

Bento Gonçalves, RS / Abril, 2024

Incidência e prevalência de vírus relacionadas à sintomatologia em videiras ‘Cabernet Sauvignon’

Thor Vinícius Martins Fajardo, Giuliano Elias Pereira e Osmar Nickel

Pesquisadores, Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS.

Resumo – O monitoramento de doenças nas principais regiões vitícolas é essencial para identificar vírus prevalentes e emergentes em videiras. O objetivo do trabalho foi determinar, por meio de RT-qPCR, a incidência e a prevalência de vírus relacionando as infecções aos sintomas exibidos por videiras ‘Cabernet Sauvignon’. Foram indexadas, para até seis vírus, 210 plantas sintomáticas e assintomáticas para viroses em três vinhedos. Na maioria das indexações, 69,2% (83/120) das plantas assintomáticas e 74,4% (67/90) das plantas sintomáticas amostradas estavam negativas ou infectadas por um ou mais vírus inicialmente avaliados (GLRaV-3, GVA e GVB), respectivamente. No entanto, em 30,8% (37/120) das plantas assintomáticas se detectou pelo menos um dos vírus avaliados e em 25,6% (23/90) das plantas sintomáticas avaliadas, não foi possível detectar nenhum dos três vírus inicialmente analisados. A incidência média de infecção viral em plantas assintomáticas foi de 13,3% para GLRaV-3, 7,5% para GVA e 21,7% para GVB e em plantas sintomáticas foi de 52,2%, 26,7% e 42,2%, respectivamente. Adicionalmente, 23 plantas sintomáticas e inicialmente negativas para esses três vírus foram reindexadas, e infecções por GLRaV-2 (47,8%), GVD (52,2%) e GRSPaV (95,6%) foram, então, constatadas. Os resultados permitiram associar os sintomas observados em videiras com as viroses do enrolamento da folha e do complexo do lenho rugoso, verificando-se infecções múltiplas envolvendo combinações de até seis vírus. Destaca-se também a importância de se determinar por meio de testes laboratoriais o real estado fitossanitário das plantas para se evitar o uso inadvertido de materiais infectados e assintomáticos como gemas ou estacas.

Termos para indexação: videira, indexação, vírus, sintomas, infecção.

Viral incidence and prevalence related to symptomatology in grapevines ‘Cabernet Sauvignon’

Abstract – Disease monitoring of the main grape-growing regions is essential to identify prevalent and emerging grapevine viruses. The aim of the study was to determine, by RT-qPCR, the incidence and prevalence of viruses relating infections to the symptoms exhibited by grapevines ‘Cabernet Sauvignon’. Two hundred and ten symptomatic and asymptomatic plants for viruses in three vineyards were indexed for up to six viruses. In most indexings, 69.2% (83/120) of sampled asymptomatic plants and 74.4% (67/90) of symptomatic plants were negative or infected by one or more viruses initially evaluated

Embrapa Uva e Vinho

Rua Livramento, nº 515
Caixa Postal 130
95701-008 Bento Gonçalves, RS
www.embrapa.br/uva-e-vinho
www.embrapa.br/fale-conosco/

Comitê Local de Publicações

Presidente
Henrique Pessoa dos Santos
Secretária-executiva
Renata Gava
Membros
Edgardo Aquiles Prado Perez,
Fernando José Hawerth,
Mauro Celso Zanus, Joelsio
José Lazzarotto, Jorge Tonietto,
Rochelle Martins Alvorcem, Thor
Vinícius Martins Fajardo

Revisão de texto
Renata Gava

Normalização bibliográfica
Rochelle Martins Alvorcem
(CRB-10/1810)

Projeto gráfico
Leandro Sousa Fazio

Diagramação
Renata Gava

Publicação digital: PDF

Todos os direitos reservados à Embrapa.

(GLRaV-3, GVA e GVB), respectively. However, in 30.8% (37/120) of the asymptomatic plants, at least one of the evaluated viruses was detected and in 25.6% (23/90) of the evaluated symptomatic plants, it was not possible to detect any of the three viruses initially analyzed. The average incidence of viral infection in asymptomatic plants was 13.3% for GLRaV-3, 7.5% for GVA and 21.7% for GVB and in symptomatic plants was 52.2%, 26.7% and 42.2%, respectively. Additionally, 23 symptomatic plants and initially negative for these three viruses, were reindexed and infections by GLRaV-2 (47.8%), GVD (52.2%) and GRSPaV (95.6%) were then verified. The results made possible to associate the observed symptoms in vines with the viruses of leafroll and rugose wood complex, verifying multiple infections involving combinations of up to six viruses. They also highlight the importance of determining the actual phytosanitary status of plants through laboratory tests to avoid the inadvertent use of infected and asymptomatic materials as buds or cuttings.

Index terms: grapevine, indexing, virus, symptoms, infection.

Introdução

Atualmente foram relatados em todo o mundo 101 vírus infectando videiras (*Vitis* spp.), pertencentes a uma ampla gama de grupos taxonômicos e que, frequentemente, ocorrem em infecções múltiplas (Fuchs, 2023). No entanto, nem todos estes vírus representam uma séria ameaça para a viticultura global (Fuchs, 2020; Wu et al., 2023). Do ponto de vista econômico e considerando-se os efeitos negativos que podem causar nas videiras infectadas, cerca de um terço destes vírus são importantes devido à sua alta virulência e ao seu envolvimento em doenças complexas, como a degenerescência da videira (*fanleaf*), o complexo do lenho rugoso da videira (*rugose wood complex*) e a virose do enrolamento da folha da videira (*grapevine leafroll*) (Scholz et al., 2021).

No Brasil, pelo menos 21 vírus diferentes já foram relatados infectando videiras, sendo que a virose do enrolamento da folha é a mais prejudicial, causada principalmente pelo grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3), gênero *Ampelovirus*, pertencente à família *Closteroviridae*, e também pelo grapevine leafroll-associated virus 2 (GLRaV-2), gênero *Closterovirus*, família *Closteroviridae*. Outra virose muito importante é o complexo do lenho rugoso da videira, a qual encontram-se associados o grapevine virus A (GVA), gênero *Vitivirus*, pertencente à família *Flexiviridae*, o grapevine virus B (GVB),

gênero *Vitivirus*, família *Flexiviridae* e o grapevine virus D (GVD) gênero *Vitivirus*, família *Flexiviridae*, além do grapevine rupestris stem pitting-associated virus (GRSPaV), gênero *Foveavirus*, família *Flexiviridae* (Basso et al., 2017).

Múltiplos vírus podem acumular-se numa videira e vírus individuais ou combinações de diferentes vírus podem induzir efeitos prejudiciais na fisiologia da planta, no rendimento e na qualidade das uvas, afetando negativamente o desempenho da videira (Mannini; Digiario, 2017). A maioria dos vírus que infecta videiras tem apenas o gênero *Vitis* como hospedeira natural e, muitas vezes, os sintomas não podem ser atribuídos a um único vírus, pois videiras sintomáticas, geralmente, apresentam infecções múltiplas (Basso et al., 2017).

Dependendo da interação vírus-hospedeira, pode ser observada uma variedade de sintomas da virose como coloração e aspecto anormais das folhas, presença de tecido corticento nos ramos do ano, presença de caneluras ou acanaladuras no lenho do tronco e dos ramos da cultivar copa ou do porta-enxerto, além de redução na fotossíntese, reduções no número e no peso dos cachos e das bagas e no tamanho da planta (Mannini; Digiario, 2017; Song et al., 2021).

Os sintomas da doença decorrem dos efeitos provocados pelos vírus sobre o crescimento e o desenvolvimento normais das plantas. Como os vírus são capazes de provocar alterações em quase todos os órgãos da planta, afetando várias funções da hospedeira, os sintomas são uma interessante alternativa de estudo, pois contribuem para o entendimento de como esses patógenos afetam e se relacionam com as plantas (Basso et al., 2017). Os sintomas raramente ocorrem isoladamente, ou seja, um único sintoma dificilmente estará relacionado a todo processo infeccioso. O mais comum é que alguns sintomas ocorram simultaneamente ou um tipo suceda outro ao longo do processo infeccioso. Também a expressão de sintomas virais em plantas é determinada por uma ampla gama de fatores biológicos e condições ambientais, por exemplo, genótipo da hospedeira e virulência do patógeno. Assim, atualmente, apesar da disponibilidade de testes moleculares para diagnósticos sensíveis e específicos, a análise visual dos sintomas induzidos por vírus auxilia na identificação preliminar da virose em campo (Fajardo et al., 2017; Fajardo; Nickel, 2019).

Os testes diagnósticos, por outro lado, têm limitações intrínsecas. Assim o resultado deve ser interpretado adequadamente considerando alguns fatores biológicos interferentes, como sazonalidade do título (concentração) viral, variabilidade do isolado

viral e estágio de desenvolvimento da planta que, geralmente, são afetados pelo ambiente (Grohs et al., 2017). Como consequência, a integração criteriosa da avaliação visual dos sintomas exibidos por hospedeiras naturais ou indicadoras, a implementação de diagnósticos moleculares, como a reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa, RT-PCR e RT-PCR em tempo real (RT-qPCR), e até mesmo a aplicação de análises metagenômicas, como o sequenciamento de DNA de alto desempenho (HTS) podem contribuir para reduzir a subjetividade na interpretação de sintomas virais e auxiliar na elucidação da etiologia das doenças envolvendo plantas e vírus (Fajardo; Eiras, 2022).

Um aspecto importante é que plantas assintomáticas, porém infectadas por vírus, se mantidas dentro do vinhedo, podem servir como fonte de inóculo viral para plantas saudáveis ou vinhedos vizinhos. Neste caso, a transmissão viral pode ocorrer por meio de vetores, como cochonilhas, ácaros, nematoides (Basso et al., 2017). O manejo das doenças virais da videira baseia-se principalmente na prevenção e supressão do inóculo viral (Fuchs, 2020). A prevenção da introdução do vírus em novos vinhedos é obtida com a utilização de material de propagação sadio. A redução do inóculo viral em vinhedos infectados é conseguida por meio da eliminação das plantas infectadas (Maliogka et al., 2015). Assim, para que as medidas de manejo e controle das viroses da videira sejam eficazes, é necessário identificar com precisão as plantas com vírus e conhecer a dinâmica da expressão dos sintomas em diferentes genótipos e estágios fenológicos da hospedeira.

O objetivo do trabalho foi determinar, por meio de RT-qPCR, a incidência e a prevalência de vírus relacionando as infecções aos sintomas exibidos por videiras 'Cabernet Sauvignon'.

Material e métodos

Amostras de 30 plantas sintomáticas e de 40 plantas assintomáticas, totalizando 210 amostras de videiras 'C. Sauvignon' (*Vitis vinifera*), foram coletadas em três vinhedos comerciais de dois municípios da Serra Gaúcha, RS, Brasil. Os vinhedos amostrados apresentavam diferenças com relação à presença de plantas com sintomas de viroses na parte aérea das videiras, com incidências de virose, estimada visualmente, em cerca de 5–10% (baixa incidência, vinhedo 1), 70–80% (alta incidência, vinhedo 2), 10–20% (média incidência, vinhedo 3), respectivamente.

Informações sobre os vinhedos avaliados e onde estão localizados: Vinhedo 1: Vale dos Vinhedos

(Bento Gonçalves, RS), coordenadas geográficas (29°10'51,1"S 51°33'23,3"W) e área de 7.884 m², cultivar C. Sauvignon enxertada no porta-enxerto '101-14', plantas com 23 anos, sistema de condução em espaldeira (Figura 1); Vinhedo 2: Pinto Bandeira, RS, coordenadas geográficas (29°06'52,6"S 51°26'47,1"W) e área de 19.272 m², 'C. Sauvignon' sobre porta-enxerto 'Paulsen 1103', plantas com 19 anos, sistema de condução em latada (Figura 2) e Vinhedo 3: Bento Gonçalves, RS, coordenadas geográficas (29°08'36,5"S 51°29'35,0"W) e área de 4.840 m², 'C. Sauvignon' sobre porta-enxerto desconhecido, plantas com 16 anos, sistema de condução em espaldeira (Figura 3). Sintomas foliares semelhantes às viroses do enrolamento da folha e do complexo do lenho rugoso, duas das principais doenças virais da videira, foram observados na amostragem (fevereiro de 2021), tais como enrolamento dos bordos foliares para baixo e avermelhamento das folhas com as nervuras principais permanecendo verdes ou folhas com manchas vermelho-escuras e pequena ondulação dos bordos foliares para baixo (Figura 4). O momento da amostragem coincidiu com o período de expressão dos sintomas das viroses do enrolamento da folha ou do lenho rugoso, os quais são mais perceptíveis do meio para o final do ciclo vegetativo da cultura da videira (Fajardo; Eiras, 2022).

A extração de RNA total, a partir de um grama de pecíolos e nervuras das folhas amostradas, foi realizada triturando-se o tecido vegetal em nitrogênio líquido e posteriormente utilizando protocolo de adsorção em sílica (Rott; Jelkmann, 2001). As amostras foram indexadas por RT-PCR em tempo real (RT-qPCR TaqMan) para GLRaV-3, GVA e GVB, conforme protocolos previamente relatados (Dubie-la et al., 2013). Estes vírus foram selecionados para indexação por estarem estreitamente associados aos sintomas observados nas plantas amostradas (Fajardo; Eiras, 2022).

Complementarmente, as videiras sintomáticas e negativas para a presença dos três vírus inicialmente indexados (GLRaV-3, GVA e GVB), foram adicionalmente indexadas para outros três vírus também relacionados às viroses do enrolamento da folha (GLRaV-2) e do complexo do lenho rugoso (GVD e GRSPaV), visando-se elucidar o provável agente causal associado aos sintomas observados.

Os iniciadores (*primers*) e as sondas utilizados nas reações de RT-qPCR para os seis vírus foram sintetizados com base em relatos disponíveis, GLRaV-2 e GLRaV-3 (Osman et al., 2007) e GVA, GVB, GVD e GRSPaV (Osman; Rowhani, 2008). Os reagentes e concentrações nas reações e as condições de

Fotos: Thor Vinicius Martins Fajardo



Figura 1. Sintomas foliares representativos e característicos de virose observados em videiras 'Cabernet Sauvignon': vinhedo 1 (B, C); planta assintomática (A).



Fotos: Thor Vínicius Martins Fajardo

Figura 2. Sintomas foliares representativos e característicos de virose observados em videiras 'Cabernet Sauvignon': vinhedo 2 (B, C); planta assintomática (A).

Fotos: Thor Vinícius Martins Fajardo

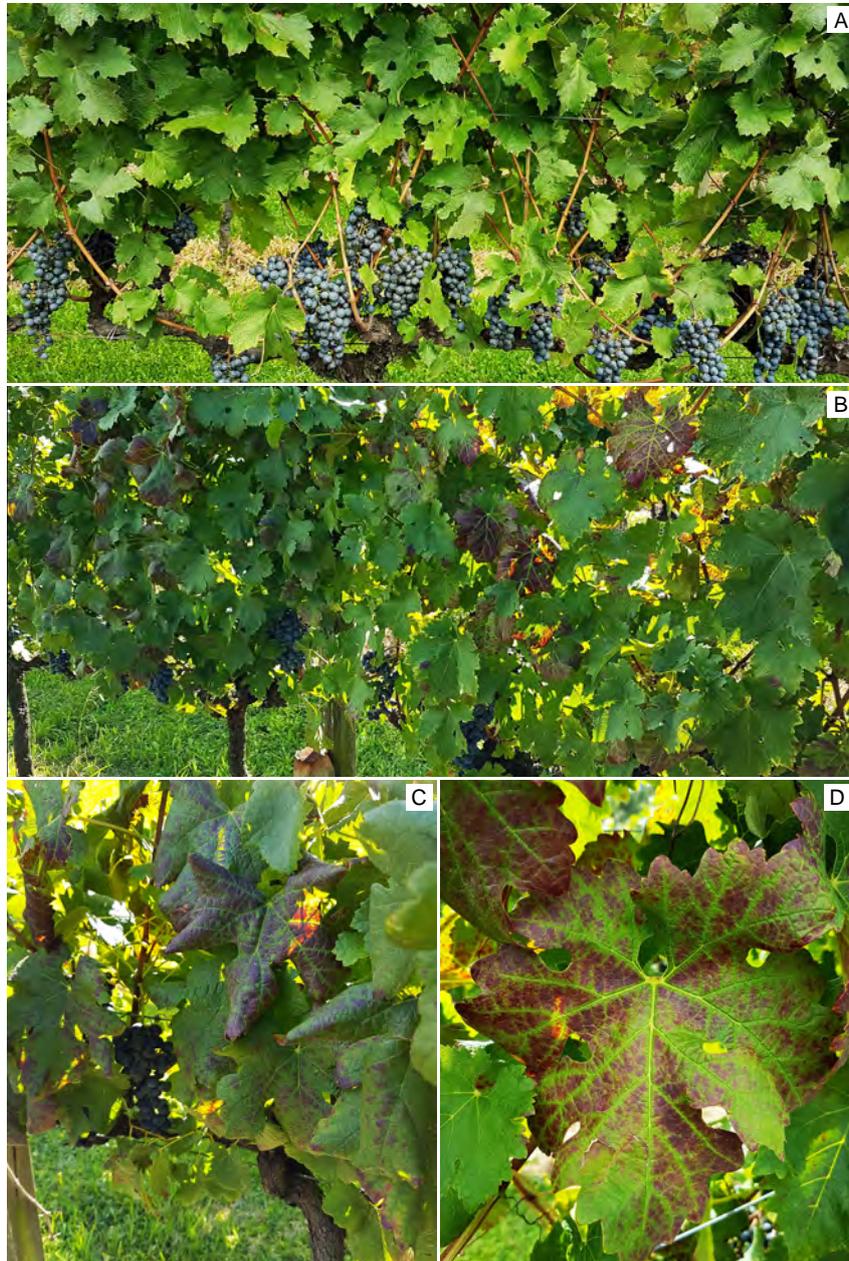
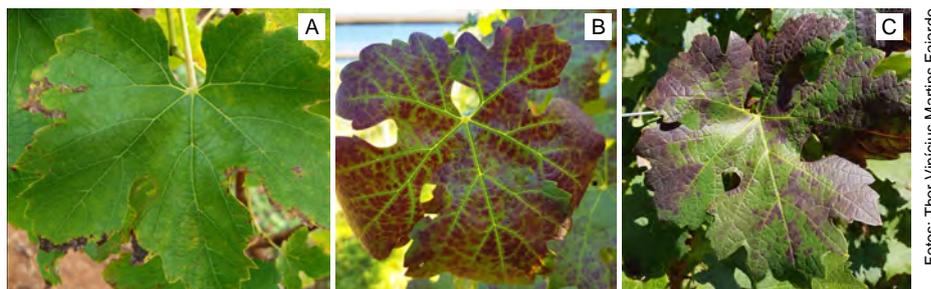


Figura 3. Sintomas foliares representativos e característicos de virose observados em videiras 'Cabernet Sauvignon': vinhedo 3 (B, C, D); planta assintomática (A).



Fotos: Thor Vinicius Martins Fajardo

Figura 4. Sintomas foliares representativos de virose em plantas de 'Cabernet Sauvignon' infectadas nos vinhedos avaliados: enrolamento da folha (B); complexo do lenho rugoso da videira (C); folha assintomática, negativa para três dos vírus inicialmente avaliados (A).

ciclagem da RT-qPCR foram previamente descritos (Dubiel et al., 2013), consistindo em ensaios do tipo presença/ausência, utilizando-se um kit comercial para RT-qPCR e um termociclador com sistema apropriado para emissão e excitação de fluorescência. As reações foram analisadas quantitativa e graficamente com um software disponível no equipamento utilizado.

Resultados e discussão

No total, foram realizados 699 testes de RT-qPCR em 210 amostras de três vinhedos visando-se à detecção de seis importantes vírus que infectam a videira (GLRaV-3, GVA, GVB, GLRaV-2, GVD e GRSPaV) e suas respectivas vinculações com as sintomatologias exibidas pelas videiras amostradas. Na maioria das indexações, 69,2% (83/120) das plantas assintomáticas e 74,4% (67/90) das plantas sintomáticas amostradas estavam negativas ou infectadas por um ou até três vírus inicialmente avaliados (GLRaV-3, GVA e GVB) por RT-qPCR, respectivamente. É importante que a identidade do agente viral seja determinada o mais precocemente possível, ainda no início da doença, pois a estratégia de manejo/controle da virose é baseada nas características de transmissão do patógeno, que podem diferir consideravelmente entre vírus. As medidas de manejo/controle viral, passíveis de serem adotadas, também dependerão da avaliação de exequibilidade, custo e retorno econômico, sem a qual não poderão ser consideradas para efetiva implementação (Fajardo; Nickel, 2019).

No entanto, em 30,8% (37/120) das plantas assintomáticas se detectou pelo menos um dos vírus avaliados, e em 25,6% (23/90) das plantas sintomáticas avaliadas, não foi possível detectar nenhum dos três vírus inicialmente analisados (GLRaV-3,

GVA e GVB). A incidência média de infecção viral nos três vinhedos em plantas assintomáticas foi de 13,3% para GLRaV-3, 7,5% para GVA e 21,7% para GVB. Já em plantas sintomáticas, a incidência média foi bem superior, alcançando 52,2% (GLRaV-3), 26,7% (GVA) e 42,2% (GVB) (Figuras 5 e 6). Assim, a associação da presença de vírus com a expressão de sintomas nas videiras 'C. Sauvignon' analisadas foi parcial, uma vez que algumas plantas assintomáticas foram positivas para um ou mais dos três vírus inicialmente testados. É importante destacar que a ausência de sintomas em hospedeiras infectadas pode ser temporária e transitória, uma vez que os sintomas poderão se manifestar em outro estágio fenológico da planta ou em período posterior.

Inicialmente, não foram detectados vírus em algumas das plantas sintomáticas, impossibilitando a vinculação dos sintomas observados com algum/alguns dos vírus avaliados (GLRaV-3, GVA e GVB). Não obstante a virose do enrolamento da folha ser estreitamente associada ao ampelovírus GLRaV-3 e a virose do lenho rugoso aos vitivírus GVA e GVB, bastante difundidos em vinhedos brasileiros (Basso et al., 2017), outros vírus também podem estar associados a esses complexos virais. Embora o objetivo do estudo não tenha sido determinar detalhadamente todos os vírus associados às plantas analisadas, indexações adicionais foram conduzidas visando-se determinar os agentes causais neste caso específico. Assim, adicionalmente, 23 plantas sintomáticas e negativas para os três vírus inicialmente testados, foram reindexadas e infecções por GLRaV-2 (47,8%), GVD (52,2%) e GRSPaV (95,6%) foram constatadas, com a presença de várias infecções duplas (seis plantas) e triplas (seis plantas) e em apenas uma única amostra sintomática não se detectou nenhum dos seis vírus testados (Figura 7). Desta forma, foram elucidados os possíveis

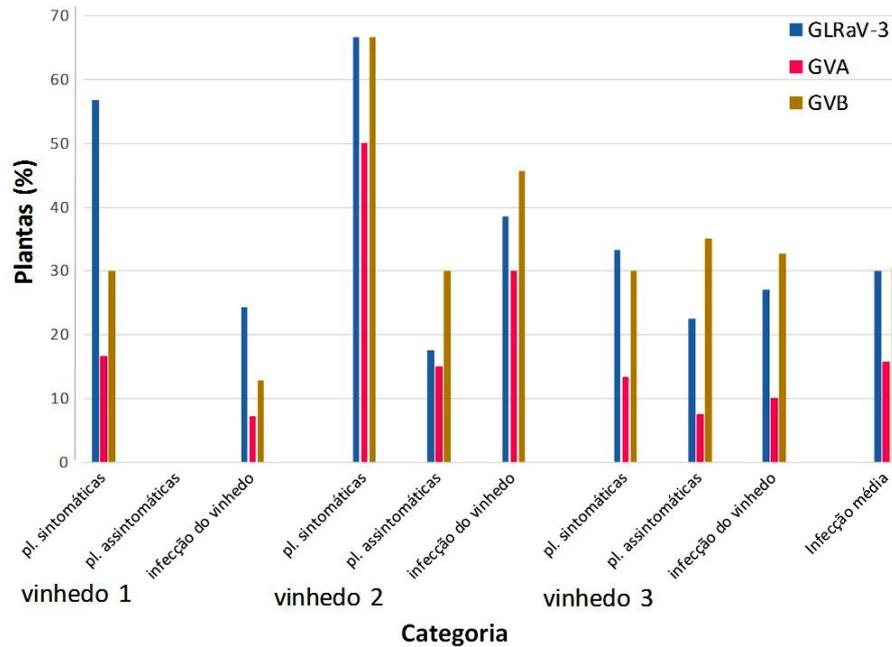


Figura 5. Infecção viral por GLRaV-3, GVA e GVB determinada por RT-qPCR em três vinhedos da Serra Gaúcha, expressa como percentagem de plantas infectadas nas categorias plantas assintomáticas e sintomáticas para víruses.

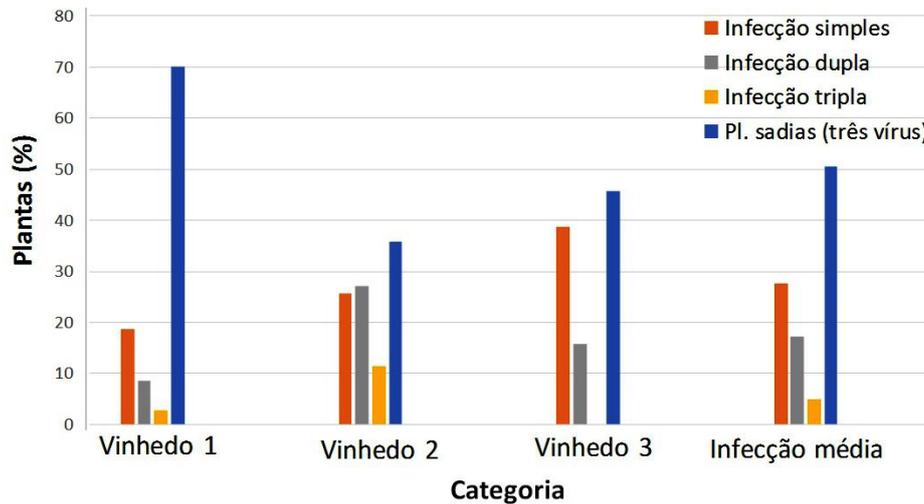


Figura 6. Infecção viral por GLRaV-3, GVA e GVB determinada por RT-qPCR em três vinhedos da Serra Gaúcha, expressa como percentagem de plantas infectadas nas categorias infecção simples, dupla ou tripla e planta sadia (ausência dos três vírus).

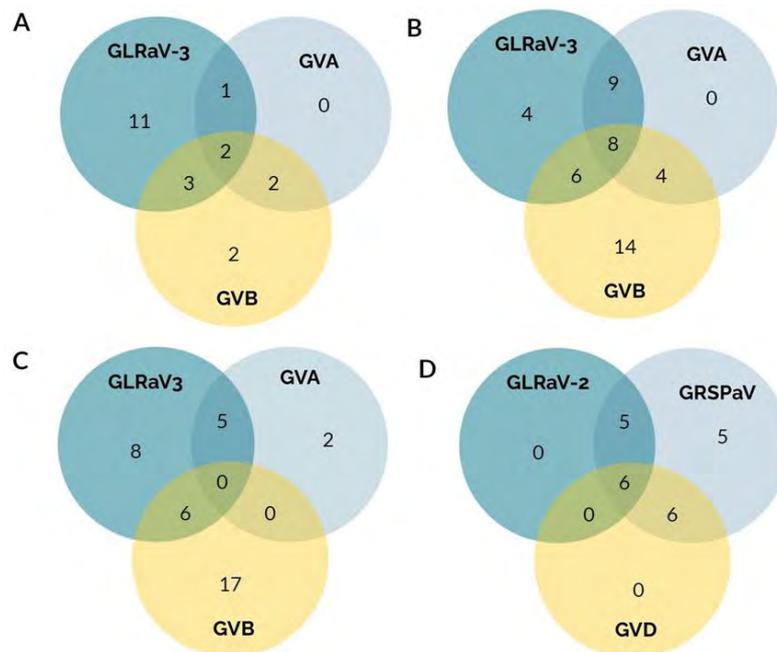


Figura 7. Diagramas de Venn com os resultados das infecções virais simples ou múltiplas para GLRaV-3, GVA e GVB, determinadas por RT-qPCR em 70 amostras de videiras 'Cabernet Sauvignon' (assintomáticas e sintomáticas) por vinhedo, coletadas no vinhedo 1 (A), vinhedo 2 (B) e vinhedo 3 (C). Vinte e três videiras sintomáticas e negativas para três vírus (GLRaV-3, GVA e GVB), adicionalmente indexadas para GLRaV-2, GVD e GRSPaV (D). Amostras negativas para os vírus avaliados: 49 (vinhedo 1), 25 (vinhedo 2), 32 (vinhedo 3) e uma amostra (considerando-se 23 amostras), respectivamente, A, B, C e D.

agentes causais associados aos sintomas observados naquelas plantas sintomáticas e negativas para os vírus GLRaV-3, GVA e GVB.

Os resultados obtidos revelaram que a incidência geral de infecção viral, considerando-se conjuntamente as plantas assintomáticas e sintomáticas do vinhedo e individualmente cada vinhedo, variaram de 24,3 a 38,6% (GLRaV-3), de 7,1 a 30% (GVA) e de 12,8 a 45,7% (GVB) nas três áreas avaliadas. No total das amostras indexadas, verificou-se a prevalência dos vírus GVB e GLRaV-3 (cerca de 30% de incidência), seguida pelo GVA (15,7%) (Figura 5). Foram observadas incidências médias de 27,6; 17,1; 4,8 e 50,5%, respectivamente, para amostras com infecções simples, duplas e triplas e amostras negativas para os três vírus avaliados (Figura 6). Não foram observadas diferenças perceptíveis na severidade dos sintomas nas copas das videiras em função do número de vírus presentes. No entanto, infecções múltiplas tendem a ser mais prejudiciais à planta, podendo inclusive ocorrer efeitos sinérgicos na infecção conjunta por diferentes vírus (Basso et al., 2017).

No vinhedo 1 predominou a virose do enrolamento da folha (GLRaV-3), enquanto nos vinhedos 2 e 3, o complexo do lenho rugoso (GVA/GVB) foi mais frequente (Figura 5). Na maioria dos casos, foi possível vincular os sintomas do enrolamento da folha com a infecção por GLRaV-3, bem como os sintomas foliares do lenho rugoso com infecções por GVA e GVB (Figura 4). Porém, o GLRaV-3 também foi detectado associado às plantas com sintomas predominantes do lenho rugoso ou vice-versa, presença de GVA/GVB em plantas com sintomas predominantes do enrolamento da folha, consequência da ocorrência de infecções múltiplas (Figuras 6 e 7). Nestas situações, dificilmente seria possível a identificação do agente causal apenas pela avaliação dos sintomas exibidos pela planta doente.

Embora a avaliação da qualidade e quantidade da produção de uvas das videiras amostradas não tenha feito parte do escopo desse trabalho, o contraste entre a aparência geral das videiras 'C. Sauvignon' infectadas com o enrolamento da folha e/ou o lenho rugoso e videiras negativas (para os

três vírus iniciais) e/ou assintomáticas (Figuras 1 a 3) pôde ser facilmente notado em função do amadurecimento irregular e incompleto das uvas e cachos menores nas plantas infectadas. Esta observação foi realizada na colheita das uvas (março de 2021). Os prejuízos causados pela presença de viroses incluem queda acentuada da produção, decréscimos no rendimento, número de cachos/planta e peso de bagas, diminuição do teor de açúcar da uva, atraso na maturação das uvas, menor concentração de compostos fenólicos nas uvas tintas, diminuições na longevidade, no vigor e no crescimento vegetativo, podendo levar até à morte de plantas (Pereira

et al., 2021). Como consequência, uvas produzidas por plantas infectadas podem apresentar menores intensidade total de cor (antocianinas) e índice de polifenóis totais (taninos) e outros fenólicos, no caso das cultivares tintas, menor pH e maior acidez total titulável do mosto, além de menor teor de sólidos solúveis totais ($^{\circ}$ Brix), o que potencialmente pode resultar na obtenção de produtos enológicos (vinhos) de qualidade inferior (Nascimento et al., 2015; Mannini; Digiaro, 2017; Fajardo; Eiras, 2022).

O diagnóstico é uma etapa fundamental, juntamente com estudos epidemiológicos, quando se visa implementar um manejo ou controle efetivo de

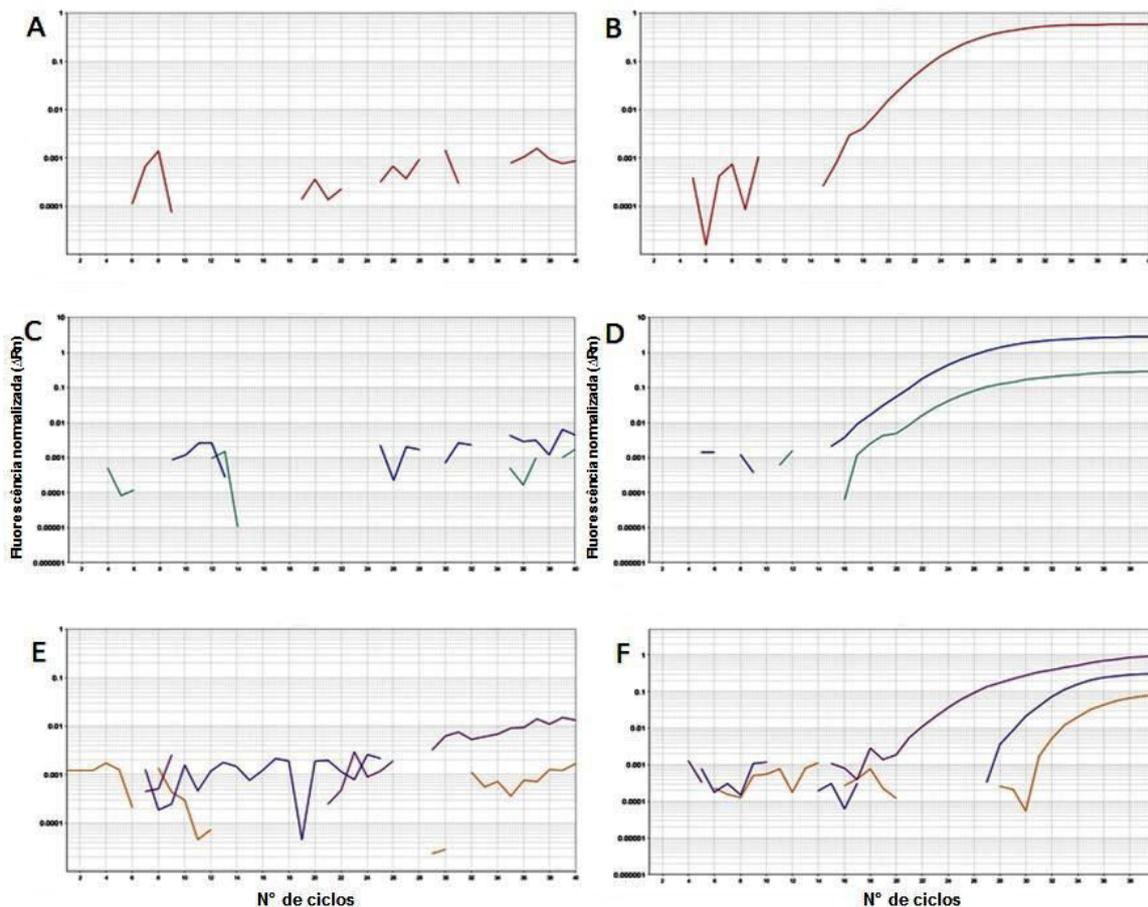


Figura 8. Curvas de amplificação das indexações virais por RT-qPCR de videiras 'Cabernet Sauvignon' testadas para os vírus GLRaV-3, plantas assintomática e sintomática, respectivamente (A, B); GVA (linha verde) e GVB (linha azul), plantas assintomática e sintomática, respectivamente (C, D); GLRaV-2 (linha azul), GVD (linha laranja) e GRSPaV (linha roxa), plantas assintomática e sintomática, respectivamente (E, F). A presença da curva ascendente (logarítmica) nos gráficos (B, D, F) indica amostra infectada pelo vírus avaliado.

doenças causadas por vírus. A avaliação visual em campo é essencial na etapa preliminar. No entanto, o real estado fitossanitário das plantas somente poderá ser determinado com base em testes diagnósticos, como constatado nos vinhedos 2 e 3, onde foi detectada expressiva presença de infecções virais em plantas assintomáticas (Figura 5). A ausência de infecção viral nas plantas assintomáticas do vinhedo 1 pode ser resultante de algumas práticas de manejo implementadas, o que, provavelmente, pode ter evitado ou reduzido as transmissões secundárias de vírus por cochonilhas vetoras dentro deste vinhedo especificamente (Fuchs, 2020). Os vinhedos 2 e 3, com maiores incidências de vírus em plantas assintomáticas (Figura 5), também apresentavam, no geral, as maiores incidências de plantas sintomáticas para viroses. Com a presença de maior número de fontes de inóculo viral, a dispersão viral pode ter sido mais ativa nos vinhedos 2 e 3, o que possibilitaria a presença de maior número de plantas assintomáticas, infectadas mais recentemente. O tempo decorrido a partir da infecção ainda não teria sido suficiente para que as plantas afetadas viessem a manifestar os primeiros sintomas.

Apesar das cultivares de *V. vinifera* L. (uvas europeias) serem genótipos geralmente mais sensíveis à infecção viral, não foi possível determinar, com precisão, o estado fitossanitário da planta unicamente por meio da presença ou ausência de sintomas no momento da coleta das amostras, embora, a coleta tenha ocorrido em estágio fenológico da planta que favorece a manifestação de sintomas das infecções virais. Isto realça a importância da indexação para determinar infecções virais em plantas (Figura 8), uma vez que a avaliação visual da sanidade, especialmente no contexto de infecções virais múltiplas, não é confiável. Plantas assintomáticas e infectadas podem apresentar implicações epidemiológicas, pois a disseminação de vírus poderia ocorrer com a utilização de material propagativo de videiras assintomáticas ou por meio de vetores como, por exemplo, cochonilhas dos gêneros *Pseudococcus* e *Planococcus*. A partir de uma fonte de inóculo viral, que poderia ser uma planta assintomática infectada, haveria possibilidade de disseminação e dispersão viral (Basso et al., 2017). Os vinhedos amostrados apresentaram, além de expressiva incidência de infecções simples, numerosas infecções virais múltiplas (duplas ou triplas) (Figuras 6 e 7). No vinhedo 1, houve prevalência de infecção simples por GLRaV-3 (11 plantas) e, nos vinhedos 2 e 3, prevalência de infecções simples por GVB com 14 e 17 plantas, respectivamente (Figura 7). Esta situação é recorrentemente relatada

em vinhedos brasileiros de diferentes regiões, bem como em outros países vitivinícolas (Catarino et al., 2015; Moura et al., 2018; Fajardo et al., 2020).

Os inseticidas e produtos biológicos registrados para o controle de insetos, incluindo cochonilhas que são vetores de vírus na cultura da videira, podem ser consultados em Garrido e Botton (2023). Já a implementação de outras práticas de manejo (biológico, cultural e químico) visando ao controle desses insetos podem ser consultadas em Silva et al. (2016).

A distribuição irregular dos vírus no interior da videira pode ser resultado de diferenças na interação planta-vírus que podem afetar a dinâmica com que o vírus se replica e se move nos tecidos floemáticos da hospedeira. A replicação viral dentro da planta hospedeira e, conseqüentemente, o tempo necessário para atingir um título (concentração) viral que permita a detecção por testes diagnósticos depende de vários fatores, incluindo a sensibilidade da hospedeira, condições ambientais e o vírus e suas estirpes (Osman et al., 2018; Schoelz et al., 2021). Esses aspectos podem determinar o tempo necessário para a expressão dos sintomas. Mesmo em vinhedos uniformes, plantas e cultivares de videira sensíveis a vírus podem estar distribuídas em áreas sob diferentes condições ou manejos (por exemplo, fertilidade do solo, etc.) que podem promover desenvolvimento e vigor desuniformes da planta e, conseqüentemente, interferir na dinâmica da expressão dos sintomas em função do estágio fenológico da hospedeira. Estes efeitos e suas conseqüências podem explicar, em parte, os resultados obtidos nos vinhedos amostrados, especialmente em relação às plantas assintomáticas e infectadas.

Não há informações sobre os clones da cultivar de C. Sauvignon utilizados nos vinhedos avaliados ou das estirpes e variantes virais presentes nessas plantas. Essas variáveis também podem influenciar a expressão de sintomas como conseqüência da interação diferencial entre o genótipo da hospedeira e o patógeno (Rubio et al., 2020). Recentemente, a variabilidade genética presente em uma ampla gama de isolados brasileiros do GLRaV-3 coletados em videiras infectadas foi determinada por Fajardo et al. (2023). Isto pode explicar, em parte, variações na intensidade e no tipo dos sintomas ou mesmo sua ausência em videiras infectadas com certos isolados. Algumas variantes genéticas do GLRaV-3 podem produzir sintomas fracos ou mesmo não os produzir, enquanto outras causam sintomas bem evidentes (Thompson et al., 2019). De fato, a expressão e a severidade dos sintomas parecem estar relacionadas à intensidade de atuação

do mecanismo supressor do silenciamento gênico, que difere entre os grupos filogenéticos do GLRaV-3 (Gouveia; Nolasco, 2012).

Não é tecnicamente recomendado que o viticultor produza suas próprias mudas a partir de material propagativo coletado de plantas em vinhedos comerciais (Grohs et al., 2017) ou utilize materiais não testados (não indexados) e com estado fitossanitário desconhecido. Recomenda-se que o viticultor utilize materiais testados e isentos de vírus ou, pelo menos, daqueles mais relevantes em relação ao potencial de dano na etapa de implantação do vinhedo. Este tipo de material propagativo e mudas podem ser adquiridos em viveiros comerciais que cumpram as normas que regulamentam a produção de mudas de videiras. Outra recomendação importante é que o produtor promova a remoção/erradicação (*roguing*) de videiras infectadas por vírus do vinhedo tão logo observe os primeiros sintomas da doença.

Conclusões

- 1) Considerando-se um patossistema específico envolvendo um genótipo de videira (*V. vinifera* L.) 'C. Sauvignon', sensível a patógenos virais e a infecção por até seis diferentes vírus, foram determinadas a incidência e a prevalência viral em vinhedos. Foi possível, na maioria das situações avaliadas, relacionar infecção viral com a presença de sintomas na planta e ausência de vírus com videiras assintomáticas. Os resultados possibilitaram associar os sintomas observados nas videiras amostradas como sendo das viroses do enrolamento da folha e do complexo do lenho rugoso em infecções simples ou múltiplas.
- 2) Além de elevada incidência de infecções com diferentes combinações de vírus em plantas sintomáticas, houve registro de significativas infecções em videiras assintomáticas. Isto pode ter implicações epidemiológicas, uma vez que videiras assintomáticas podem constituir fontes de inóculo viral para a transmissão por insetos vetores, além de os vírus poderem ser disseminados com o material propagativo proveniente de videiras assintomáticas e infectadas no processo de produção de mudas.
- 3) Os resultados evidenciam a importância da indexação laboratorial para determinar a condição fitossanitária das videiras. Apenas a avaliação ou inspeção visual da sanidade não é recomendada por não ser confiável, podendo eventualmente levar à propagação de plantas assintomáticas e infectadas por vírus.

Agradecimentos

Ao técnico Marcos Fernando Vanni, Juliane Barreto de Oliveira e Luciano Espindola Fernandes pelo apoio na realização dos testes laboratoriais de indexação viral e na amostragem a campo. Às três vinícolas que apoiaram o estudo ao disponibilizarem seus vinhedos para as coletas das amostras analisadas. Este trabalho foi financiado pela Embrapa, projeto SEG 22.16.04.035.00.00.

Referências

- BASSO, M. F.; FAJARDO, T. V. M.; SILDARELLI, P. Grapevine virus diseases: economic impact and current advances in viral prospection and management. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 1, e-411, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-29452017411>.
- CATARINO, A. de 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**, v. 45, n. 3, p. 379-385, Mar. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20140587>.
- DUBIELA, C. R.; FAJARDO, T. V. M.; SOUTO, E. R.; NICKEL, O.; EIRAS, M.; REVERS, L. F. Simultaneous detection of Brazilian isolates of grapevine viruses by TaqMan real-time RT-PCR. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 2, p. 158-165, Apr. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1982-56762013000200011>.
- FAJARDO, T. V. M.; BERTOCCHI, A. A.; NICKEL, O. Determination of the grapevine virome by high-throughput sequencing and grapevine viruses detection in Serra Gaúcha, Brazil. **Revista Ceres**, v. 67, n. 2, p. 156-163, Mar./Apr. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/0034-737X202067020010>.
- FAJARDO, T. V. M.; EIRAS, M. Doenças virais em videiras. In: BUENO, C. Jr. (Org.). **Doenças e pragas em videiras**. São Paulo: Instituto Biológico de São Paulo, 2022. p. 61-103. (Instituto Biológico. Boletim técnico, 33). DOI: <https://doi.org/10.31368/2594-6080b33002022>.
- FAJARDO, T. V. M.; EIRAS, M.; NICKEL, O. **Sintomas de viroses em plantas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2017. 13 p. (Embrapa Uva e Vinho. Comunicado técnico, 202). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1084312>. Acesso em: 1 mar. 2024.
- FAJARDO, T. V. M.; NICKEL, O. **Transmissão de vírus e controle de viroses em plantas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2019. 25 p. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 110). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1107832>. Acesso em 1 mar. 2024.

- FAJARDO, T. V. M.; PERES, C. A.; NICKEL, O. Real-time RT-PCR high-resolution melting curve analysis to detect and differentiate Brazilian variants of grapevine viruses. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, v. 38, n. 2, p. 188-195, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1051/ctv/ctv20233802188>.
- FUCHS, M. Grapevine viruses: a multitude of diverse species with simple but overall poorly adopted management solutions in the vineyard. **Journal of Plant Pathology**, v. 102, p. 643-653, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42161-020-00579-2>.
- FUCHS, M. Grapevine virology highlights: 2018-2023. CONGRESS OF THE INTERNATIONAL COUNCIL FOR THE STUDY OF VIRUS AND VIRUS-LIKE DISEASES OF THE GRAPEVINE, 20., 2023, Thessaloniki, Greece. **Proceedings** [...]. Thessaloniki: <https://icvg.org/data/ICVG20Abstracts.pdf>. ICVG2023, 2023. p.18-26.
- GARRIDO, L. da R.; BOTTON, M. **Agrotóxicos registrados para a cultura da videira - Safra 2023/2024**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2023. 42 p. (Embrapa Uva e Vinho. Comunicado técnico, 229). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1154963>. Acesso em: 1 mar. 2024.
- GOUVEIA, P.; NOLASCO, G. The p19.7 RNA silencing suppressor from grapevine leafroll-associated virus 3 shows different levels of activity across phylogenetic groups. **Virus Genes**, v. 45, n. 2, p. 333-339, Jun. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11262-012-0772-3>.
- GROHS, D. S.; ALMANÇA, M. A. K.; FAJARDO, T. V. M.; HALLEEN, F.; MIELE, A. Advances in propagation of grapevine in the world. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 4, e-760, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-29452017760>.
- MALIOGKA, V. I.; MARTELLI, G. P.; FUCHS, M.; KATIS, N. I. Control of viruses infecting grapevine. **Advances in Virus Research**, v. 91, p. 175-227, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2014.11.002>.
- MANNINI, F.; DIGIARO, M. The effects of viruses and viral diseases on grapes and wine. In: MENG, B.; MARTELLI, G. P.; GOLINO, D. A.; FUCHS, M. (ed.). **Grapevine viruses: Molecular biology, diagnostics and management**. Cham, Switzerland: Springer, 2017. p. 453-482. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-57706-7_23.
- MOURA, C. J. M. de; FAJARDO, T. V. M.; EIRAS, M.; SILVA, F. N. da; NICKEL, O. Molecular characterization of GSyV-1 and GLRaV-3 and prevalence of grapevine viruses in a grape-growing area. **Scientia Agricola**, v. 75, n. 1, p. 43-51, Jan./Feb. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2016-0328>.
- NASCIMENTO, M. B.; FAJARDO, T. V. M.; EIRAS, M.; CZERMAINSKI, A. B. C.; NICKEL, O.; PIO-RIBEIRO, G. Desempenho agrônômico de videiras com e sem sintomas de viroses, e comparação molecular de isolados virais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 7, p. 541-550, jul. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2015000700004>.
- OSMAN, F.; GOLINO, D.; HODZIC, E.; ROWHANI, A. Virus distribution and seasonal changes of Grapevine leafroll-associated viruses. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 69, n. 1, p. 70-76, 2018. DOI: <https://doi.org/10.5344/ajev.2017.17032>.
- OSMAN, F.; LEUTENEGGER, C.; GOLINO, D.; ROWHANI, A. Real-time RT-PCR (TaqMan) assays for the detection of Grapevine leafroll associated viruses 1-5 and 9. **Journal of Virological Methods**, v. 141, n. 1, p. 22-29, April 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.11.035>.
- OSMAN, F.; ROWHANI, A. Real-time RT-PCR (TaqMan) assays for the detection of viruses associated with Rugose wood complex of grapevine. **Journal of Virological Methods**, v. 154, n. 1-2, p. 69-75, Dec. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2008.09.005>.
- PEREIRA, G. E.; PADHI, E. M. T.; SUDARSHANA, M. R.; FIALHO, F. B.; MEDINA-PLAZA, C.; GIRARDELLO, R. C.; TSENG, D.; BRUCE, R. C.; ERDMANN, J. N.; SLUPSKY, C. M.; OBERHOLSTER, A. Impact of grapevine red blotch disease on primary and secondary metabolites in 'Cabernet Sauvignon' grape tissues. **Food Chemistry**, v. 342, p. 128312, Apr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128312>.
- ROTT, M. E.; JELKMANN, W. Characterization and detection of several filamentous viruses of cherry: adaptation of an alternative cloning method (DOP-PCR) and modification of an RNA extraction protocol. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, n. 4, p. 411-420, May 2001. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1011264400482>.
- RUBIO, L.; GALIPIENSO, L.; FERRIOL, I. Detection of plant viruses and disease management: Relevance of genetic diversity and evolution. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. 1092, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01092>.
- SCHOELZ, J.; VOLENBERG, D.; ADHAB, M.; FANG, Z.; KLASSEN, V.; SPINKA, C.; AI RWAHNIH, M. A survey of viruses found in grapevine cultivars grown in Missouri. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 72, p. 73-84, 2021. DOI: <https://doi.org/10.5344/ajev.2020.20043>.
- SILVA, V. C. P. da; BOTTON, M.; PRADO, E.; OLIVEIRA, J. E. de M. **Bioecologia, monitoramento e controle de cochonilhas farinhentas (Hemiptera: Pseudococcidae) na cultura da videira**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2016. 20 p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular técnica, 125). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1047279>. Acesso em: 1 mar. 2024.

SONG, Y.; HANNER, R. H.; MENG, B. Probing into the effects of grapevine leafroll-associated viruses on the physiology, fruit quality and gene expression of grapes. **Viruses**, v. 13, n. 4, p. 593, Mar. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/v13040593>.

THOMPSON, B. D.; DAHAN, J.; LEE, J.; MARTIN, R. R.; KARASEV, A. V. A novel genetic variant of grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3) from Idaho grapevines. **Plant Disease**, v. 103, n. 3, p. 509-518, Jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-18-1303-RE>.

WU, Q.; HABILI, N.; TYERMAN, S. D.; RINALDO, A.; LITTLE, A.; CONSTABLE, F. E. First detection of five previously unreported grapevine viruses in Australia. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 18, n. 27, July 2023. DOI: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13314-023-00511-4>.