

Diagnóstico da incidência do enrolamento das folhas e do intumescimento dos ramos da videira em Santa Catarina

Paulo Estevão Silveira Silvano¹, Marcelo Borghezan², Tatiane Carine da Silva³, José Afonso Voltolini⁴
e Aparecido Lima da Silva⁵

Resumo – O uso de mudas de videira contaminadas tem permitido a propagação de doenças, como as viroses do enrolamento das folhas e do intumescimento dos ramos. Este trabalho verificou a incidência do *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3) e do *Grapevine virus B* (GVB) em plantas-matrizes de variedades de importância para Santa Catarina. O GLRaV-3 foi detectado em amostras das regiões do Vale do Rio Itajaí, do Vale do Rio do Peixe e Serrana, e o GVB foi detectado em amostras das regiões do Vale do Rio do Peixe e Serrana. Isso indica a necessidade de adoção de medidas para avaliação e controle das principais viroses da videira. Aos viveiristas recomenda-se cautela na escolha das plantas-matrizes e avaliação de seu estado fitossanitário; aos vicultores, a aquisição de mudas certificadas provenientes de empresas idôneas; aos órgãos governamentais, a aplicação da legislação vigente.

Termos para indexação: Viticultura, vírus, ELISA, GLRaV-3, GVB.

Diagnosis of leaf roll and corky bark incidence on grapevines in the state of Santa Catarina, Brazil

Abstract – The use of contaminated propagative material has made possible the propagation of diseases such as the viruses of the grapevine leaf roll and the grapevine corky bark. The aim of this trial was to verify the incidence of the *Grapevine leaf roll-associated virus 3* (GLRaV-3) and the *Grapevine virus B* (GVB) in mother plants on important grapevine varieties for the state of Santa Catarina, in southern Brazil. The GLRaV-3 was detected in samples collected in the regions of the Rio Itajaí Valley, of the Rio do Peixe Valley, and Serrana. The GVB was detected in samples collected in the regions of the Rio do Peixe Valley, and Serrana. The presence of these viruses in Santa Catarina recommends the careful choosing and sanitary evaluation of matrix grape plants in the stock nursery as well as purchasing certified plant material from fit nurseries. Supervision services must guarantee the obedience to the current legislation.

Index terms: Viticulture, virus, ELISA, GLRaV-3, GVB.

Em Santa Catarina o cultivo da videira visando à produção de uvas de mesa, sucos e vinhos é uma atividade econômica de grande importância, especialmente para os produtores da agricultura familiar. Recentemente, tem sido observado um acréscimo acentuado da área de produção pela renovação e implantação de vinhedos (Figura 1). A introdução de mudas infectadas provenientes de outros estados e do exterior, aliada à técnica tradicional de produção de mudas (estaquia), tem possibilitado a transmissão de diversas

doenças, principalmente viroses (Silva, 2002; Borghezan et al., 2004).

Entre essas viroses, o vírus do enrolamento das folhas da videira, sendo o GLRaV-3 um dos agentes causais (Figura 2), e o intumescimento dos ramos da videira, causado pelo vírus GVB, apresentam incidência significativa em vinhedos das regiões vitícolas do país. Essas doenças são facilmente disseminadas pela multiplicação vegetativa, causando danos como a redução do vigor e da longevidade, o definhamento dos ramos e a morte das

plantas em cultivares mais suscetíveis (Kuhn & Fajardo, 2002).

A legislação federal sobre sementes e mudas (Lei nº 10.711/2003 e Decreto nº 5.153/2004) visa garantir a identidade e a qualidade do material de multiplicação produzido e comercializado. Além disso, a Portaria nº 38/2007 estabelece as normas e os padrões para produção, comercialização e utilização de mudas de diversas espécies. Essa legislação recomenda que o controle sanitário de plantas-matrizes e mudas seja feito por meio de diagnose por métodos

Recebido em 21/6/2011. Aceito para publicação em 30/8/2012.

¹ Engenheiro-agrônomo, M.Sc., Ibama, Av. Mauro Ramos, 1113, 88020-303 Florianópolis, SC, e-mail: paulo_silvano@yahoo.com.br.

² Engenheiro-agrônomo, Dr., UFSC / CCA / Departamento de Fitotecnia, C.P. 476, 88040-900 Florianópolis, SC, fone: (48) 3721-5324, e-mail: mborghezan@hotmail.com.

³ Acadêmica em Agronomia, UFSC / CCA / Departamento de Fitotecnia, e-mail: tatisilva_22@hotmail.com.

⁴ Engenheiro-agrônomo, Dr., UFSC / CCA / Departamento de Fitotecnia, e-mail: voltolini@cca.ufsc.br.

⁵ Professor, Dr., UFSC / CCA / Departamento de Fitotecnia, e-mail: alsilva@cca.ufsc.br.



Figura 1. Planta e folha sadia da variedade Cabernet Sauvignon cultivada em São Joaquim, SC



Figura 2. Planta e folha apresentando sintomas do enrolamento das folhas na variedade Cabernet Sauvignon cultivada em São Joaquim, SC

sorológicos, moleculares ou indexação biológica em variedades indicadoras.

Contudo, poucos estudos têm sido feitos sobre a incidência de viroses no estado de Santa Catarina, sobretudo em plantas doadoras de material vegetativo para a produção de mudas, mantidas por empresas públicas ou privadas, ou em áreas de produção recentemente implantadas (Borghazan et al., 2004). Dessa forma, este trabalho avaliou a incidência do GLRaV-3 e do GVB em plantas-matrizes de variedades de videira com importância para Santa Catarina.

Amostras foram coletadas no ciclo fenológico 2002/03 em municípios do Vale do Rio Itajaí-Açu, da Região Serrana, do Vale do Rio do Peixe (Videira) e de plantas mantidas em casa de vegetação no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina UFSC, em Florianópolis, SC.

Foram utilizados sarmentos e folhas de plantas-matrizes dos porta-enxertos Paulsen 1103 (*Vitis berlandieri* x *V. rupestris*, 10 plantas) e VR-043-43 (*V. rotundifolia* x *V. vinifera*, 9 plantas) e das variedades produtoras Cabernet Sauvignon (*V. vinifera*, 40 plantas), Chardonnay (*V. vinifera*, 9 plantas), Bordô (*V. labrusca*, 10 plantas) e Niágara Branca (*V. labrusca*, 10 plantas), perfazendo um total de 88 plantas avaliadas, sendo realizadas 2 repetições por planta.

Os sarmentos foram coletados durante o período de dormência das plantas, embalados em papel-toalha úmido, colocados em sacos plásticos escuros, identificados e armazenados à temperatura de 4°C. As folhas foram coletadas no final do período vegetativo das plantas, embaladas em sacos plásticos escuros, identificados e armazenados à temperatura de -20°C.

A metodologia usada para detecção do GLRaV-3 foi a de DAS-ELISA, descrita por Clark & Adams (1977), utilizando anticorpos policlonais da Agritest®. Para a detecção do GVB foi utilizada a metodologia indireta (PTA-I)-ELISA, descrita por Garnsey & Cambra (1993), utilizando anticorpos monoclonais da Agritest®.

Aproximadamente 1g de tecidos do floema dos sarmentos foi macerado e mantido em sacos de extração contendo 10ml de solução tampão de extração com pH 8,2, [TRIS a 0,625% (p/v), NaCl a 0,8%, PVP-40 a 2% (p/v), PEG a 1% (p/v) e Tween-20 a 0,05% (v/v)] por 10 minutos. Para a retirada do extrato das folhas, cerca de 1g de nervuras principais e pecíolos foi macerado e mantido em sacos de extração contendo 10ml de tampão de extração por 10 minutos.

Os demais passos seguiram as recomendações do fabricante dos anticorpos comerciais utilizados (Agritest®). Os resultados foram considerados positivos quando os valores de absorvância (medidos em comprimento de onda de 405nm) obtidos na leitora de placas (Bio-Tek EL 800) foram iguais ou superiores a duas vezes os valores obtidos com os controles negativos.

O GLRaV-3 foi detectado em amostras de porta-enxertos no Vale do Rio Itajaí-Açu (Tabela 1) e em variedades produtoras da Região Serrana (Tabela 2) e do Vale do Rio do Peixe (Tabela 3). Nas amostras do banco de germoplasma da UFSC, o resultado foi negativo para todas as plantas avaliadas (Tabela 4). Destaca-se que a região Serrana apresentou elevado índice de infecção, com cerca de 50% do total de amostras coletadas. Nas demais regiões onde este vírus foi detectado, os índices de infecção foram inferiores a 20%.

Estudos realizados em diversas regiões vitícolas do Brasil mostram a presença do vírus do enrolamento das folhas (GLRaV-3) em diferentes percentuais. Fajardo et al. (2002) descreveram taxas de 14,7% de infecção em amostras da Serra Gaúcha (RS) e do Vale do São Francisco (PE e BA). Na região de Caldas, MG, Villa & Regina (2002) observaram que o GLRaV-3 se ►

Tabela 1. Incidência do vírus 3 do enrolamento da folha da videira (GLRaV-3) e do vírus do intumescimento dos ramos da videira (GVB) em amostras de plantas-matrizes do Vale do Rio Itajaí, estado de Santa Catarina, 2003

Variedade	GLRaV-3			GVB		
	Amostras coletadas (Nº)	Amostras infectadas (Nº)	Amostras infectadas (%)	Amostras coletadas (Nº)	Amostras infectadas (Nº)	Amostras infectadas (%)
Paulsen 1103	5	1	20	5	0	0
Bordô	3	0	0	3	0	0
Niágara Branca	3	0	0	3	0	0
Média (%)	-	-	9,1	-	-	0

Tabela 2. Incidência do vírus do enrolamento da folha da videira (GLRaV-3) e do vírus do intumescimento dos ramos da videira (GVB) em amostras de plantas-matrizes da região Serrana, estado de Santa Catarina, 2003

Variedade	GLRaV-3			GVB		
	Amostras coletadas (Nº)	Amostras infectadas (Nº)	Amostras infectadas (%)	Amostras coletadas (Nº)	Amostras infectadas (Nº)	Amostras infectadas (%)
Cabernet Sauvignon	30	16	53,3	30	5	16,7
Chardonnay	4	0	0	4	1	25
Média (%)	-	-	47,1	-	-	17,6

Tabela 3. Incidência do vírus do enrolamento da folha da videira (GLRaV-3) e do vírus do intumescimento dos ramos da videira (GVB) em amostras de plantas-matrizes do Vale do Rio do Peixe, estado de Santa Catarina, 2003

Variedade	GLRaV-3			Intumescimento dos ramos da videira		
	Amostras coletadas (Nº)	Amostras infectadas (Nº)	Amostras infectadas (%)	Amostras coletadas (Nº)	Amostras infectadas (Nº)	Amostras infectadas (%)
Paulsen 1103	3	0	0	3	0	0
VR-043-43	6	0	0	6	1	16,7
Bordô	3	0	0	3	2	66,7
Niágara Branca	6	1	16,7	6	0	0
Cabernet Sauvignon	5	0	0	5	0	0
Chardonnay	3	0	0	3	0	0
Média (%)	-	-	3,8	-	-	11,5

Tabela 4. Incidência do vírus do enrolamento da folha da videira (GLRaV-3) e do vírus do intumescimento dos ramos da videira (GVB) em amostras de plantas-matrizes do Centro de Ciências Agrárias da UFSC, 2003

Variedade	GLRaV-3			GVB		
	Amostras coletadas (Nº)	Amostras infectadas (Nº)	Amostras infectadas (%)	Amostras coletadas (Nº)	Amostras infectadas (Nº)	Amostras infectadas (%)
Paulsen 1103	2	0	0	2	0	0
VR-043-43	3	0	0	3	0	0
Bordô	4	0	0	4	0	0
Niágara Branca	1	0	0	1	0	0
Cabernet Sauvignon	5	0	0	5	0	0
Chardonnay	2	0	0	2	0	0
Média (%)	-	-	0	-	-	0

encontrava em 15,8% das amostras.

Em coletas anteriores realizadas em Santa Catarina, Borghezán et al. (2004) já descreveram que as plantas-matrizes utilizadas no Vale do Rio do Peixe apresentavam 14,8% e 44,8% de infecção em amostras de porta-enxertos e variedades produtoras respectivamente. Esse mesmo estudo constatou que 10% das amostras de plantas produtoras da região Serrana apresentavam o vírus.

Comparando com as coletas realizadas nos anos 2000 e 2001 por Borghezán et al. (2004), aqueles autores detectaram índices consideravelmente mais elevados de infecção em comparação a este trabalho, cujas coletas ocorreram em 2002 e 2003. Essa redução pode ser um indicativo de que as plantas contaminadas utilizadas anteriormente estão sendo eliminadas. No entanto, essa afirmação não é conclusiva e necessita ser comprovada com estudos mais detalhados.

Para a Região Serrana a situação é bastante preocupante, pois o grau de contaminação aumentou significativamente para a Cabernet Sauvignon, que é a variedade mais plantada. Em relação a esse aspecto, a avaliação anterior pode não ter detectado a presença das partículas virais em função do tempo necessário entre a infecção no hospedeiro e o aparecimento de resultados positivos em testes sorológicos como o ELISA (Kuhn, 1999).

O vírus GVB não foi detectado nas amostras coletadas no Vale do Rio Itajaí-Açu (Tabela 1) nem nas plantas avaliadas da UFSC (Tabela 4). No entanto, cerca de 20% das amostras de variedades produtoras da região Serrana (Tabela 2) e porta-enxertos e variedades produtoras do Vale do Rio do Peixe (Tabela 3) apresentaram a presença desse vírus.

Em amostras avaliadas por Villa & Regina (2002) na região de Caldas, MG, o vírus GVB não foi detectado. Entretanto, Nickel et al. (2002) observaram mais de 60% de infecção em alguns vinhedos do Rio Grande do Sul.

Esses resultados são indicativos da

necessidade de execução de medidas sanitárias, como a identificação da origem e a aquisição de mudas não infectadas, além da realização de um controle fitossanitário mais intenso. Há a possibilidade de ocorrência de outros vírus nas plantas amostradas. É fundamental que as plantas infectadas não sejam mais utilizadas como fonte de propágulos e que se realize a diagnose de outras viroses nas plantas-matrizes usadas na produção de mudas a fim de evitar a disseminação e o aumento dos índices desses agentes na renovação ou ampliação das áreas de cultivo. Recomenda-se aos viveiristas cautela na escolha das plantas-matrizes; aos produtores, a aquisição de mudas provenientes de empresas idôneas; e aos órgãos governamentais competentes, garantir a aplicação da legislação vigente de produção e comercialização de mudas certificadas. Novos levantamentos são necessários para diagnosticar a sanidade dos vinhedos.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos produtores e viveiristas que gentilmente disponibilizaram as plantas para a coleta de material para as análises.

Literatura citada

1. BORGHEZAN, M.; MORAES, L.K.A. de; SILVANO, P.E.S. et al. Viroses da videira em Santa Catarina: detecção sorológica para um programa de certificação de mudas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 18., 2004, Florianópolis, SC. **Anais...** Florianópolis: SBF, 2004. CD-Rom.
2. 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, n.3, p.475-483, 1977.
3. FAJARDO, T.V.M.; KUHN, G.B.; EIRAS,

M. et al. 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. GARNSEY, S.M.; CAMBRA, M. Serology: enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In: MARTELLI, G.P. (Ed.). **Graft-transmissible diseases of grapevines: handbook for detection and diagnosis**. Roma: FAO, 1993. p.169-192.
5. KUHN, G.B. **Vírus do intumescimento dos ramos associado à morte de plantas de cultivares *Vitis vinifera***. Bento Gonçalves: Embrapa-CNPUV, 1999. 4p. (Embrapa-CNPUV. Comunicado Técnico, 32).
6. KUHN, G.B.; FAJARDO, T.V.M. Viroses da videira no Brasil. In: EMBRAPA. **Curso de capacitação técnica em viticultura: módulo 3**. Bento Gonçalves: Embrapa-CNPUV, 2002. p.1-6.
7. NICKEL, O.; FAJARDO, T.V.M.; ARAGÃO, F.J.L. et al. Detection and coat protein gene characterization of an isolate of grapevine virus B from corky bark-affected grapevines in Southern Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, n.3, p.279-284, 2002.
8. SILVA, A.L. da. Programa de certificação de mudas de videira em Santa Catarina. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 1, 2002, Andradadas. **Anais...** Caldas: Epamig-FECD, 2002. p.215-231.
9. VILLA, F.; REGINA, M. de A. Ocorrência de viroses em clones da cultivar Folha de Figo (*Vitis labrusca* L.) na região de Caldas, MG. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 1., 2002, Andradadas. **Anais...** Caldas: Epamig-FECD, 2002. p.337-340. ■