



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

Instituto Agrônômico - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

VÍRUS DETECTADOS EM GLADIÓLOS

Eliana Borges Rivas¹, Thiago Pap¹, Ricardo Harakava¹, Estevão Cardoso de Almeida Bôdi²

¹Instituto Biológico, São Paulo-SP. rivas@biologico.sp.gov.br; ²Biólogo, autônomo, Florianópolis-SC. estebodi@usp.br

RESUMO – *Gladiolus* sp. é uma planta bulbosa cultivada, atualmente, como flor de corte. No Brasil, o cultivo comercial do gladiolo tem início com a chegada de imigrantes holandeses em Holambra (SP), no final da década de 1950. A propagação vegetativa dos gladiolos propicia a manutenção de patógenos a cada ciclo produtivo, principalmente vírus. Este trabalho teve como objetivo detectar e identificar os vírus que ocorrem em gladiolos comercialmente cultivados e em bulbos interceptados pelo MAPA. Cinco espécies de vírus foram detectadas por ELISA e RT-PCR em gladiolos coletados em regiões produtoras do estado de São Paulo e amostras de bulbos interceptadas pelo MAPA: *Bean yellow mosaic virus* (BYMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Tobacco streak virus* (TSV), *Tobacco mosaic virus* (TMV) e uma espécie não identificada de *Tospovirus*. Este é o primeiro relatado da ocorrência de TSV e *Tospovirus* em gladiolos no Brasil e da interceptação de bulbos dessa planta com BYMV, CMV e TMV.

Palavras-chave: *Bean yellow mosaic virus*, *Cucumber mosaic virus*, *Tobacco streak virus*, *Tobacco mosaic virus*, *Tospovirus*

INTRODUÇÃO

A maioria das espécies de *Gladiolus*, família Iridaceae, é originária da África e Ásia e seus híbridos são comercializados, principalmente, como flor de corte. O cultivo do gladiolo no Brasil tem início com a chegada de imigrantes holandeses em Holambra (SP), no final da década de 1950 (TOMBOLATO *et al.*, 2010).

Devido a característica propagação vegetativa de seus bulbos para fins comerciais, os gladiolos são fontes de inóculo e disseminam patógenos a cada ciclo da cultura. Já foram descritas a ocorrência de, pelo menos, 16 espécies de vírus em gladiolos: *Arabid mosaic virus* (ArMV), *Bean yellow mosaic virus* (BYMV), *Broad bean wilt virus*, *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Cycas necrotic stunt virus*, *Soybean mosaic virus*, *Strawberry latent ringspot virus*,



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

Instituto Agrônômico - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

Tobacco mosaic virus (TMV), *Tobacco necrosis virus*, *Tobacco rattle virus* (TRV), *Tobacco ringspot virus*, *Tobacco streak virus* (TSV), *Tomato aspermy virus* (TAV), *Tomato black ring virus*, *Tomato ringspot virus* e *Tomato spotted wilt virus* (HANADA et al., 2006; NAVALINSKIENÉ & SAMUITIENÉ, 2010; DURAISAMY et al., 2011; RAJ et al., 2011).

Este trabalho teve como objetivo detectar e identificar os vírus que ocorrem em campos de produção de gladiolos no estado de São Paulo e em bulbos interceptados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

MATERIAL E MÉTODOS

Sessenta e cinco amostras de *Gladiolus* sp. foram processadas para análise de detecção de vírus, sendo 18 amostras de bulbos interceptados pelo MAPA, provenientes da Holanda, e 47 amostras de bulbos e folhas provenientes de regiões produtoras do estado de São Paulo. Os bulbos foram colocados para germinar em substrato estéril e mantidos em casa de vegetação para a obtenção de folhas a serem utilizadas nos ensaios de diagnóstico.

Os ensaios biológicos, sorológicos (ELISA) e moleculares (RT-PCR) foram realizados a partir de folhas frescas de gladiolos. Extratos foliares foram mecanicamente inoculados em espécies das famílias Amaranthaceae, Chenopodiaceae e Solanaceae e as plantas mantidas em casa de vegetação para a observação de sintomas.

PTA-ELISA, adaptado de KOENIG (1981), foram realizados com antissoros contra BYMV, CMV e TMV. DAS-ELISA foram realizados de acordo com o fabricante dos antissoros utilizados, ArMV e TRV (BQ Support, Holanda), e *Impatiens necrotic spot virus* (INSV) e TSV (AGDIA, Estados Unidos).

TRIzol™ (Life Technologies) foi utilizado para a obtenção dos RNAs totais das amostras, conforme descrito pelo fabricante. RT-PCRs foram realizadas com *primers* dirigidos a proteína N de *Tospovirus* (MUMFORD et al., 1996), capa proteica de CMV (WYLIE et al., 1993) e inclusão cilíndrica de *Potyvirus* (HA et al., 2008). As reações de transcrição reversa e as amplificações enzimáticas foram realizadas com reagentes Promega e NeoBio, respectivamente, segundo as instruções dos fabricantes.



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

Instituto Agrônomo - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em regiões produtoras de *Gladiolus* sp. do estado de São Paulo foram detectados BYMV, CMV, TSV e uma espécie não identificada de *Tospovirus*. Em bulbos provenientes da Holanda e interceptados pelo MAPA foram detectados BYMV, CMV e TMV. Como observado também por Navalinskiené e Samuitiené (2001), os vírus detectados em gladiólos são cosmopolitas e não são específicos de gladiólos.

Os sintomas de lesões locais necróticas nas plantas indicadoras, *Gomphrena globosa*, *Chenopodium amaranticolor* e *C. quinoa*, foram os mesmos para todas as amostras infectadas com BYMV. Em diversos países produtores de gladiólos, o BYMV também é predominante, causando geralmente mosaico nas folhas, “color-breaking” nas flores e redução do vigor da planta (DURASAMY et al., 2011). Nas amostras analisadas neste trabalho, o BYMV estava presente em 16 amostras, geralmente apresentando mosaico, tanto em infecções simples como mistas com CMV e *Tospovirus*. Esta espécie não identificada de *Tospovirus* foi detectada em apenas uma amostra, duplamente infectada com BYMV, proveniente de cultivo comercial do estado de São Paulo.

Os sintomas de mosqueado ou mosaico nas folhas foram observados em infecções por BYMV, CMV, TMV e BYMV + CMV. Leve mosaico ou ausência de sintomas são observados em infecções por CMV (NAVALINSKIENÉ & SAMUITIENÉ, 2001), o qual é considerado, por vezes, o de maior problema na produção de gladiólos por causar sintomas nas flores (NAVALINSKIENÉ & SAMUITIENÉ, 2010). Em 14 amostras de gladiólos foram detectadas CMV, sendo apenas duas amostras.

O mosaico foliar tem sido observado em infecções por TAV (RAJ et al., 2011) e BYMV, tanto em outros países (NAVALINSKIENÉ & SAMUITIENÉ, 2001) quanto no Brasil (ALEXANDRE et al., 2002).

De acordo com os dados obtidos pelo sequenciamento de dois isolados de BYMV, provenientes do estado de São Paulo, verificou-se que estes diferem de 87,5% a 97,5% de



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

Instituto Agrônômico - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

identidade com regiões homólogas de BYMV depositadas no GenBank (dados não mostrados).

Mosaico e manchas alongadas esbranquiçadas foram observados em folhas de plantas infectadas apenas com TSV. Bellardi e colaboradores (1987) relataram mosaico, anéis e riscas necróticas em folhas de plantas de gladiolos com nanismo.

No Brasil, os vírus relatados em gladiolos eram apenas o CMV, BYMV e um *Potyvirus* não identificado (ALEXANDRE et al., 2005).

CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos em análises sorológicas e moleculares pode-se constatar que o BYMV e CMV estão ainda presentes, mas que outros vírus, não detectados em materiais importados, estão em campos de produção de gladiolos, como o TSV e *Tospovirus*. Desta forma, relata-se a primeira ocorrência destes dois vírus em gladiolos no Brasil.

Relata-se, também, a interceptação de bulbos de gladiolos, provenientes da Holanda, infectados com BYMV, CMV e TMV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRE, M.A.V.; GALLETI, S.R.; DUARTE, L.M.L.; MIYAI, T.; RIVAS, E.B. *Bean yellow mosaic virus* on gladiolus in Brazil. *Virus Reviews & Research*, v.7, p.17-21, 2002.

ALEXANDRE, M.A.V.; RIVAS, E.B.; TOZETTO, A.R.P.; DUARTE, L.M.L. Lista comentada sobre a ocorrência natural de vírus em plantas ornamentais. São Paulo: Instituto Biológico, 55p., 2005.

BELLARDI, M.G.; VICCHI, V.; GELLI, C. Stunting of gladiolus flower spike associated with Tobacco streak virus. *Phytopathologia Mediterranea*, v.26, p.73-80, 1987.



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA
Instituto Agrônomo - Campinas, SP
7 a 9 de Fevereiro de 2017

DURASAMY, G.S.; POKORNÝ, R.; HOLKOVÁ, L. Possibility of *Bean yellow mosaic virus* detection in *Gladiolus* plants by different methods. *Journal of Plant Diseases and Protection*, v.118, p.2-6, 2011.

HA, C.; COOMBS, S.; REVILL, P.A.; HARDING, R.M.; VU, M. DALE, J.L. Design and amplification of two novel degenerate primer pairs for the detection and complete genomic characterization of potyviruses. *Archives of Virology*, v.153, p.25-36, 2008.

HANADA, K.; FUKUMOTO, F.; KUSUNOKI, M.; KAMEYA-IWAKI, M.; TANAKA, Y.; IWANAMI, T. *Cycas necrotic stunt virus* isolated from gladiolus plants in Japan. *Journal of General Plant Pathology*, v.72, p.383-386, 2006.

KOENIG, R. Indirect ELISA methods for the broad specificity detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, v.55, p.53 - 62, 1981.

MUMFORD, R.A.; BARKER, I.; WOOD, K.R. An improved method for detection of tospoviruses using the polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*, v.57, p.109-115, 1996.

NAVALINSKIENĖ, M.; SAMUITIENĖ, M. Viral diseases of flower plants. 15. Identification of viruses affecting gladiolus (*Gladiolus* L.). *Biologija*, n.1, p.31-35, 2001.

NAVALINSKIENĖ, M.; SAMUITIENĖ, M. Identification of agents of viral and phytoplasmal diseases affecting gladioli (*Gladiolus* L.). *Acta Biologica Universitatis Daugavpiliensis*, suppl. 2, p.137-144, 2010.

RAJ, S.K.; KUMAR, S.; VERMA, D.K.; SNEHI, S.K. First report on molecular detection and identification of Tomato aspermy virus naturally occurring on gladiolus in India. *Phytoparasitica*, v.39, p.303-307, 2011.

TOMBOLATO, A.F.C.; UZZO, P.R.; JUNQUEIRA, A.H.; PEETZ, M.S.; STANCATO, G.C.; ALEXANDRE, M.A.V. Bulbosas ornamentais no Brasil. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, v.16, p.127-138, 2010.

WYLIE, S.; WILSON, C.R.; JONES, R.A.C.; JONES, M.G.K. A polymerase chain reaction assay for Cucumber mosaic virus in lupin seeds. *Australian Journal Agricultural Research*, v.44, p.41-51, 1993.