

Comunicado 157

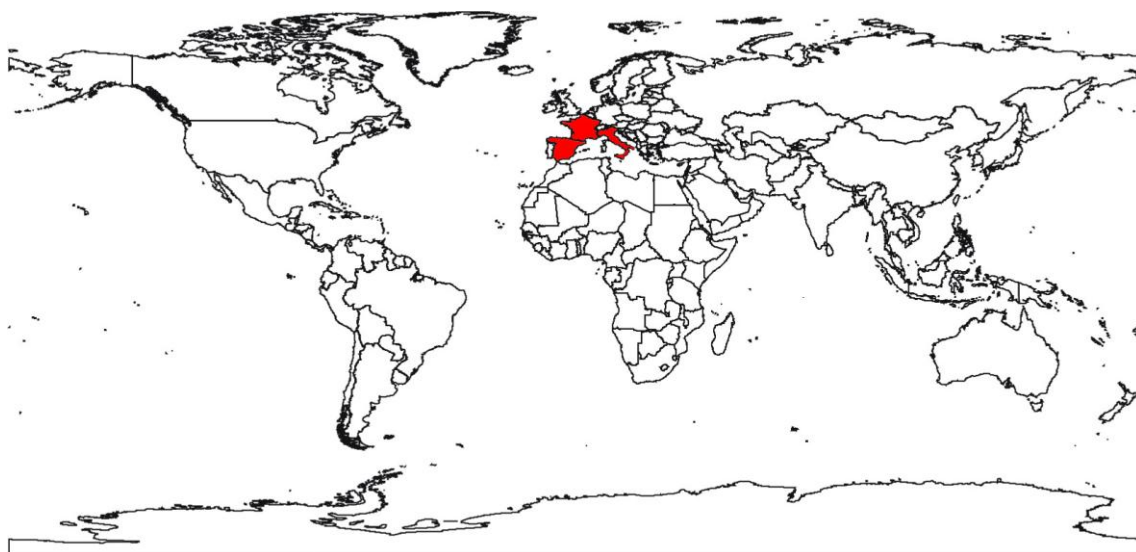
Técnico

ISSN 9192-0099
Dezembro, 2007
Brasília, DF

PRAGA QUARENTENÁRIA A1

Grapevine flavescence dorée phytoplasma

Vera Lúcia de A. Marinho¹
Maria de Fátima Batista²



Distribuição geográfica do *Grapevine flavescence dorée phytoplasma*

¹ Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Engenheiro Agrônomo, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

INTRODUÇÃO

Muitas doenças de videira provocadas por fitoplasmas, ou suspeitas de sê-lo, já foram descritas. Entre elas, a doença causada pelo “Grapevine flavescence dorée phytoplasma”, é a mais importante e a melhor estudada. Ela é uma doença epidêmica caracterizada por sua disseminação rápida dentro dos vinhedos devido a uma transmissão, de planta à planta, por uma cigarrinha e pelo seu ciclo, “crise – recuperação – recaída”.

A doença foi primeiramente descrita na França por Caudwell em 1957, baseado nos sintomas observados, sem no entanto conhecer o agente causal. Mais tarde, um organismo tipo micoplasma (MLO) foi associado à doença e hoje se conhece muito bem o patógeno envolvido com a flavescence dorée, um fitoplasma do grupo do “Elm yellows” (16SrV) (Clair *et al.*, 2003)

Gärtel em 1965, na Alemanha, descreve uma doença em videira, com sintomas parecidos ao da flavescence dorée e o chama de “Vergilbungskrankheit”. Mais tarde essa doença foi caracterizada como um fitoplasma do grupo do Stolbur (16SrXII) e chamada de “bois noir”, na França, e “Mediterranean yellows”, na Itália (Clair *et al.*, 2003). Essa doença é transmitida por enxertia, se dissemina lentamente e, aparentemente, não se transmite de planta à planta e não se conhece o inseto vetor.

A flavescence dorée representa um risco em potencial para a Europa e poderá causar problemas bem mais graves a viticultura. A presença do inseto vetor na Europa do leste constitui uma grande ameaça para países produtores como a Croácia, Eslovênia e outros (EPPO/CABI, 2003).

O Grapevine flavescence dorée phytoplasma é uma praga de quarentena A2 para a OEPP/EPPO, em razão do risco de disseminação do patógeno, transmitido por um vetor, à países onde o amarelecimento da videira não ocorre ou

onde se encontra somente o “bois noir” (OEPP/EPPO, 1994 a).

POSIÇÃO SISTEMÁTICA

Nome científico da praga: Grapevine flavescence dorée phytoplasma

Classe: *Mollicutes*

Ordem: *Acholeplasmatales*

Família: *Acholeplasmataceae*

Gênero: *Phytoplasma*

Nomes comuns

Baco 22 A disease (inglês)

Flavescencia dorada (espanhol)

Flavescence dorée (francês)

Flavescenza dorata (italiano)

PLANTAS HOSPEDEIRAS

As principais plantas hospedeiras da “Flavescence dorée” é *Vitis vinifera* (videira), mas *V. riparia* pode também ser infectada de maneira natural. O fitoplasma pode ser transmitido pelos insetos vetores de videira para *Vicia faba* e *Chrysanthemum carinatum*, e ser retransmitido para videira. Na região da OEPP/EPPO, *V. vinifera* é a única planta hospedeira importante (OEPP/EPPO, 1994 a).

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

“*Flavescence dorée phytoplasma*”

Na Europa, o fitoplasma da flavescence dorée foi detectado em videiras da **França**, onde apresenta disseminação importante nas regiões de, Aquitaine, Languedoc-Roussillon e Midi-Pyrénées, disseminação estável, na Corsica, Jura e Rhône-Alpes e distribuição limitada na Bourgogne, Champagne e Pays de Loire e do norte da **Itália**, na Ligúria, Piemonte e Veneto (Angelini *et al.*, 2001). Em 1997, esse fitoplasma foi detectado na **Espanha** (Batlle *et al.*, 1997).

O fitoplama que causa amarelecimento das videiras no Centro e no sul da Itália, nos Estados Unidos, na Suíça, em Israel e

na Austrália, não é a flavescence dorée (Daire *et al.*, 1997, Davis & Dally, 2001).

"Grapevine bois noir phytoplasma"

Europa: Alemanha, Espanha, França, Itália, Eslovênia e na Suíça

Ásia: Israel

América do Norte: Estados Unidos

"Outros sintomas de amarelecimentos em videira de causa indeterminada"

África: África do Sul e Tunísia

América do Norte: México

América do Sul: Argentina e Chile

Oceania: Austrália e Nova Zelândia

BIOECOLOGIA

O agente causal da flavescence dorée, como todo fitoplasma, se localiza dentro do floema das videiras infectadas de onde o inseto vetor o adquire para uma nova transmissão. Um único inseto vetor infectado pode ser suficiente para transmitir a doença, iniciando-se assim uma epidemia. Como não é conhecido nenhum outro hospedeiro secundário, provavelmente todo ciclo biológico da doença ocorre na videira e no inseto vetor, dentro dos vinhedos.

O principal vetor da doença é a cigarrinha *Scaphoideus titanus*, é originária da América do Norte e foi introduzida na Europa. Os fitoplasmas são encontrados dentro das glândulas salivares do inseto vetor, podendo ser detectados sorologicamente pelo teste de ELISA, utilizando-se um único inseto (Boudon-Padieu *et al.*, 1989).

Uma outra cigarrinha, *Euscelidus variegatus*, é capaz de transmitir artificialmente a doença para *Vicia faba* para *V.faba* e desta para *Pisum*, *Chrysanthemum*, *Lupinus* e *Catharanthus roseus*. Lefol *et al.*, 1993, encontraram fitoplasmas ligados fortemente a outros insetos, mas não puderam demonstrar que esses insetos eram vetores da doença.

No sudoeste da França há uma geração por ano de *S. titanus*. Os ovos são postos dentro da casca de videiras com cerca de dois anos e há cinco stádios larvares, compreendidos entre os meses de maio a julho (primavera-verão na Europa). Os adultos aparecem no final de julho e são encontrados até o início de setembro. O período de aquisição do fitoplasma pelos insetos é geralmente em torno de 7- 8 dias, às vezes 4 dias, e seguido de um longo período de latência. Dessa maneira, a transmissão leva de 38 - 42 dias no total. Os stádios larvares e os adultos podem adquirir o fitoplasma, mas, os machos são mais eficazes que as fêmeas na transmissão da doença (Schwester *et al.*, 1969).

O *"Grapevine bois noir phytoplasma"* não é transmitido por *S. titanus* e, até agora, nenhum inseto vetor foi associado a essa doença.

SINTOMAS

Uma descrição completa sobre os sintomas da flavescence dorée foi dada por Caudwell, 1964 e por Belli *et al.*, 1973.

Os sintomas aparecem durante o verão, mas as videiras atacadas podem, na primavera, recuperar seu crescimento reduzido e às vezes a produção de galhos. Os sintomas podem ser observados em um grupo de galhos ou na planta inteira.

Os galhos das videiras sensíveis, quando a infecção é precoce, não se lignificam, são finos, elásticos e caídos. A seguir, eles tornam-se quebradiços e uma necrose do broto apical e dos laterais pode surgir. Durante o inverno, os galhos não lignificados apodrecem e morrem.

Quando a infecção ocorre mais tarde, a lignificação é interrompida e os galhos infectados apodrecem também no

inverno, mas sobrevivem e crescem um pouco na primavera seguinte. Nas cultivares mais resistentes, a não lignificação é muito mais marcante, mas, ela é limitada a alguns entrenós.

Numerosas pústulas negras aparecem ao longo do tronco das plantas doentes. No fim do verão, principalmente, nas zonas meridionais, fissuras longitudinais são produzidas dentro do lenho, na base dos troncos gravemente atacados.

As folhas apresentam cores fortes e bordas enroladas para baixo. Nas cultivares de uvas brancas, a parte do limbo exposta ao sol amarelece dando à folha um aspecto metálico (**Fig. 1**). Mais tarde, manchas amarelas e com contornos bem delimitados aparecem ao longo das nervuras principais (**Fig. 2**). Essas manchas crescem e formam bandas amarelas contínuas ao longo das nervuras que se estendem progressivamente sobre uma grande parte da superfície foliar. As cultivares de uvas vermelha apresentam o mesmo tipo de mudanças de cor das folhas, mas, as descolorações são avermelhadas. O centro das zonas descoloridas se necrosa e seca. As folhas rígidas e quebradiças são quase sempre arrancadas pelo vento, mas, parecem resistir ao gelo do outono e caem mais tarde que as folhas saudáveis.

A brotação é reduzida em videiras infectadas precocemente e as inflorescências secam e caem. No caso das infecções mais tardias, os cachos de uva tornam-se marrons e enrugados e os pedúnculos secam (**Fig. 3**). Em cultivares como Baco 22, as uvas caem facilmente quando tocadas.

MORFOLOGIA

Fitoplasmas podem ser descritos como células procariotas, sem parede celular, polimorfos, capazes de passar pelos tubos crivados, não cultiváveis em meio

de cultura e sensíveis a antibióticos do grupo das tetraciclina. Geralmente são redondas ou ovóides, com uma membrana celular de até três camadas, com duas membranas densas envolvendo uma membrana transparente, visível apenas por microscopia eletrônica. O tamanho da célula varia de 142-295 nm de diâmetro e 1 a 16 μm de comprimento.

Possuem DNA e RNA e sua posição filogenética é baseada no DNA ribossômico, fração 16S e espaçador 16S/23S. O fitoplasma da flavescence dorée da videira pertence ao grupo 16SrV, mesmo grupo do fitoplasma "elm yellows" (Angeline *et al.*, 2001).

FORMA DE TRANSMISSÃO/DISSEMINAÇÃO

A disseminação da flavescence dorée se faz por intermédio de material de propagação de videira infectada e pelo inseto vetor do fitoplasma. A disseminação local é realizada eficazmente pela cigarrinha *Scaphoideus titanus* (**Fig. 4**), a uma velocidade de 5-10 km cada ano, no sudoeste da França. A disseminação a longas distâncias é feita por intermédio do material de propagação vegetativa infectado. Estacas sem sintomas aparentes podem conter o fitoplasma e/ou ovos do inseto vetor (EPPO/CABI, 2003).

DETECÇÃO / IDENTIFICAÇÃO

Os métodos sorológicos como ELISA e/ou associados à Microscopia Eletrônica como ISEM, utilizando-se anticorpos monoclonais ou policlonais, podem ser utilizados com sucesso no diagnóstico da flavescence dorée em plantas hospedeiras herbáceas e no inseto vetor (Caudwel & Kuszala, 1992; Boudon-Padieu *et al.*, 1989). Sondas moleculares também são utilizadas para detectar o fitoplasma no inseto vetor (Bertaccini *et*

al., 1993). No entanto esses métodos não são suficientemente sensíveis para detectar o fitoplasma em videiras. A inspeção visual ainda é o método prático e de rotina para a certificação das videiras na região da EPPO, com possibilidades de testes de enxertia em variedades indicadoras como Baco 22, Chardonnay ou Aramon (EPPO/OEPP, 1994 b).

Mais recentemente, com o uso de técnicas moleculares mais sensíveis, a detecção e identificação do fitoplasma da flavescence dorée tornou-se mais segura e atualmente a detecção é realizada por PCR, com primers específicos. PCR-RFLP e PCR-HMA são também utilizadas para estudos filogenéticos dessa doença (Clair *et al.*, 2003; Angeline *et al.*, 2003; Angeline *et al.*, 2001; Batlle *et al.*, 1997; Daire *et al.*, 1997).

EXPRESSÃO ECONÔMICA

Se a doença se disseminar sem oposição, a epidemia da flavescence dorée tem conseqüências catastróficas. Entre 1949 e 1954, em Amagnac e Chalosse (França), todas as videiras da cultivar Baco 22 estavam infectadas. A doença tem sempre uma grande importância econômica, sobretudo para as cultivares Chardonnay e Baco 22. No norte da Itália a doença causou graves problemas nas cultivares Chardonnay, Pinot blanc e outras cultivares sensíveis (Osler *et al.*, 1993). Na região da Languedoc-Roussillon, a incidência da doença aumentou em 1995 e tratamentos obrigatórios foram realizados, contra o vetor *S. titanus*, em 25 000 ha de videiras (Descoins, 1995).

MEDIDAS QUARENTENÁRIAS

A OEPP/EPPO recomenda para certificar a ausência da doença, que as plantações de videira sejam estabelecidas em zonas livres de flavescence dorée e que o

material de propagação vegetativo seja produzido nesta zona. Uma outra alternativa é que as plantas-mães sejam inspecionadas durante o período de crescimento e sejam particularmente, bem protegidas contra o inseto vetor.

O controle do inseto vetor é realizado por: (i) eliminação dos ovos através da queima dos restos culturais após a poda, (ii) um ou dois tratamentos químicos contra a larva, 30 e 45 dias após a eclosão, seguido de um tratamento contra os adultos (Caudwell & Martelli, 1992).

Um esquema para certificação videira, expedido pela OEPP/ EPPO, está disponibilizado para garantir plantações livres desse fitoplasma e com nível de segurança elevado (OEPP/ EPPO, 1994 b).

Os fitoplasmas podem ser eliminados de estacas dormentes infectadas, tratando-as com água a 45°C, durante 3h ou a 50°C por 40-60 min (Caudwell, et al., 1992). No entanto, a eficácia desses tratamentos para um serviço de quarentena não foi confirmado.

BIBLIOGRAFIA

ANGELINI, E., CLAIR, D., BORGIO M., BERTACCINI, A. & BOUDON-PADIEU, E. Flavescence dorée in France and Italy - occurrence of closely related phytoplasma isolates and their near relationships to palatinate grapevine yellows and an alder yellows phytoplasma. *Vitis*, 40: n°2, 79-86. 2001.

Blackwell Publishing Ltd.

ANGELINI, E., NEGRISOLO, E., CLAIR, D. & BOUDON-PADIEU E. Phylogenetic relationships among Flavescence dorée strains and related phytoplasmas determined by heteroduplex mobility assay and sequence of ribosomal and

- nonribosomal DNA. *Plant Pathology*, 52: 663–672. 2003.
- BATLLE, A., LAVINA, A., KUSZALA, C., CLAIR, D., LARRUE, J. & BOUDON-PADIEU E. Detection of flavescence dorée phytoplasma in grapevine in northern Spain. *Vitis*, 36: n°4, 211-212. 1997.
- BELLI, G., FORTUSINI, A., OSLER, R. & AMICI, A. Presence of flavescence dorée-like symptoms in the vineyards of Oltrepèpavese. *Rivista di Patologia Vegetale* 9: 50-56. 1973.
- BERTACCINI, A., ARZONE, A., ALMA, A. & VIBIO, M. Detection of MLOs in *Scaphoideus titanus* reared on flavescence dorée-infected grapevine by dot hybridization using DNA probes. *Phytopathologia Mediterranea*, 32: 20-24. 1993.
- BOUDON-PADIEU, E., LARRUE, J., & CAUDWELL, A. ELISA and dot-blot detection of flavescence dorée MLO in individual leafhopper vectors during latency and inoculative state. *Current Microbiology* 19, 357-364. 1989.
- CAUDWELL, A. Deux années d'études sur la flavescence dorée, nouvelle maladie grave de la vigne. *Annales d'Amélioration des Plantes*, 4: 359–393. 1957.
- CAUDWELL, A. Identification et étude d'une nouvelle maladie à virus de la vigne, la flavescence dorée. *Annales des Epiphyties*, 15 : 1-193. 1964.
- CAUDWELL, A. & MARTELLI, G. P. Flavescence dorée. In: *Detection and diagnosis of graft-transmissible diseases of grapevine*. Ed. Martelli, G. P. FAO, Rome, Italie. 1992.
- CAUDWELL, A. & KUSZALA C. Mise au point d'un test ELISA sur les tissus de vignes atteintes de flavescence dorée. *Research in microbiology*, 143: no8, 791-806. 1992.
- CLAIR, D., LARRUE J., AUBERT G., GILLET J., CLOQUEMIN G., BOUDON-PADIEU E. A multiplex nested-PCR assay for sensitive and simultaneous detection and direct identification of phytoplasma in the Elm yellows group and Stolbur group and its use in survey of grapevine yellows in France. *Vitis*, 42 : n°3, 151-157. 2003.
- DAIRE, X., CLAIR, D., REINERT, W. & BOUDON-PADIEU, E.. Detection and differentiation of grapevine yellows phytoplasmas belonging to the elm yellows group and to the stolbur subgroup by PCR amplification of non-ribosomal DNA. *European Journal of Plant Pathology* 103: 507–514, 1997.
- DAVIS, R. E. & DALLY, E. L. Revised subgroup classification of group 16SrV phytoplasmas and placement of Flavescence Dorée-associated phytoplasmas in two distinct subgroups. *Plant Disease*, 85: 790–797. 2001.
- DESCOINS, M. Flavescence dorée – la guerre des Corbières. *Phytoma*, 477 :26-28. 1995.
- EPPO/CABI. Data sheets on quarantine pests – grapevine Flavescence dorée phytoplasma. In: *Quarantine Pests for Europe*. Eds..Smith, I. M., McNamara, D.G., Scott, P. R., Holderness, M., Wallingford, UK: CABI International, 1013 –1021. 2003.
- GÄRTEL, W. Untersuchungen über das Auftreten und das Verhalten des flavescence dorée in den Weinbaugebieten am Mosel und Rhein. *Weinberg und Keller*, 12: 347–376. 1965
- LEFOL, C., CAUDWELL, A., LHERMINIER, J. & LARRUE, J. Attachment of the flavescence dorée pathogen (MLO) to leafhopper vectors and others insects. *Annals of Applied Biology*: 123: 611-622. 1993.
- OEPP/EPPO. Méthodes phytosanitaire, n° 57. MLO des arbres fruitiers et de la vigne. *Bulletin* 24: 339-342. 1994 a.

OEPP/EPPO. Schéma de certification n° 8. Certification sanitaire des variétés et porte-greffe de la vigne. Bulletin 24: 347-368. 1994 b.

OSLER, R., CARRARO, L., LOI, N. & REFATTI, E. Symptom expression and disease occurrence of a yellows disease

of grapevine in Northeastern Italy. *Plant disease*, 77: n°5, 496-498. 1993.

SCHWESTER, D., CARLE, P. & MOUTOUS, G. Nouvelles données sur la transmission de la favesence dorée de la vigne par *Scaphoideus littoralis* Ball. *Annales de Zoologie et Ecologie Animale* 1: 445-465. 1969.



Foto: Chambre d'Agriculture,

Fig. 1: Sintomas do flavescence dorée phytoplasma em folhas e frutos infectados.



Foto: Eppo Gallery

Fig. 2: Sintomas da flavescence dorée phytoplasma em folhas (manchas amarelas e com contornos bem delimitados ao longo das nervuras principais).



Foto: Michael Maixner, BBA.

Fig. 3: Morte de frutos causada pelo flavescence dorée phytoplasma.



Foto: Chambre d'Agriculture,

Fig. 4 : Scaphoïdeus titanus, inseto adulto, vetor do flavescence dorée phytoplasma.

Comunicado Técnico, 165

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
 Serviço de Atendimento ao Cidadão
 Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) – Brasília, DF CEP 70770-900 – Caixa Postal 02372
 PABX: (61) 3448-4673 Fax: (61) 3340-3624
<http://www.cenargen.embrapa.br>
 e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

1ª edição
 1ª impressão (2007):

Comitê de Publicações

Presidente: Sergio Mauro Folle
Secretário-Executivo: *Maria da Graça Simões Pires Negrão*

Membros: Arthur da Silva Mariante
 Maria da Graça S. P. Negrão
 Maria de Fátima Batista
 Maurício Machain Franco
 Regina Maria Dechechi Carneiro
 Sueli Correa Marques de Mello
 Vera Tavares de Campos Carneiro

Expediente

Supervisor editorial: *Maria da Graça S. P. Negrão*

Normalização Bibliográfica: *Maria Iara Pereira Machado*

Editoração eletrônica: *Daniele Alves Loiola*

