus de maior incidência nos vinhedos brasileiros (4, 8, 9).

O objetivo deste trabalho foi verificar a possível ocorrência do GLRaV-5, mediante testes imuno-enzimáticos em amostras de videiras cultivadas nos vinhedos paulistas.

As plantas infectadas, pertencentes a cultivares de importância econômica, eram procedentes de diferentes regiões do Estado de São Paulo, como Indaiatuba, Jales, Jundiá, Junqueirópolis, Louveira, Pilar do Sul, São Miguel Arcanjo, Tupi Paulista e Urânia. Essas videiras haviam sido previamente testadas em videiras indicadoras do enrolamento da folha, como Cabernet Franc, LN-33, Mission e Pinot Noir e estavam mantidas em casa de vegetação no Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Fitossanidade, setor de Virologia, do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC).

A detecção do GLRaV-5 foi feita pelo teste de Biotina-ELISA, usando anti-soro comercial (Plantest ELISA / BIO-RAD) e empregando

a metodologia recomendada por essa empresa. Uma amostra foi considerada positiva, quando o valor da absorvância a 405 nm foi pelo menos três vezes superior ao valor da absorvância da amostra de planta livre da doença.

As fontes de antígeno foram constituídas por pecíolos e nervuras de folhas adultas e basais de plantas sabidamente infectadas pelo GLR de 21 cultivares produtoras de uva.

Amostras de cinco cultivares, consideradas livres da doença mediante indexação biológica, foram também incluídas nos testes sorológicos como controle negativo.

A relação entre o número de plantas avaliadas e infectadas foi a seguinte, para as 21 cultivares procedentes de 9 regiões do Estado de São Paulo: Benitaka (7/0), Brasil (5/0), Cardinal (6/6), Centennial Seedless (5/1), Christmas Rose (2/0), Concord (2/0), Flame Seedless (2/0), IAC 138-22 (3/0), IAC 157-29 (3/0), Isabel (4/0), Itália (12/1), Maria (3/0), Moscatel de Hamburgo (2/0), Niagara Branca (7/0), Niagara Rosada (13/0), Piratininga (2/0), Red Globe (5/1), Rubi (5/0), Redimeire (2/0), Seibel 2 (4/1) e Thompson Seedless (2/0).

O GLRaV-5 foi detectado apenas nas cultivares Cardinal, Centennial Seedless, Itália, Red Globe e Seibel 2. A 'Cardinal' encontrava-se 100% infectada pelo vírus. A incidência média da doença foi de 10,4%.

Os valores médios das absorvâncias para extratos foliares de videiras infectadas variaram de 0,309 a 1,532 em comparação com os valores médios obtidos para o controle negativo (0,059) e para o controle positivo do "kit" (1,177).

Os resultados demonstraram a ocorrência do GLRaV-5 nos vinhedos paulistas, porém com baixa incidência, exceto na 'Cardinal' (100%). Como as principais cultivares plantadas no Estado de São Paulo, como Benitaka, Brasil, Isabel, Itália, Niagara Rosada e Rubi, não estão infectadas ou apresentam incidência muito baixa, é possível considerar que a presença do GLRaV-5 se deveu à propagação de cultivares de introdução mais recente, como 'Cardinal', 'Red Globe' ou 'Centennial Seedless'. As informações sobre a incidência do GLRaV-5 em outros países ainda são escassas, mas, com base nos poucos resultados disponíveis, a frequência média com que o vírus ocorre nas plantações de uva parece ser baixa, em torno de 1-2% (7). Mas, em algumas cultivares, a incidência pode ser elevada, de 20 a 42% (2).

Plantas consideradas livres do enrolamento da folha, pertencentes às cultivares Cabernet Franc, LN-33, Itália, Niagara Rosada e Rubi, apresentaram resultados negativos para o GLRaV-5. Os valores médios de absorvância das amostras dessas cinco cultivares variaram de 0,035 a 0,057.

Não foi verificado caso de infecção isolada pelo GLRaV-5, pois este invariavelmente encontrava-se em infecção simultânea com um ou mais dos GLRaVs registrados em São Paulo (8, 9). Assim sendo, os sintomas induzidos isoladamente pelo GLRaV-5 nas plantas infectadas

não puderam ser observados. Conseqüentemente, o GLRaV-5 só pode ser identificado mediante teste imuno-enzimático, como ELISA, ou então por métodos moleculares, como RT-PCR (3, 4, 7, 11). Este é o primeiro relato da ocorrência do GLRaV-5 infectando videiras no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Amorim, L.; Kuniyuki, H. Doenças da videira (*Vitis* spp.). In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2, cap.70, p.639-651.
2. Dovas, C.I.; Vovlas, C.; Papazis, G.; Katis, N.I. Sanitary status of self rooted and grafted Debina and Vlachiko wine grape varieties in Epirus Greece. In: Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine, 14., 2003, Locorotondo (Bari). **Extended Abstracts**. Bari: University of Bari, 2003. p.156.
3. Fajardo, T.V.M.; Kuhn, G.B.; Eiras, M.; Nickel, O. Detecção de *Closterovirus* em videira e caracterização parcial de um isolado do *Grapevine leafroll-associated virus 3*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, n.1, p.58-64, 2002.
4. Fajardo, T.V.M.; Eiras, M.; Schenato, P.G.; Nickel, O.; Kuhn, G.B. Avaliação da variabilidade do *Grapevine leafroll-associated virus 1 e 3* por análise de seqüências de nucleotídeos e polimorfismo conformacional de fita simples. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.2, p.177-182, 2005.
5. Goheen, A.C. Leafroll. In: Pearson, R.C.; Goheen, A.C. (Ed.). **Compendium of Grape diseases**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1988. p.52-53.
6. Gonsalves, D. Progress towards understanding the genome organization and expression of grapevine closterovirus. In: Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine, 13., 2000, Adelaide. **Extended abstracts**. Adelaide: University of Adelaide, 2000. p.6-7.
7. Gugerli, P. Grapevine leafroll and related viruses. In: Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine, 14., 2003, Locorotondo (Bari). **Extended Abstracts**. Bari: University of Bari, 2003. p.25-31.
8. Kuniyuki, H.; Gaspar, J.O.; Rezende, J.A.M. Ocorrência do *Grapevine leafroll-associated virus 6* em vinhedos do Brasil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.29, n.3, p.288-289, 2003.
9. Kuniyuki, H.; Rezende, J.A.M.; Scagliusi, S.M.M.; Vega, J.; Yuki, V.A. Incidência dos vírus 1, 2 e 3 associados ao enrolamento da folha da videira em vinhedos do Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.28, n.4, p.311-314, 2002.
10. Martelli, G.P.; Agranovski, A.A.; Bar-Joseph, M.; Boscia, D.; Candresse, T.; Coutts, R.H.A.; Dolja, V.V.; Falk, B.W.; Gonsalves, D.; Jelkman, W.; Karasev, A.V.; Minafra, A.; Namba, S.; Vetten, H.J.; Wisler, G.C.; Yoshikawa, N. The family *Closteroviridae* revisited. **Archives of Virology**, Heidelberg, v.147, n.10, p.2039-2044, 2002.
11. Rowhani, A.; Uyemoto, J.K.; Golino, D.A.; Martelli, G.P. Pathogen testing and certification of *Vitis* and *Prunus* species. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.43, p.261-278, 2005.