



**SÃO PAULO**  
**GOVERNO DO ESTADO**

**Claudio Marcelo G. Oliveira**

**INSTITUTO BIOLÓGICO**

# Viroses transmitidas por nematoides



**Cláudio Marcelo Gonçalves Oliveira**

Pesquisador Científico / Laboratório de Nematologia

Instituto Biológico - [www.biologico.agricultura.sp.gov.br](http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br)

[marcelonematologia@gmail.com](mailto:marcelonematologia@gmail.com); [claudiomarcelo.oliveira@sp.gov.br](mailto:claudiomarcelo.oliveira@sp.gov.br)

19 3251-0327

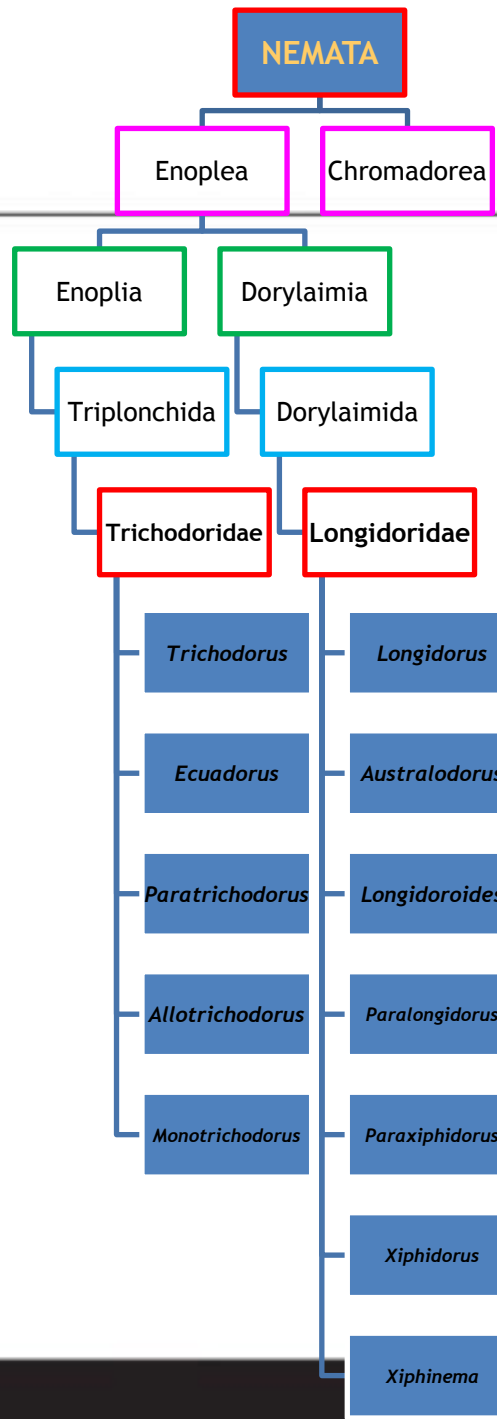
Al. dos Videeiros, 1097 - Campinas/SP - CEP 13101-680

 /Instituto Biológico



Centro Experimental do Instituto Biológico

20 Novembro de 2020  
online



filo  
Classe  
Subclasse  
Ordem  
Família



# Viroses transmitidas por nematoídes

---

- Família Longidoridae: gêneros *Xiphinema* e *Longidorus*
- Família Trichodoridae: gêneros *Trichodorus* e *Paratrichodorus*



# Nematoídes transmissores de vírus:

## principais características da Família Longidoridae

---

- Ectoparasitos migradores
- Comprimento do corpo
- Tamanho e forma do estilete

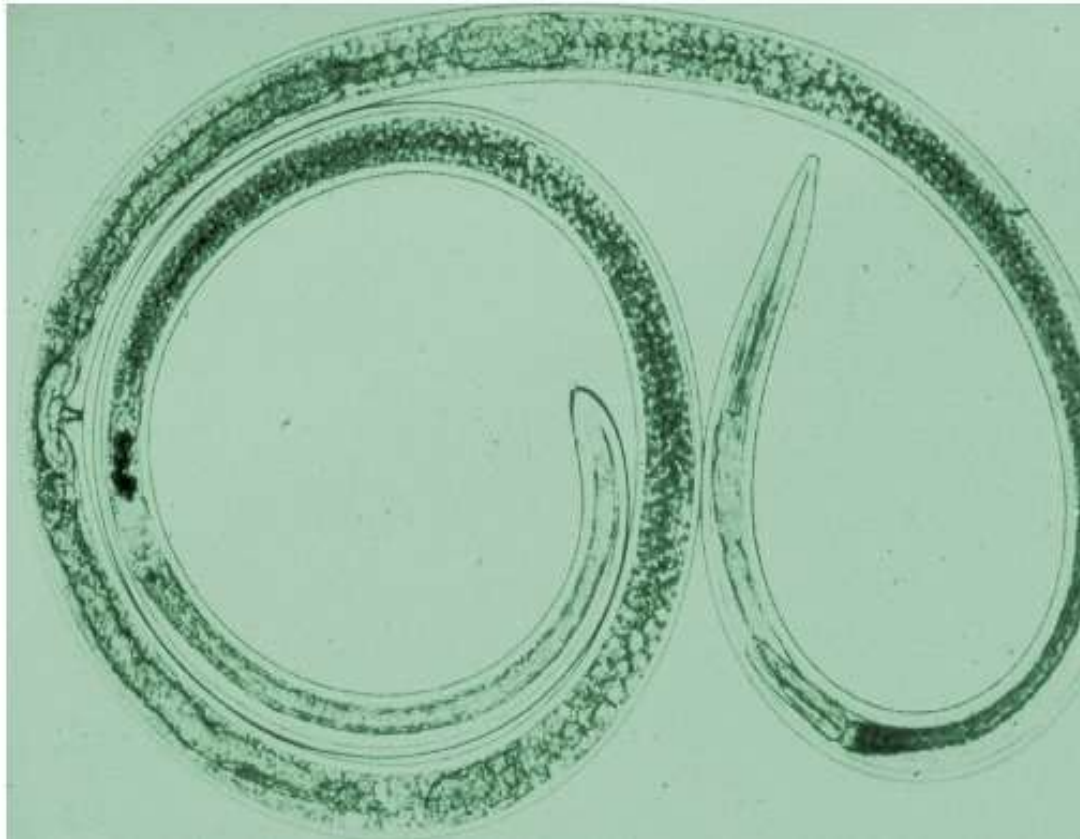


# Comprimento (L) e forma do corpo

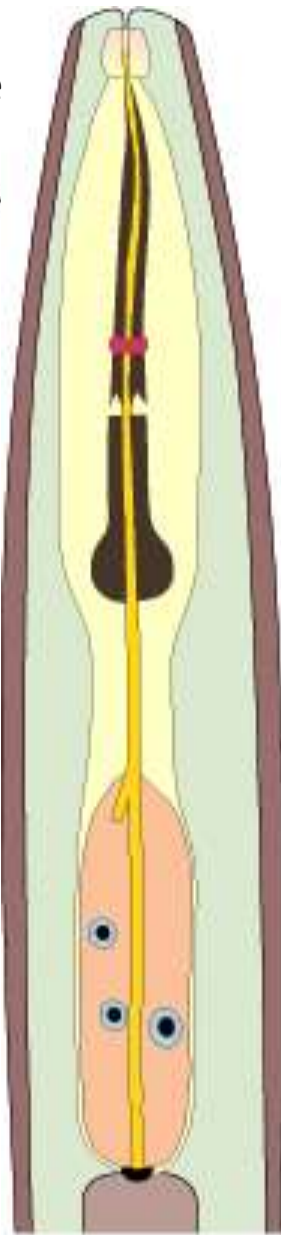
---

Longidoridae

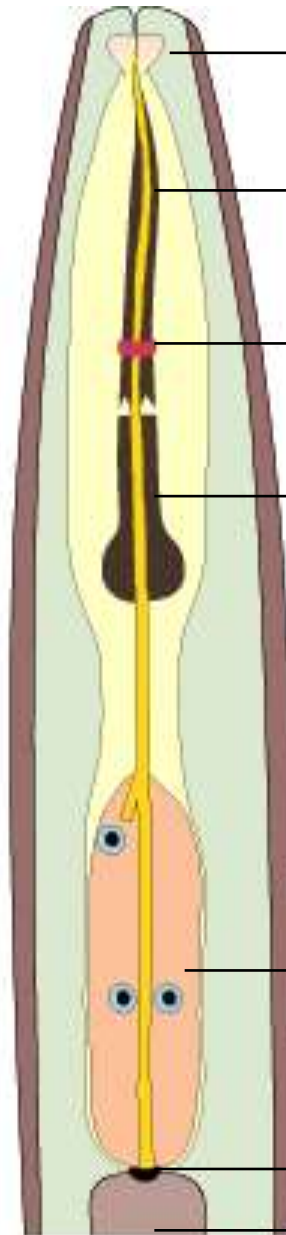
L: 1,5-12 mm



Tamanho e forma do estilete



*Xiphidorus*



*Xiphinema*

anfídeo

odontostílio

Anel guia

odontóforo

Glândulas esofagianas

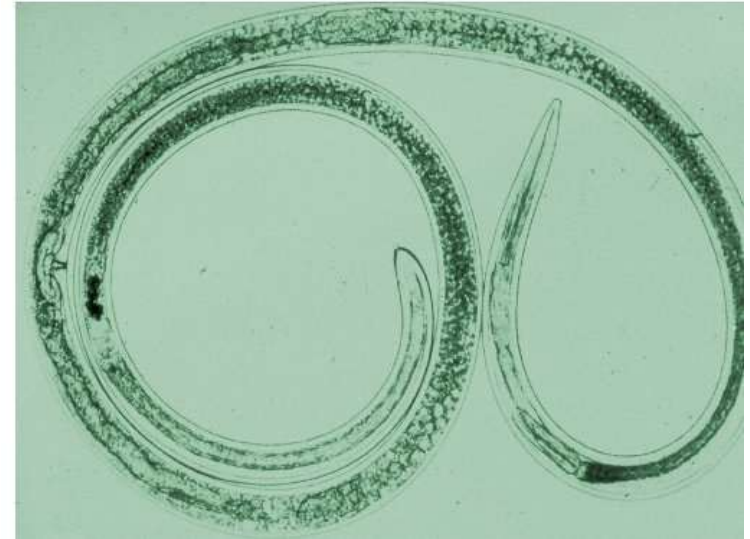
cárdia

intestino



# Importância da família Longidoridae

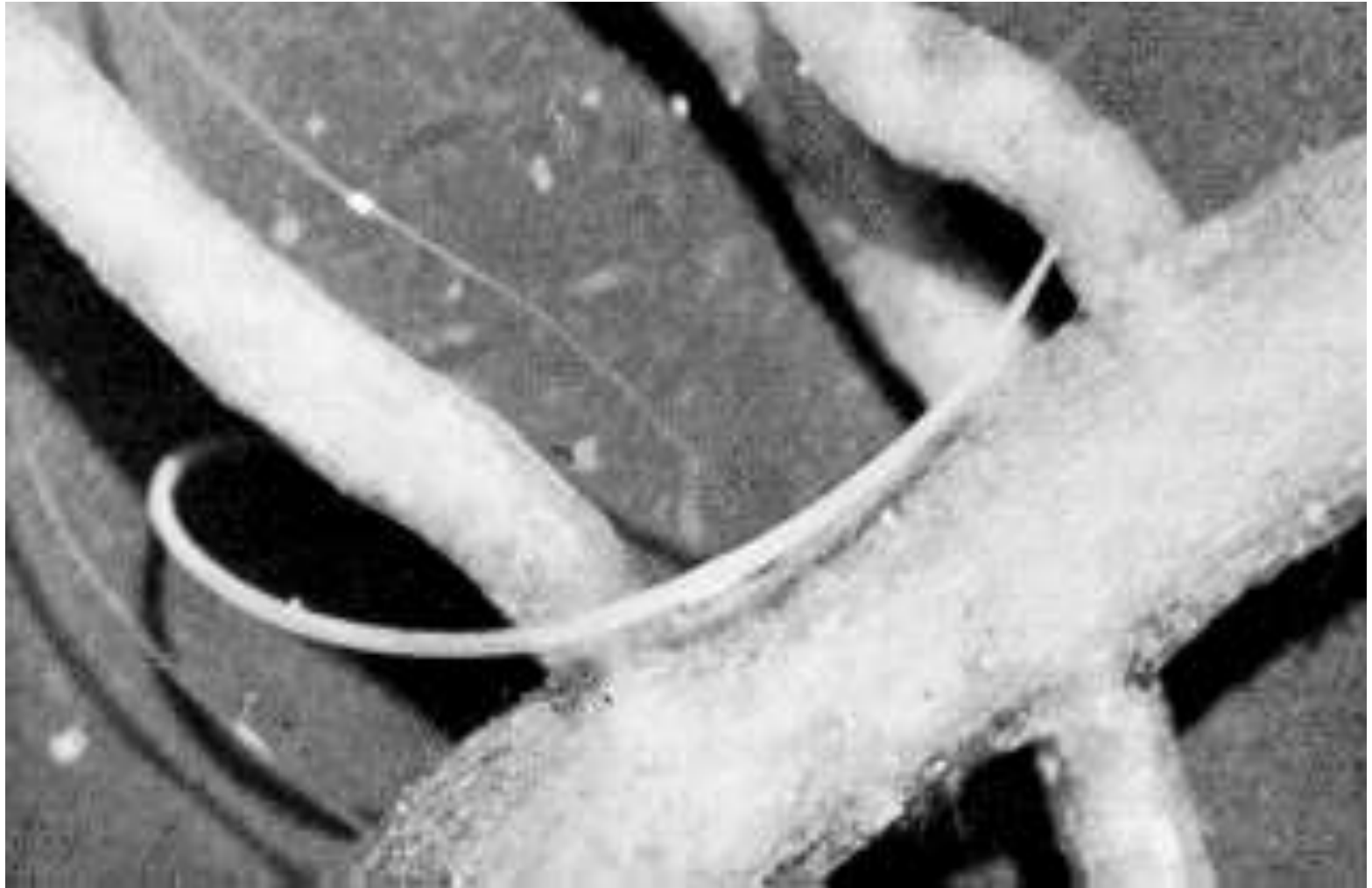
- Danos diretos
- Transmissão de viroses



*Xiphinema index*

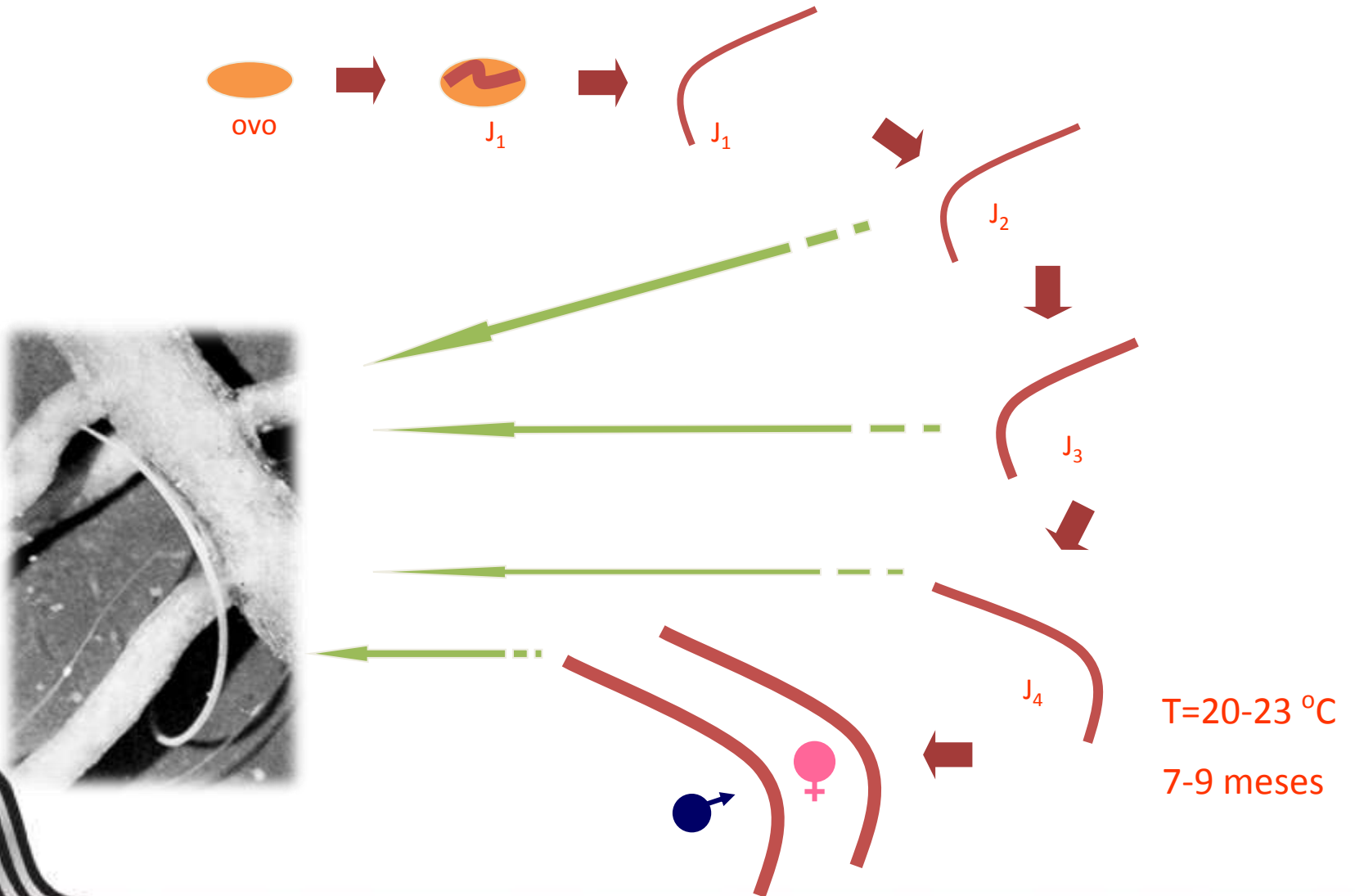


# Ectoparasitismo de raíces por *Xiphinema*

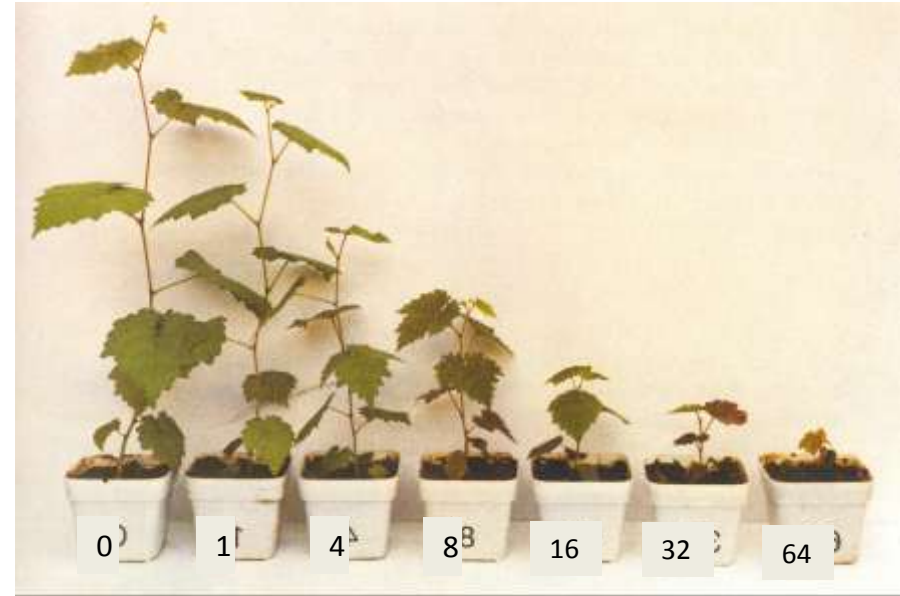
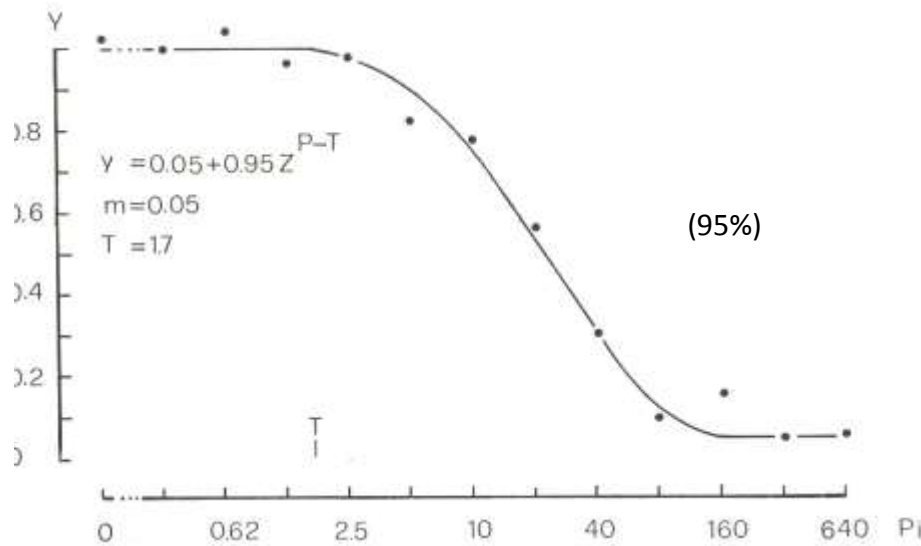




# *Xiphinema*: Ciclo de vida



# Relação entre a população inicial de *X. index* ( $P_i$ ) e o peso fresco da parte aérea ( $y$ ) de videira cv Aglianico (Di Vito et al., 1985)



$P_i$  *X. index* / 10 cm<sup>3</sup> de solo



Berinjela infestada por *Xiphinema longicaudatum*.

---



Lamberti *et al.* (1992)

## Cultura de arroz infestada por *Xiphinema ifacolum*.

---



Parcela tratada com 10 kg i.a./ha de carbofuran



controle

Lamberti *et al.* (1987)



## Cultura de pimenta infestada por *X. ifacolum*.

---



Lamberti *et al.* (1992)

# Viroses transmitidas por nematoídes

---

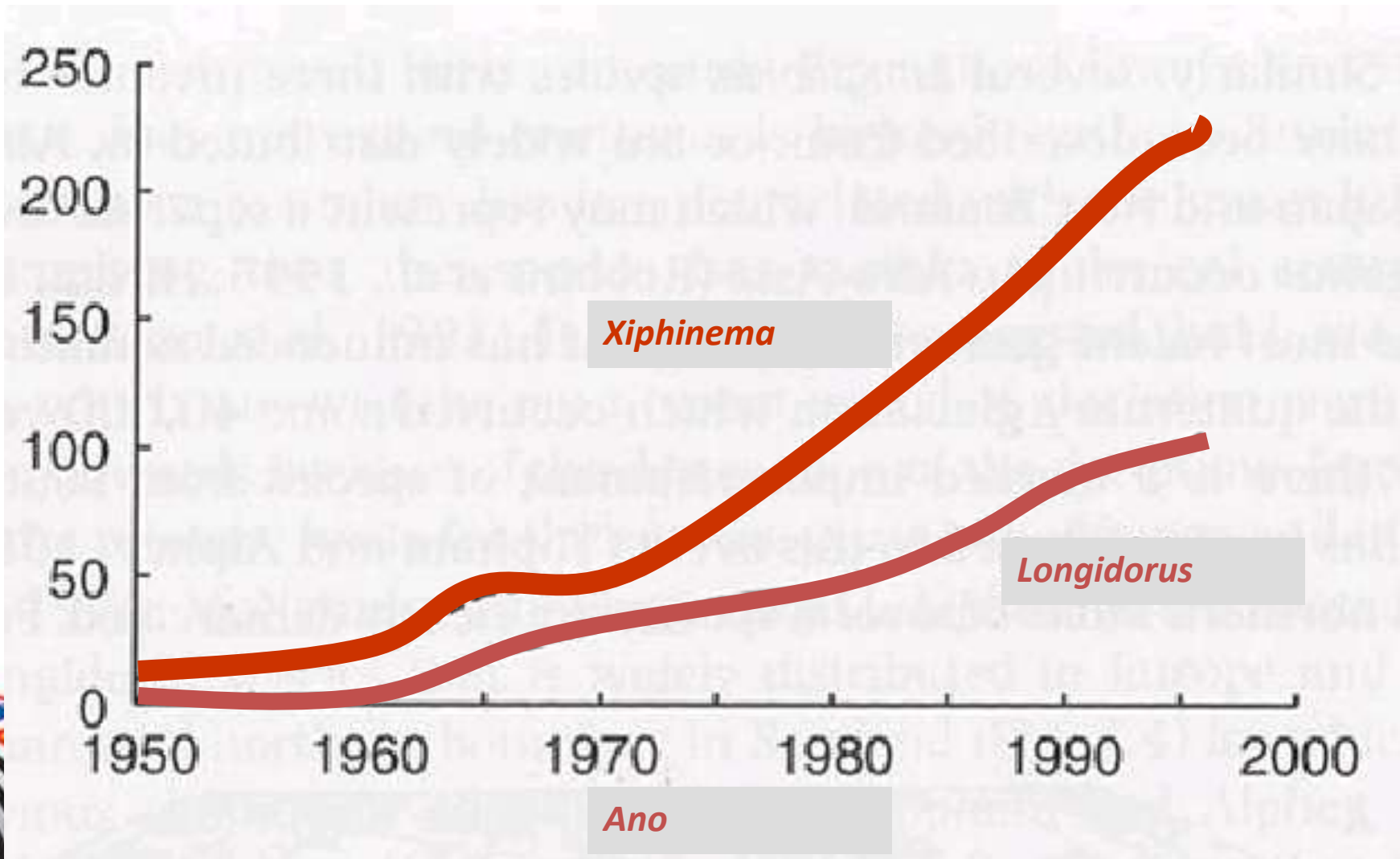
- Hewitt et al. (1958)
  - *Xiphinema index* transmitindo GFLV
- Número de publicações
- Trudgill et al. (1983)
  - Critérios

- 12 nepoviroses: Longidoridae
  - 4: *Longidorus*
  - 7: *Xiphinema*
  - 1: Ambos
- 3 tobraviroses: Trichodoridae
  - *Paratrichodorus* e *Trichodorus*



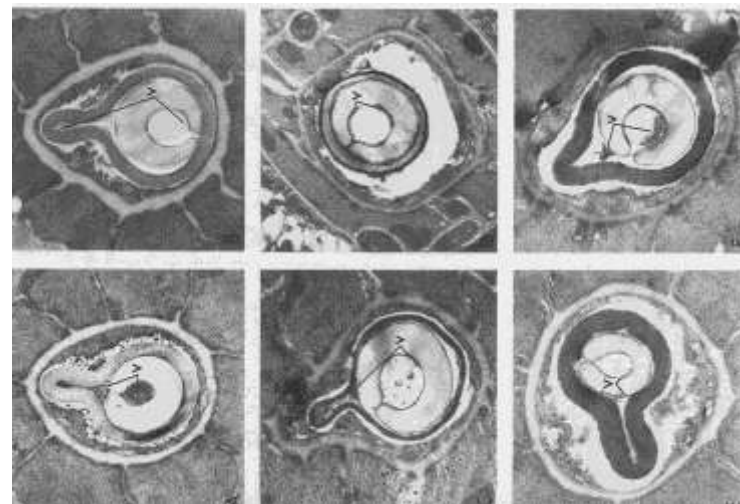
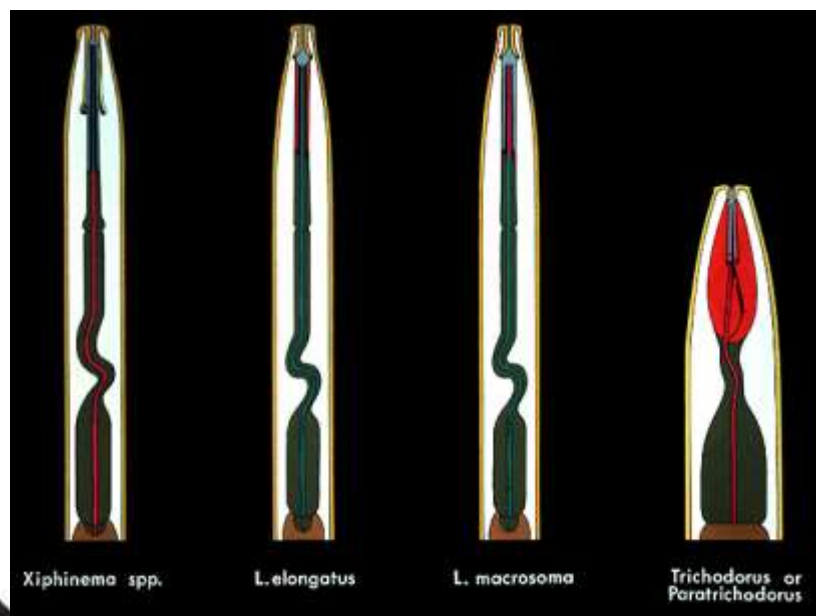


# Número de espécies descritas



# Partículas virais

- Retidas no aparato alimentar
- Não se replicam
- Não são passadas à progenie
- São eliminadas nas ecdises



Secção transversal mostrando partículas de nepovirus (V) retidas na região do odostostílio de espécies de *Longidorus*.

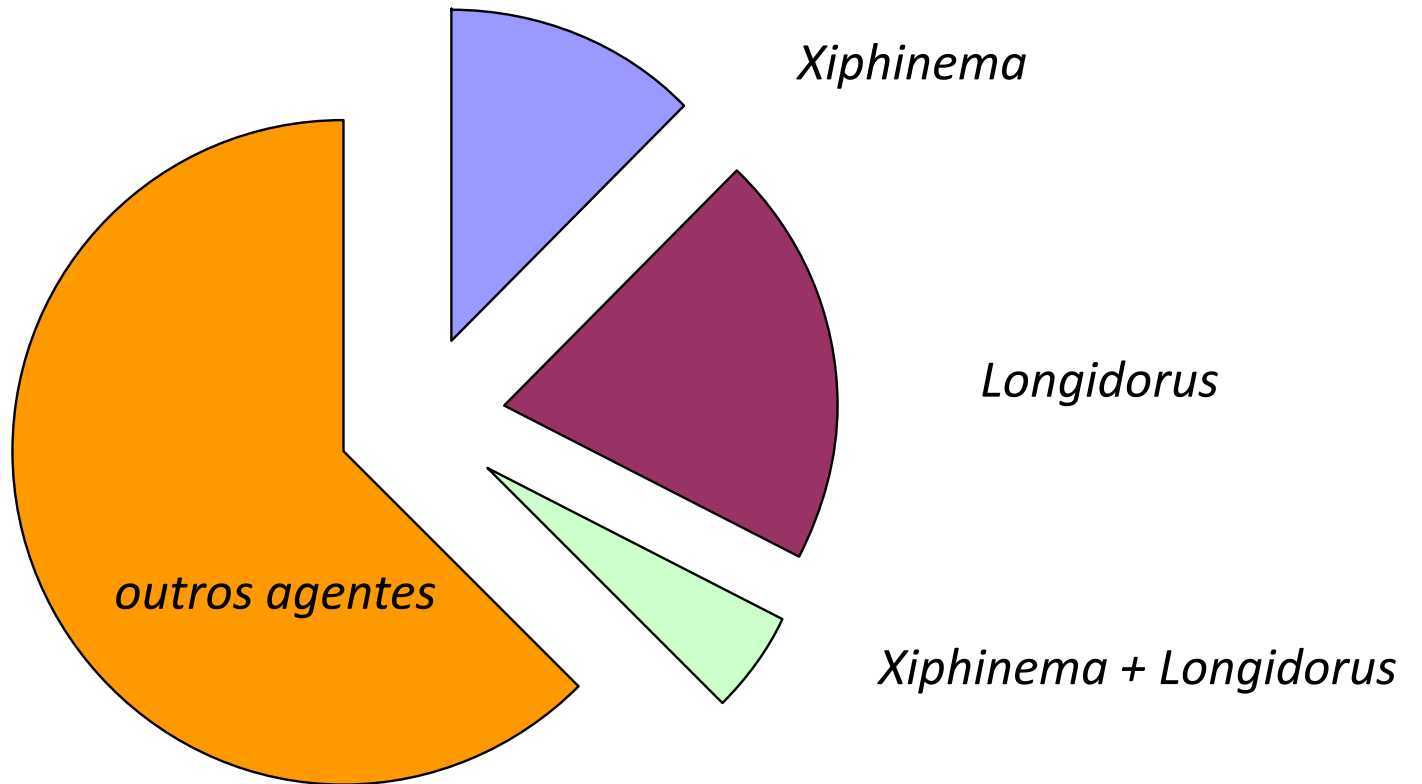
Espécies de *Xiphinema* transmissoras de viroses e suas nepoviroses associadas.

<b>ESPÉCIES VETORAS</b>	<b>VÍRUS</b>
<i>Xiphinema americanum sensu lato</i>	cherry rosette disease
	peach rosette mosaic
	tobacco ringspot
	tomato black ring
<i>X. americanum sensu stricto</i>	cherry rosette disease
	tobacco ringspot
	tomato black ring
<i>X. bricolensis</i>	tomato black ring
<i>X. californicum</i>	cherry rosette disease
	tobacco ringspot
	tomato black ring
<i>X. diversicaudatum</i>	arabis mosaic
	strawberry latent ringspot
<i>X. index</i>	grapevine fanleaf
<i>X. intermedium</i>	tobacco ringspot
	tomato black ring
<i>X. italiae</i>	grapevine fanleaf
<i>X. rivesi</i>	cherry rosette disease
	tobacco ringspot
	tomato black ring
<i>X. tarjanense</i>	tobacco ringspot
	tomato black ring



# Nepoviroses transmitidas por

---



Necrose da região de enxertia em macieira infectada com Tomato ringspot nepovirus transmitido por *Xiphinema americanum* e *X. rivesi*.

---



Sintomatologia de *Nepovirus grapevine fanleaf* (folha em leque da videira) transmitido por *X. index*.

---

- 1. Malformações das folhas (folha em leque) e dos frutos
- 2. mosaico amarelo
- 3. clorose internerval



---

(A) Patchy distribution of grapevines infected by *Grapevine fanleaf virus* in a Chardonnay vineyard in the Champagne region in France as a result of a plant-to-plant virus transmission by the ectoparasitic nematode *Xiphinema index*, and (B) Comparative production of a healthy (left) and a GFLV-infected grapevine cv. *Vitis vinifera* Savagnin rose non aromatic, Klevener de Heiligenstein



## CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DE UM ISOLADO DO *Grapevine fanleaf virus*

THOR V. M. FAJARDO<sup>1</sup>, GILMAR B. KUHN<sup>1</sup>, MARCELO EIRAS<sup>2</sup> & OSMAR NICKEL<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Empresa Uva e Vinha, Caixa Postal 130, CEP 95700-000, Bento Gonçalves, RS, e-mail: thor@cnpuv.embrapa.br; <sup>2</sup>Centro de Sanidade Vegetal, Instituto Biológico de São Paulo, Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP

(Aceito para publicação em 11/07/2000)

Autor para correspondência: Thor V.M. Fajardo

FAJARDO, T.V.M., KUHN, G.B., EIRAS, M. & NICKEL, O. Caracterização parcial de um isolado do *Grapevine fanleaf virus*. Fitopatologia Brasileira 25:505-511, 2000.

### RESUMO

A degenerescência da videira é causada pelo vírus dos entrenós curtos da videira (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV). Neste trabalho foi realizada a caracterização parcial de um isolado de GFLV, proveniente do Rio Grande do Sul. A cv. Prosecco Tondo da videira (*Vitis vinifera*) foi submetida à indexação biológica sobre a indicadora *Rapistris* do Lot e inoculação mecânica em *Chenopodium amaranticolor* e *C. quinoa*. Testes sorológicos foram realizados com anti-soro comercial contra GFLV. O vírus foi parcialmente purificado a partir de *C. amaranticolor* e o perfil protéico analisado por SDS-PAGE. O RNA viral foi

amplificado por RT-PCR e o fragmento de 321 bp amplificado foi clonado e sequenciado. As indicadoras empregadas e a amplificação pela PCR confirmam a infecção por GFLV. Este vírus também foi detectado por ELISA, dot-ELISA e western blot. Em SDS-PAGE observou-se uma proteína de cerca de 54 kDa, correspondendo à proteína capsidial. As sequências de nucleotídeos e aminoácidos deduzidos deste isolado apresentaram alta homologia (91,5% e 93,4%, respectivamente) com outros isolados de GFLV.

**Palavras-chave:** degenerescência, videira, *Vitis*, GFLV, *Nepovirus*.

### ABSTRACT

#### Partial characterization of an isolate of *Grapevine fanleaf virus*

Degeneration of the grapevine is caused by *Grapevine fanleaf virus* (GFLV). In this work, a partial characterization of an isolate of GFLV from Rio Grande do Sul, Brazil, was carried out. The grape (*Vitis vinifera*) cv. Prosecco Tondo was indexed on the indicator cv. *Rapistris* du Lot and leaf sap was mechanically inoculated on *Chenopodium amaranticolor* and *C. quinoa*. Serological assays were performed using commercial antisera against GFLV. The virus was partially purified from *C. amaranticolor* and the viral coat protein

was analyzed by SDS-PAGE. Viral RNA was amplified by RT-PCR, and the amplified fragment (321 bp) was cloned and sequenced. Indicator plant reactions as well as PCR amplification confirmed the GFLV infection. The virus was detected by ELISA, dot-ELISA and western blot. The viral coat protein of approximately 54 kDa was observed in SDS-PAGE. The nucleotide and the deduced amino acid sequences showed high homology of this isolate (91.5% and 93.4%, respectively) in comparison with other isolates of GFLV.

### INTRODUÇÃO

A videira (*Vitis* spp.) por ser propagada vegetativamente, facilita a disseminação de vírus e favorece o aparecimento de doenças complexas pelo acúmulo de diferentes vírus numa mesma planta. Nas regiões vitícolas brasileiras, a presença de víruses tem sido uma constatação comum (Kuhn, 1992; Amorim & Kuniyuki, 1997; Kuhn & Nickel, 1998).

A degenerescência da videira, causada pelo vírus dos entrenós curtos (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV), família *Comoviridae* e gênero *Nepovirus*, é amplamente reconhecida como sendo uma das víruses mais importantes dentro da viticultura mundial, pela alta incidência e pelas grandes perdas que causa à produção de uva. Sua ocorrência é assinalada em todos os países vitícolas, com destaque para Estados Unidos,

e Europa (Martelli & Savino, 1988). No Brasil, esta doença tem incidência de até 4,5% (Kuniyuki & Costa, 1987; Kuhn, 1992; Kuniyuki *et al.*, 1994). Os danos causados variam com a cultivar afetada e a estirpe do vírus. As cultivares mais suscetíveis sofrem um declínio progressivo, queda de até 80% na produção, perda de qualidade da uva, diminuição na pega do envero e no enraizamento das mudas (Martelli & Savino, 1988).

A doença afeta todos os órgãos da videira. Nas folhas ocorrem deformações com distribuição anormal das nervuras, ângulo do pecíolo muito aberto ou fechado, assimetria foliar com dentes pontiagudos e redução do tamanho, além de manchas translúcidas de formas variadas observadas, normalmente, na primavera. Nos ramos, observam-se entrenós curtos, bifurcações, achatamentos e nós diplois, prolieração



ON THE OCCURRENCE OF SPECIES OF *Xiphinema* IN BRAZIL <sup>a</sup>

F. Lamberti<sup>1</sup>  
F. Roca<sup>1</sup>  
R.D. Sharma<sup>2</sup>  
J.P. Pimentel<sup>3</sup>  
A. Agostinelli<sup>1</sup>  
H. Antonio<sup>4</sup>  
R.R.A. Lordello<sup>5</sup>

Soil samples (a total of 80) were collected during November-December, 1986 in Brasília (Federal District), at Londrina (State of Paraná), at Campinas (State of São Paulo) and from various localities in the State of Rio de Janeiro. Many of these samples contained one or more species of *Xiphinema*. The species that were found are recorded here as a contribution to knowledge on the occurrence of this genus in Brazil.

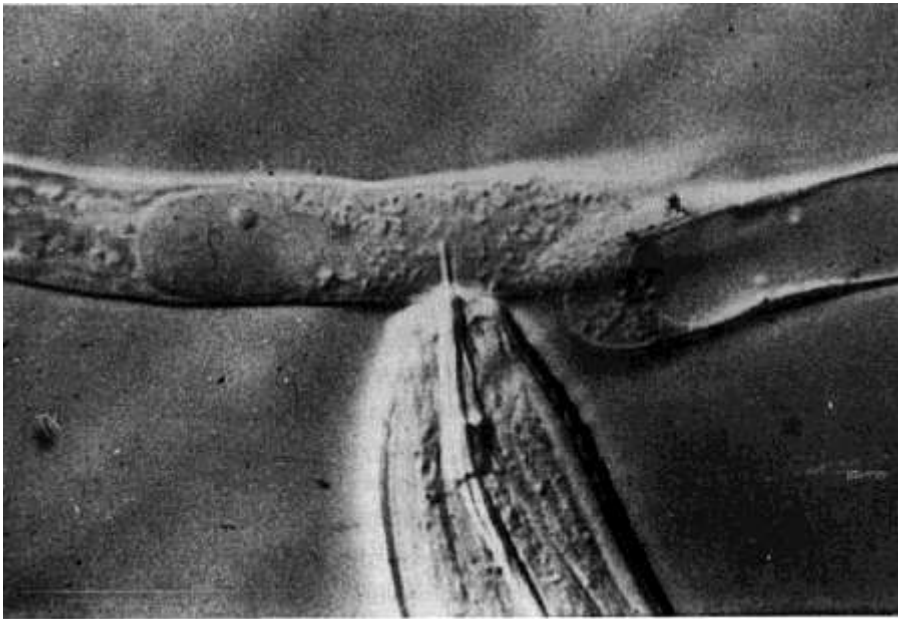
species occurs also in the States of Bahia (SHARMA & LOOF, 1977) and Minas Gerais and São Paulo (FERRAZ, 1980).

*Xiphinema index* Thorne et Allen was identified from slides of the nematode collection at Londrina, containing specimens collected from the rhizosphere of grapevine in the State of Paraná. After that of PONTE (1984) from the State of Ceará, this is the second record of *X. index* from Brazil.



# Importância da família Trichodoridae

- Danos diretos: milho
- Transmissão de viroses: Tobraviroses



*Trichodorus similis*



*Paratrichodorus*



*Trichodorus*

## Trichodoridae parasitos de plantas: principais características

---

- Ectoparasitos migradores
- Forma do odontostilete

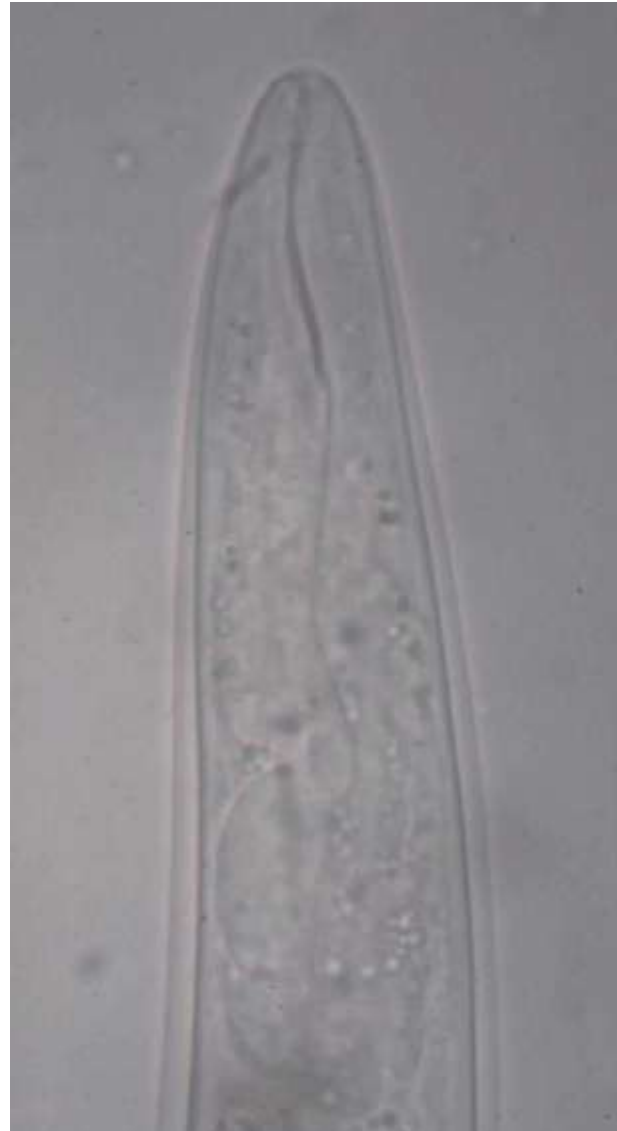




# ODONTOESTILETE

## Trichodoridae

O onquioestilete é curto, curvo e sólido, não canaliculado, sendo pois usado apenas para perfurar as paredes celulares vegetais



## Importância da família Trichodoridae

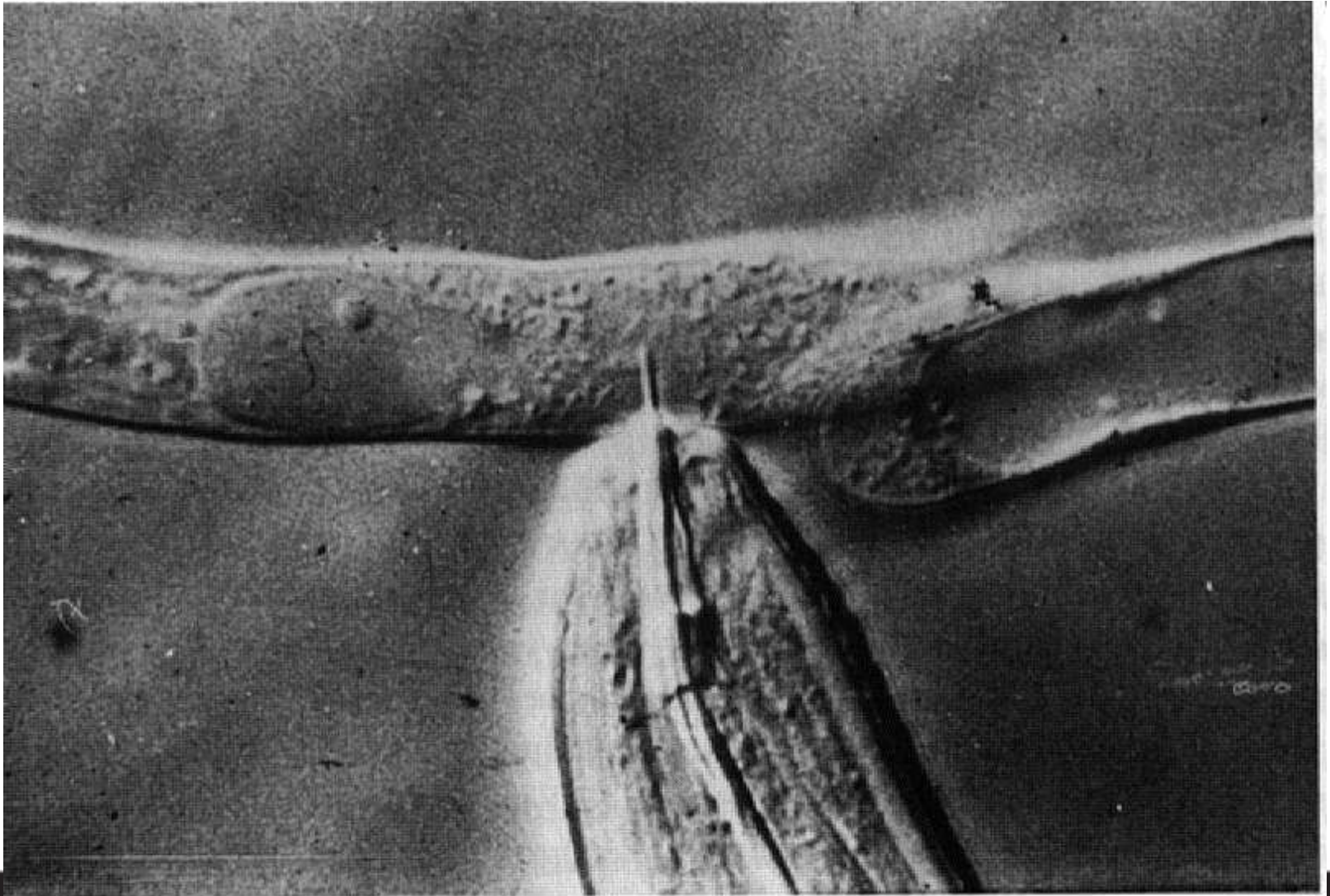
---

- Danos diretos
  - ex.: trigo e milho
- Transmissão de viroses (Tobravirose)
  - Ex.: batata



*Trichodorus similis*

---



# Tubo de alimentação

---





---

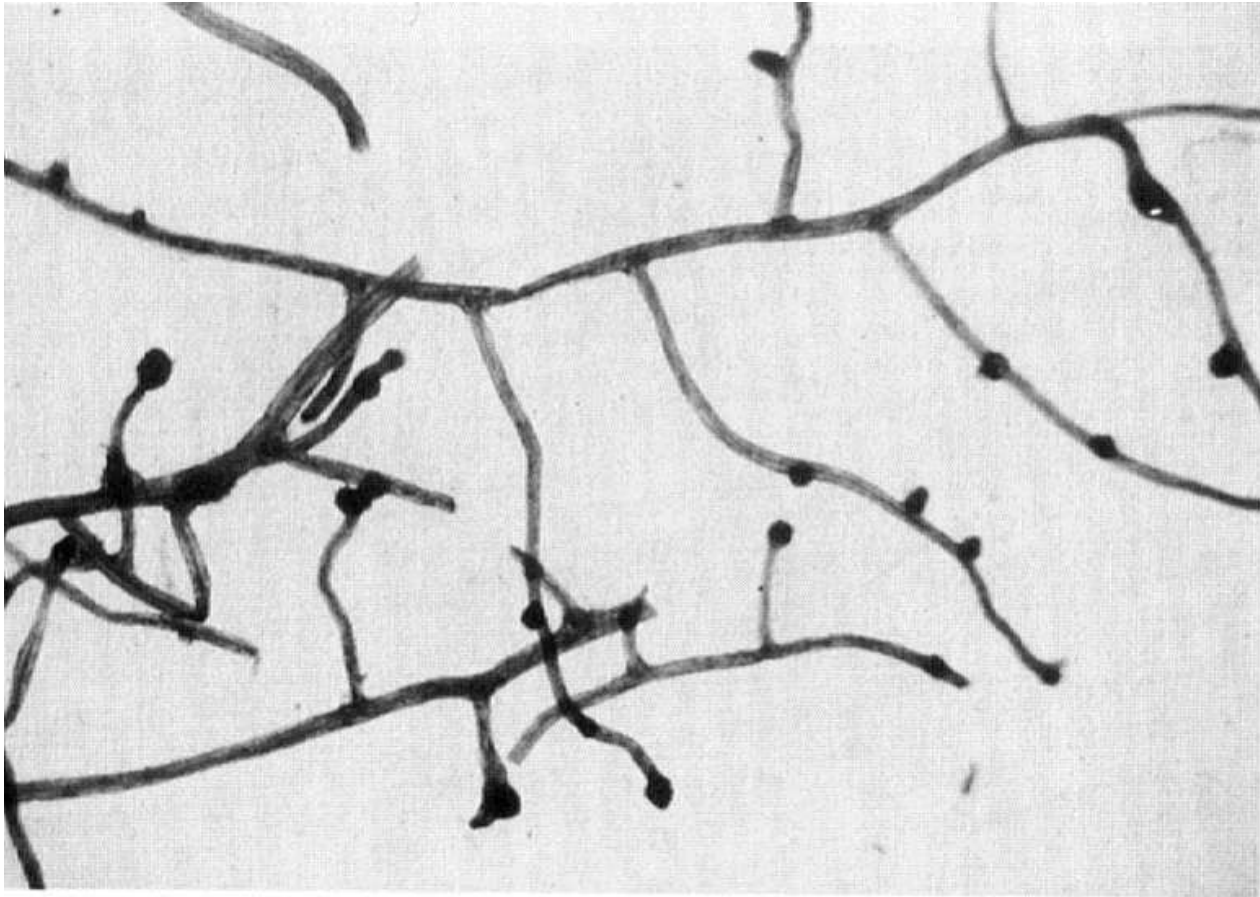
# Filme: *Trichodorus* parasitando fumo

[http://nematologia.com.br/index.php?page=banco\\_videos](http://nematologia.com.br/index.php?page=banco_videos)



Sintomas causados por *Paratrichodorus* spp. em raízes de trigo.

---



## Raízes de milho parasitadas com *Paratrichodorus minor*

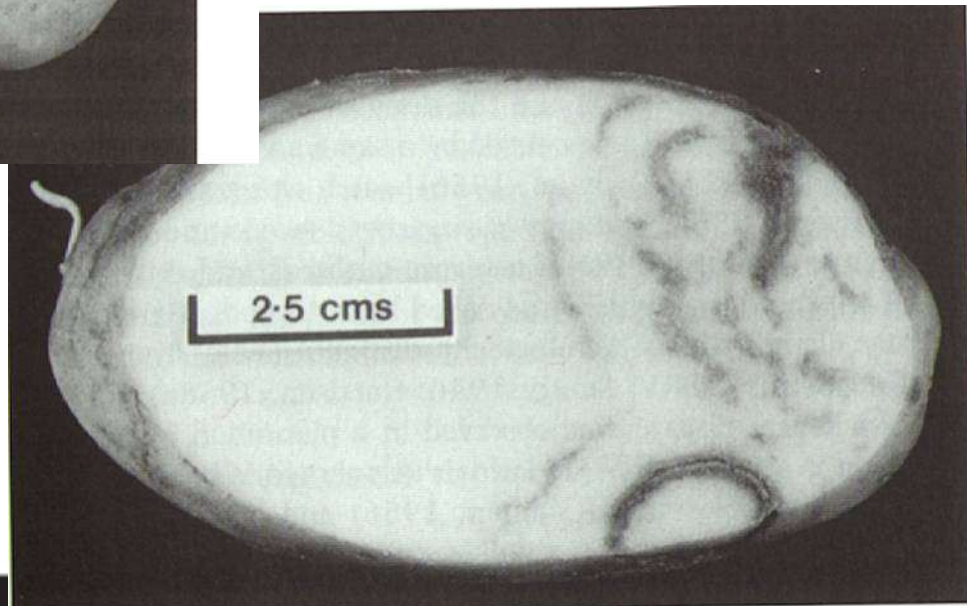
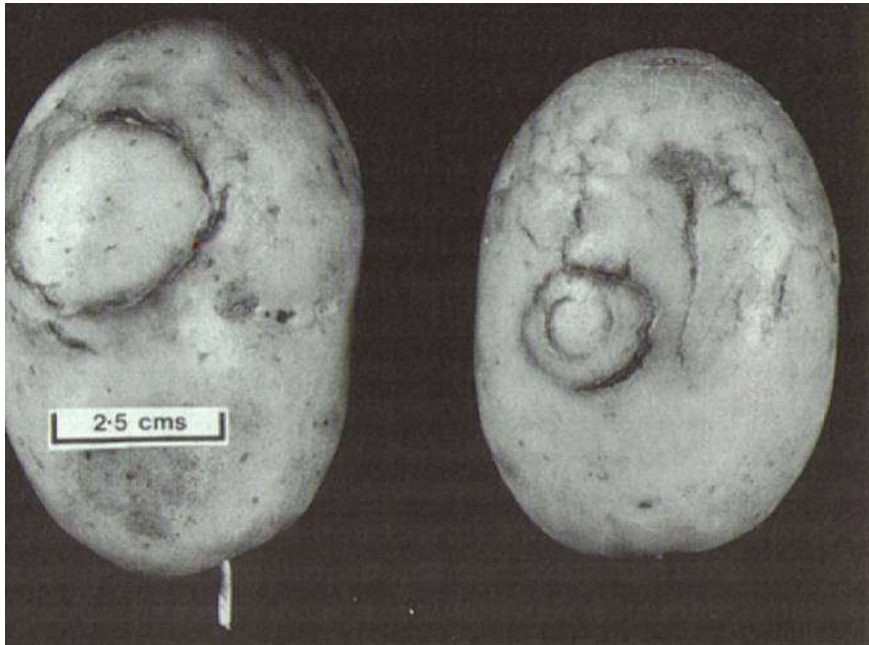
---



<b>VETOR</b>	<b>VÍRUS (Tobravirus)</b>
<i>Paratrichodorus hyspanus</i>	tobacco rattle (TRV)
<i>Trichodorus tunisiensis</i>	tobacco rattle (TRV)
<i>Paratrichodorus allius</i>	tobacco rattle (TRV)
<i>P. anemones</i>	tobacco rattle (TRV)
	pea early-browning (PEBV)
<b><i>P. minor</i></b>	pepper ringspot (PRV)
	tobacco rattle (TRV)
<i>P. nanus</i>	tobacco rattle (TRV)
<i>P. pachydermus</i>	pea early-browning (PEBV)
<b><i>P. porosus</i></b>	tobacco rattle (TRV)
<i>P. teres</i>	pea early-browning (PEBV)
<i>Trichodorus cylindricus</i>	tobacco rattle (TRV)
	pea early-browning (PEBV)
<i>T. primitivus</i>	tobacco rattle (TRV)
	pea early-browning (PEBV)
<i>T. similis</i>	tobacco rattle (TRV)
<i>T. viruliferus</i>	tobacco rattle (TRV)
	pea early-browning (PEBV)

Batatas exibindo anéis necróticos causados por tobacco rattle virus transmitidos por Trichodoridae.

---



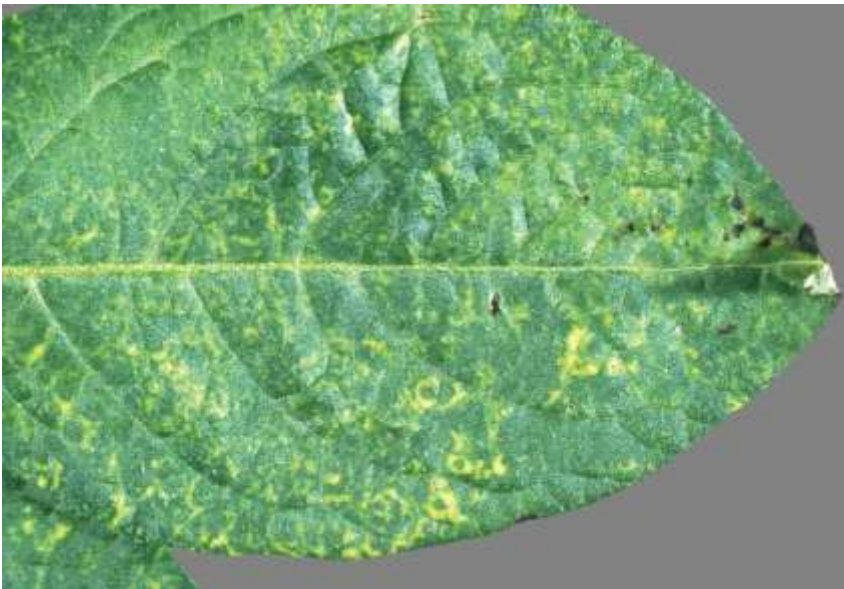
# Tuberculos de batata exibindo anéis necróticos causados por *Tobacco rattle virus* transmitidos por Trichodoridae

---



# Folhas de batata com sintomas causados por *Tobacco rattle virus* transmitidos por Trichodoridae

---



Anéis amarelos

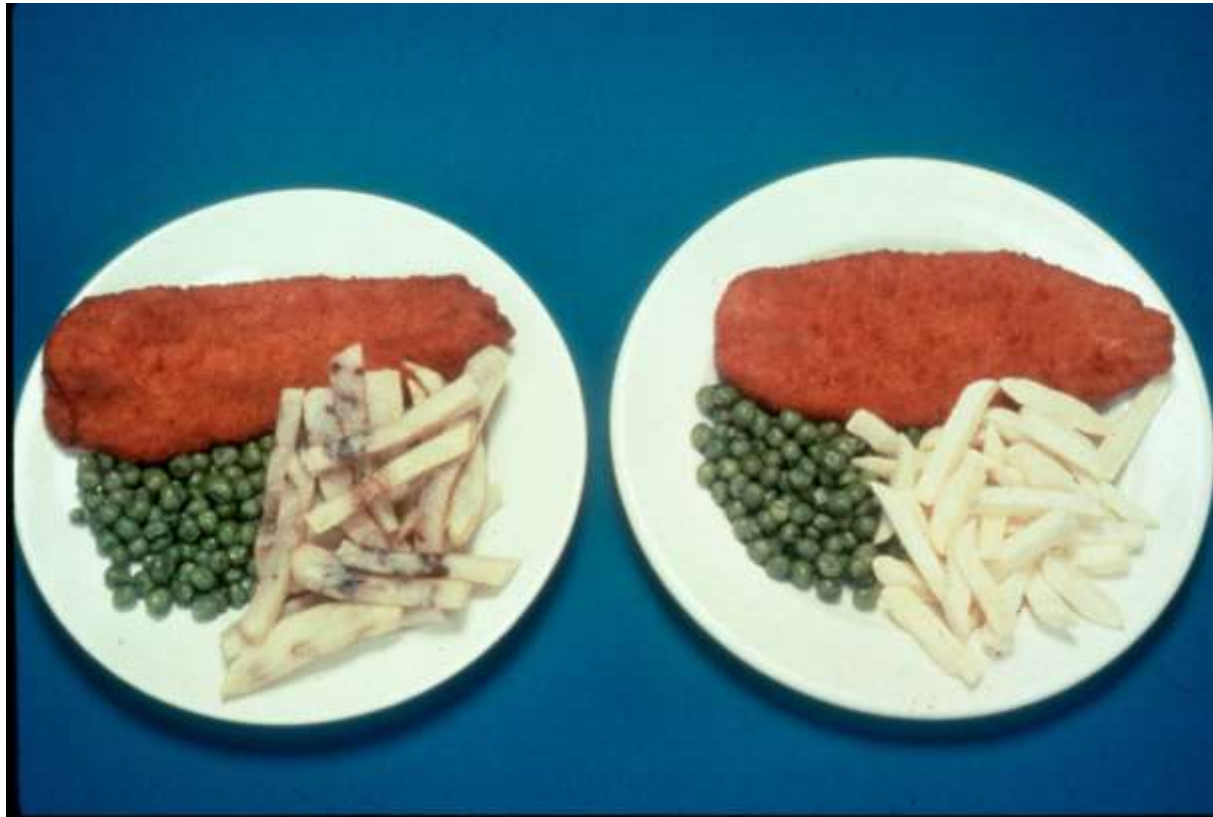


Folhas retorcidas e necrose



O prato tradicional da cozinha britânica (*fish and chips*), preparado com batatas infectadas com tobacco rattle virus (TRV).

---





# Diagnose das viroses transmitidas por nematoídes

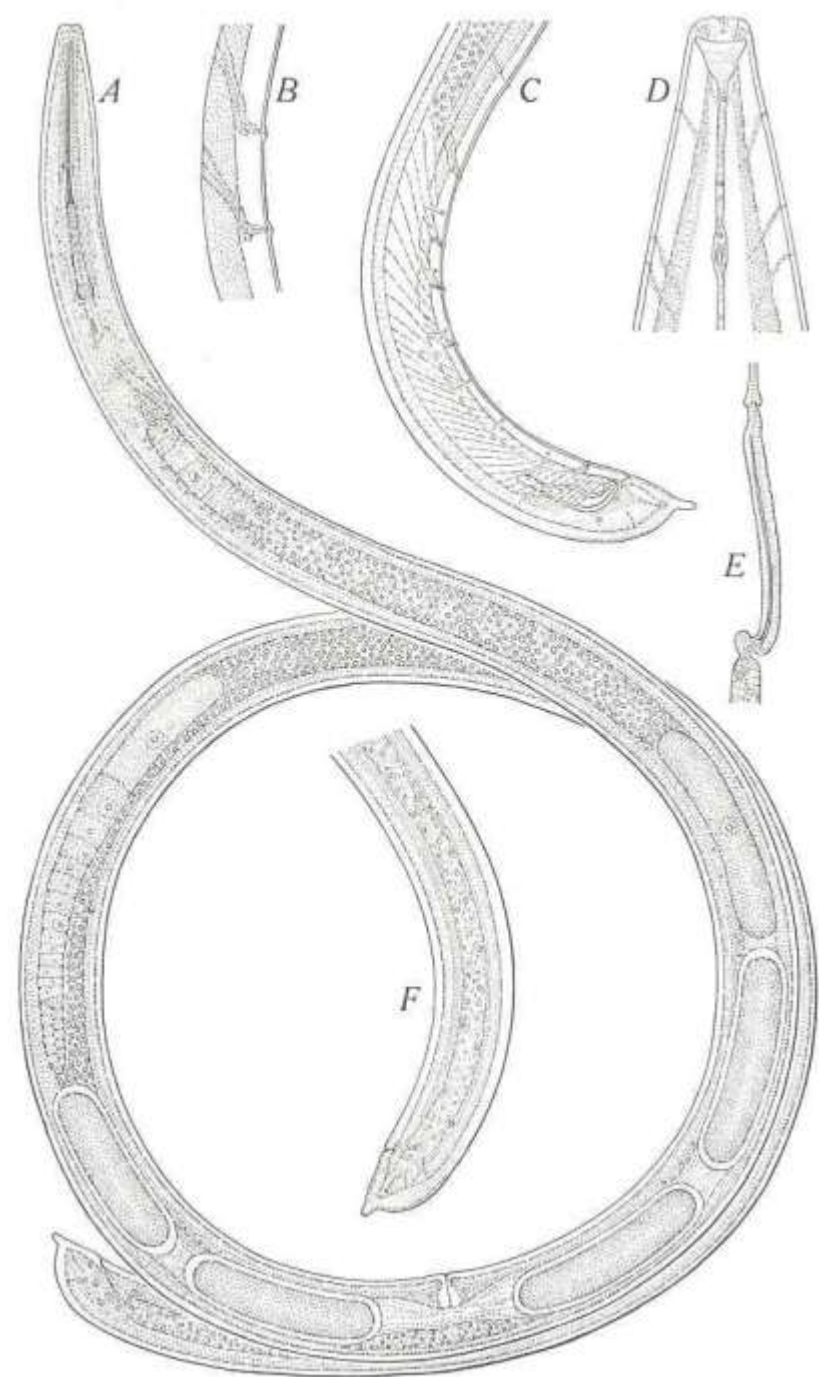
---

- Identificação do vírus
  - Sintomatologia
  - Plantas indicadoras
  - Teste ELISA
  - Primers específicos
- Identificação do nematoíde vetor
  - Morfologia e morfometria
  - Primers específicos



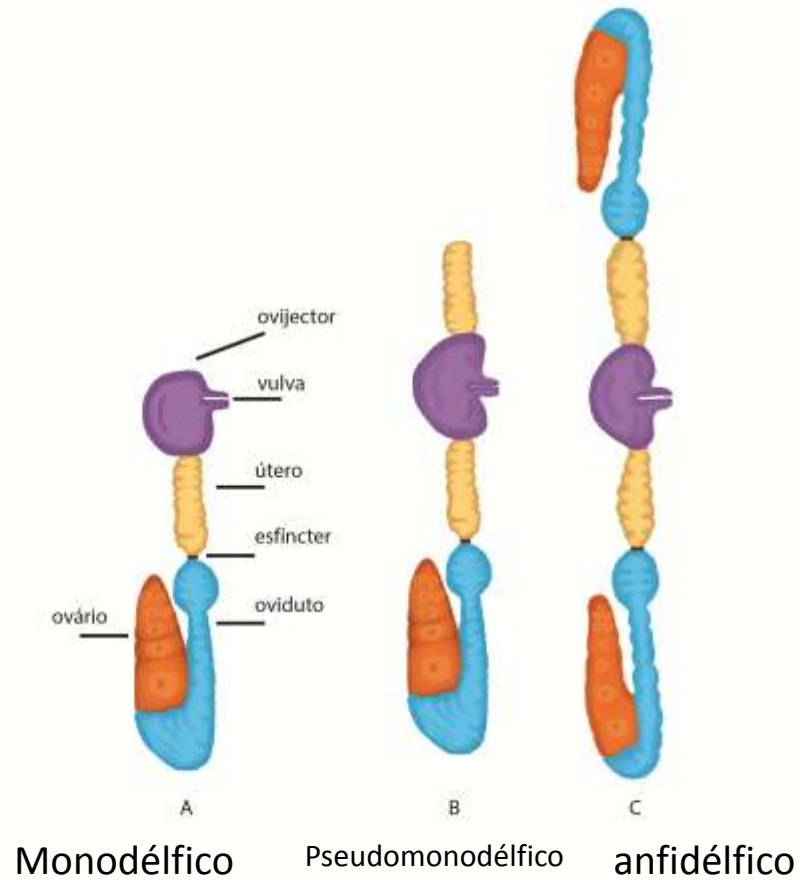
# Identificação de espécies de *Xiphinema*

Morfologia  
+  
Morfometria  
das fêmeas



*Xiphinema index*

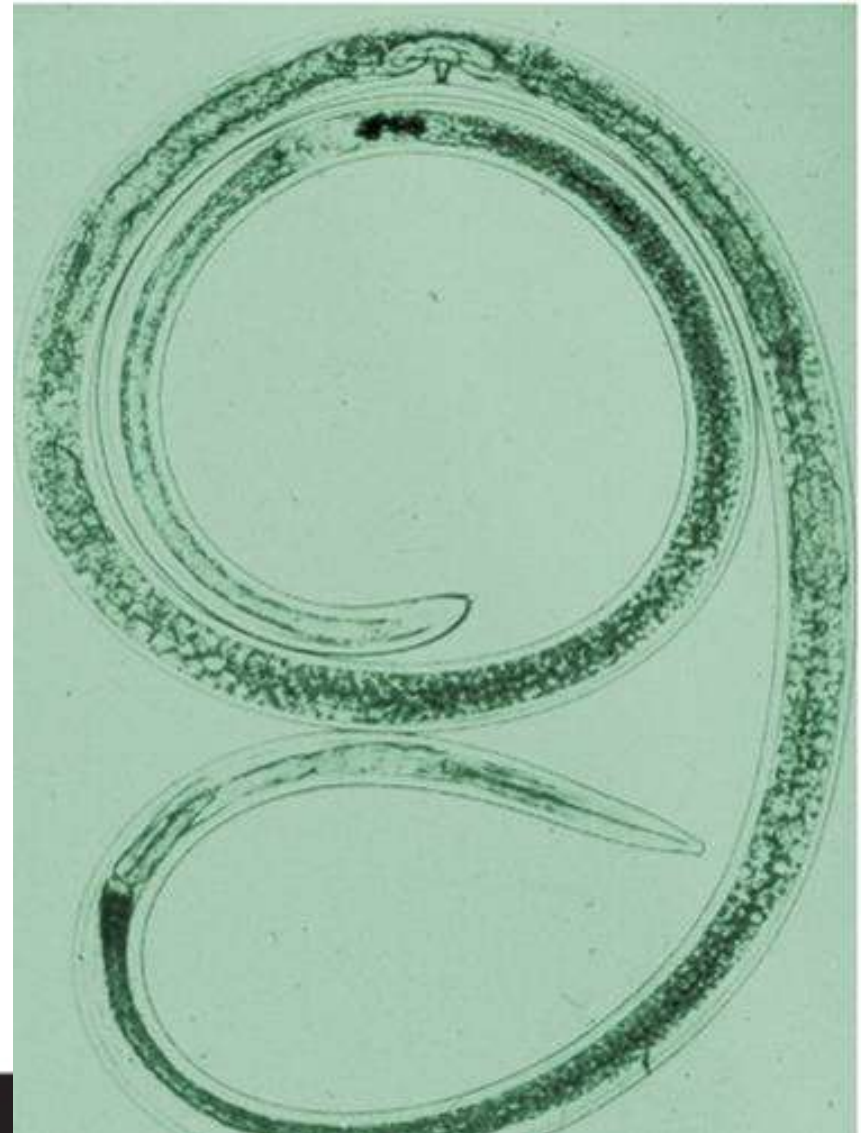
# Organização do aparelho reprodutor feminino



# Morfometria

---

- Comprimento do corpo (L)
- odontostíleo
- odontóforo
- estilete
- Comprimento da cauda (TL)
- diâmetro do corpo ao nível do anus (abw)
- diâmetro maior do corpo (bw)
- V% (posição da vulva)
- a (L/bw)
- c (L/TL)
- c' (TL/abw)



# Controle

---

- Nematicidas
  - Fumigantes
  - Não fumigantes
- Rotação de culturas
  - Polífagos
  - GFLV/*Xiphinema index*: uva
- Cultivares resistentes
  - *Vitis rotundifolia* não foi infectada por GFLV
  - *Vitis candicans* cv. Dog Ridge resistência a *X. index*
  - Batata Bintje: imune a TRV

## Legislação

Plantas livres de vírus e nematoides  
Serviço quarentenário



Raspberry Ringspot Virus on Raspberry  
Vetor = *Longidorus* sp.

---



Sem tratamento



Controle: brometo de metila

---

# OBRIGADO

**Cláudio Marcelo Gonçalves Oliveira**

Pesquisador Científico / Laboratório de Nematologia

Instituto Biológico - [www.biologico.agricultura.sp.gov.br](http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br)

[marcelonematologia@gmail.com](mailto:marcelonematologia@gmail.com); [claudiomarcelo.oliveira@sp.gov.br](mailto:claudiomarcelo.oliveira@sp.gov.br)

19 3251-0327

Al. dos Videiros, 1097 - Campinas/SP - CEP 13101-680

       /Instituto Biológico

