
PROPAGACIÓN DE LA ENFERMEDAD DEL ENROLLAMIENTO DE LA HOJA EN EL VIÑEDO: ESTRATEGIAS PARA PRUEBA, GESTIÓN Y CONTROL DE LA ENFERMEDAD

Ph.D. Judit Monis

Laboratorios STA, Gilroy, California

Los viticultores han aceptado la presencia de los virus de la vid, pero raras veces consideran el impacto perjudicial en el viñedo. Esta percepción está cambiando debido a la reciente documentación de la propagación de la enfermedad del enrollamiento de la hoja en Napa Valley, California. Sin embargo, la propagación de ciertas especies de virus que causan la enfermedad del enrollamiento de la hoja no es nueva ni exclusiva de los viñedos de California. Informes en Australia, Argentina, Europa y Sudáfrica datan de hasta treinta años atrás. Es sabido que los diferentes tipos de cochinillas harinosas transmiten ciertas especies de virus de enrollamiento de la hoja, y otros virus, tales como el Virus A de la Vid y Virus B de la Vid. Por lo tanto, la noción de que los virus se propagan únicamente por medio de podas (por ejemplo, propagación vegetativa e injertos) es falsa. Este artículo se centrará en la gestión y control de la propagación de la enfermedad del enrollamiento de la hoja en el viñedo a través de la aplicación de métodos estratégicos de diagnóstico de la enfermedad.

Enfermedad del enrollamiento de la hoja:

Las plantas infectadas con la enfermedad del enrollamiento de la hoja producen racimos de uvas más pequeños que maduran irregularmente y tienen menor contenido de azúcar. Los síntomas foliares incluyen el enrollamiento hacia abajo, enrojecimiento, o amarilleo de las hojas. Otros colores de hojas asociados con la infección del enrollamiento de la hoja incluyen morado, carmesí-naranja y varían dependiendo de la variedad de la vid. Las nervaduras de la hoja pueden permanecer verdes o tomar muchos otros colores (amarillo, morado, rojo, etc.).

Por lo menos nueve especies diferentes de virus están asociadas con la enfermedad del enrollamiento de la hoja de la vid. Aunque, todos los virus asociados con el enrollamiento de la hoja pertenecen a la familia Closteroviridae (del griego, clostero: parecido a una hebra), las únicas especies que son transmitidas por las cochinillas harinosas se clasifican dentro de los diferentes tipos de Ampelovirus (del griego, ampelos: vid). Los ampelovirus incluyen la mayoría de los virus asociados con el enrollamiento de la hoja (GLRaV-1, -3, -4, -5, -6, -8, y 9). Investigaciones recientes han demostrado que los virus del enrollamiento de la hoja son capaces de recombinarse en infecciones mixtas, generando muchas variantes de virus similares. Este fenómeno tiene consecuencias serias en el diagnóstico y detección de estos virus en el viñedo.

Ed Weber (Extensión Cooperativa de UC, Condado de Napa en inglés UC Cooperative Extension, Napa County), Deborah Golino (Servicios de la Planta de UC en inglés UC Foundation Plant Services) y colaboradores comenzaron el mapeo de la propagación del GLRaV-3 en un viñedo de Napa en el otoño de 2002. La evaluación se llevó a cabo a través de la observación visual (síntomas característicos de la enfermedad del enrollamiento de la hoja) e inicialmente confirmaron la presencia de GLRaV-3 en todas las vides sintomáticas con unas pocas excepciones (es decir, infecciones nuevas potenciales). La incidencia de los



síntomas del enrollamiento de la hoja en el viñedo fue de 23%, 41%, 46%, 59%, y 66%, en 2002, 2003, 2004, 2005, y 2006 respectivamente. Este estudio observó que las cochinillas harinosas de la vid estaban presentes en los viñedos en poblaciones demasiado bajas como para ser consideradas problemáticas y justificar su tratamiento.

Trabajos en el laboratorio Golino han demostrado que las cochinillas harinosas de los cítricos (*Planococcus citri*), de la uva (*Pseudococcus maritimus*), de cola larga (chanchitos blancos) (*Pseudococcus longispinus*), de coloración oscura (*Pseudococcus viburni*), y de la vid (*Planococcus ficus*) son capaces de transmitir GLRaV-3. El mismo estudio mostró que la cochinilla harinosa de cola larga, también conocida como cochinilla harinosa de los invernáculos, puede transmitir GLRaV-5, GVA (también transmitido por la cochinilla de coloración oscura, de cítricos y de la vid), y GVB (también transmitido por la cochinilla de coloración oscura y de la vid). Además, trabajos en Sudáfrica han demostrado que un único individuo de las cochinillas harinosas *de la vid* o de cola larga puede transmitir GLRaV-3 a vides sanas.

Prueba de la enfermedad en el laboratorio

La correcta identificación del agente causal de la enfermedad es decisiva para planear una estrategia de control. Deberían realizarse inspecciones visuales regulares y muestreo de vides para controlar el estado de la enfermedad de un viñedo. No siempre es posible correlacionar la presencia de la infección de un virus con los síntomas, especialmente con nuevas infecciones virales. También es complicado cuando otros virus y hongos causan síntomas similares en el viñedo. En ocasiones es peor ya que muchas combinaciones de injerto-patrón pueden no desarrollar ningún síntoma. Los síntomas pueden aparecer dos o más años después de realizar una operación en la parte superior del viñedo (top working) con una nueva variedad. Los virus asociados con el enrollamiento de la hoja se mueven lentamente en la vid y pueden permanecer sin ser detectados por la prueba de laboratorio a menos que el muestreo se haga correctamente. La recopilación de las muestras representativas permitirá que el laboratorio detecte la presencia de virus asociados con el enrollamiento de la hoja. La estación para la prueba es importante; las muestras pueden recolectarse de vides al comenzar el otoño durante el período de inactividad. Se recomienda realizar pruebas tanto los materiales usados como injerto y patrón, especialmente si el viñedo se “trabajó en la parte superior” o “se injertó de un vástago varietal sobre un portainjerto establecido en campo” recientemente.

En el laboratorio se realizarán una serie de pruebas. Dos métodos son métodos estándar para la detección de los virus asociados con el enrollamiento de la hoja en vides: ELISA y RT-PCR. ELISA es una abreviación de “análisis de inmun-absorbencia ligado a enzimas” (en inglés *enzyme-linked immuno-sorbent assay*), y consiste en la captura de la proteína protectora de virus (envoltura protectora de proteína) en un plato de ensayo que contiene anticuerpos virales específicos, y la detección a través de reacción de enzimas que producen un color de reacción. La detección está limitada a la cantidad de virus presente en la muestra. RT-PCR es la abreviación de “reacción en cadena de la polimerasa transcriptasa inversa” (en inglés *reverse transcription-polymerase chain reaction*). La técnica de RT-PCR permite la amplificación (es decir, hacer copias múltiples) del ARN viral a partir de concentraciones iniciales bajas presentes en la vid. El proceso es específico y utiliza pequeñas porciones del genoma viral para comenzar el proceso de amplificación/copiado. La amplificación se repite varias veces con cada copia para hacer más copias, así después de completar un número apropiado de ciclos de PCR, pueden producirse más de mil millones de copias de ARN viral. Por lo tanto,



RT-PCR es una técnica sensible para la detección de los virus del enrollamiento de la hoja.

La sensibilidad y especificidad (es decir, la reacción ante el código genético de virus exacto) de la detección de los virus asociados con el enrollamiento de la hoja depende del método que se use para el diagnóstico pero también influye la estación y la parte de la vid de donde se extrajeron las muestras. Mientras que el método ELISA se considera generalmente menos sensible que el RT-PCR, el ELISA tiene un espectro más amplio de detección (es decir, puede detectar un rango de variantes de virus). Por otro lado, RT-PCR podría ser específico y fallar en la detección de cepas aisladas del mismo virus con cambios minúsculos debido a los sucesos de recombinación (por ejemplo, variantes). Recomendamos usar tanto el ELISA como el RT-PCR en forma consecutiva para detectar de manera confiable virus del enrollamiento de la hoja de la vid. El razonamiento es que ambos métodos están diseñados para detectar diferentes porciones de virus. ELISA detecta la envoltura de protección de virus y RT-PCR detecta el genoma ARN. De acuerdo con nuestra experiencia, ELISA es más “permisivo” con respecto a cambios pequeños en la conformación de un virus; mientras que RT-PCR es sensible pero requerirá el diseño de nuevos de nuevos iniciadores o *primers* para continuar con la detección de variantes de virus. En resumen, RT-PCR y ELISA se complementan entre sí en la detección de concentraciones bajas de virus, nuevas infecciones, y variantes de virus recientemente generadas.

Gestión y control de la enfermedad:

El control efectivo de la enfermedad requiere sobre todo una producción de plantas limpia (es decir, estado testeado y certificado como libre de enfermedad). Sin embargo, para asegurar que el viñedo se mantenga libre de la enfermedad, el viticultor debe controlar la infección viral en viñedos adyacentes. El viticultor debe idear procedimientos para proteger el “viñedo limpio” de infecciones internas potenciales. Se deben monitorear y controlar constantemente las cochinillas harinosas. Las cochinillas harinosas no son siempre fáciles de observar en un viñedo. Trampas especiales (incluyendo trampas de feromonas) se encuentran disponibles para controlar la presencia de infección de cochinillas harinosas. Para una identificación apropiada, las muestras deben reunirse y presentarse al asesor de control de plagas (ACP en inglés PCA) o una extensión de la oficina extensión office. El agente de extensión o ACP le recomendará el tratamiento necesario basándose en la identificación específica de la cochinilla harinosa.

La dispersión de cochinillas harinosas por el equipo de campo, los pájaros, los trabajadores o por el viento contribuye a la propagación del virus a grandes distancias. En Sudáfrica, se realizan estudios para determinar el efecto de las prácticas sanitarias en la propagación de la enfermedad del enrollamiento de la hoja. Las prácticas sanitarias incluyen periodos de barbecho, higienización del equipo, e higienización de la ropa del trabajador. Otro estudio implica la eliminación de vides infectadas y cochinillas harinosas (por medio del uso de herbicidas/insecticidas sistemáticos) para tratar bloques infectados por virus. Los resultados de estos estudios proporcionarán instrucciones para el control de la enfermedad en el futuro cercano.

El control de la propagación de virus dañinos requiere protocolos rigurosos mientras se trabaja con las vides y se realizan prácticas culturales en el viñedo. El tratamiento con agua caliente de cortes de vid ha demostrado ser una práctica efectiva para controlar el traslado de las cochinillas harinosas de un sitio a otro. Otras sugerencias incluyen establecer trampas de viento, cobertura de insecticidas o cultivos intercalados, usando ropa y calzado adecuado para los trabajadores, y evitando el uso de equipo potencialmente contaminado en el viñedo.



Con respecto a la producción limpia, el Departamento de Agricultura de California (en inglés CDFA) está trabajando en la revisión de las regulaciones para el registro y certificación de vides. Se espera que las nuevas regulaciones sean estrictas en relación con las prácticas de aplicación (es decir, aislamiento del sitio, control de vectores) para mantener los boques certificados libres de infección de la enfermedad.

El control de la propagación del enrollamiento de la hoja en California necesitará basarse en el esfuerzo conjunto de viticultores más que en logros individuales. La creación de una red de viticultores vecinos permitirá el diálogo abierto, la capacitación y superación. La aplicación de prácticas de cultivo (especialmente aplicaciones sanitarias y de control de insectos) debería ser coordinada y programada por un comité local.



Figura 1. Primer plano de los síntomas del enrollamiento de la hoja en el viñedo. Observar el enrollamiento de la hoja típico, los colores del follaje y el desarrollo pobres de las uvas.



Figura 2. Propagación de los síntomas del enrollamiento de la hoja en un viñedo en un Valle de Napa.



Recibido: Febrero 2008
Aceptado: Julio 2008

NDLR: Artículo publicado en Wines & Vines, Febrero de 2008
www.winesandvines.com
Si desea contactarse con su autora, comuníquese a enologia@revistaenologia.com