

REVISÃO ANUAL DE PATOLOGIA DE PLANTAS
 COPYRIGHT© REVISÃO ANUAL DE PATOLOGIA DE PLANTAS
 2014

RAPP

REVISÃO ANUAL DE PATOLOGIA DE PLANTAS

Nenhuma parte desta publicação poderá ser reproduzida sem prévia autorização, por escrito, do editor. exemplares desta publicação podem ser solicitados á:

RAPP - REVISÃO ANUAL DE PATOLOGIA DE PLANTAS

Rua Saul Irineu Farina, 111
 Bosque Lucas Araújo
 Passo Fundo. RS
 Brasil
 CEP 99074-230

Tiragem: 350 exemplares

Publicado no Brasil

RAPP
VOLUME 22, 2014

COMISSÃO EDITORIAL

Wilmar Cório da Luz
 Edna Dora Martins N. Luz
 Fernando Cezar Juliatti
 Idalmir dos Santos
 Mario Lúcio V. Resende
 Sérgio F. Paschoalati

WILMAR CÓRIO DA LUZ
 Editor
RAPP

Uma publicação da **REVISÃO ANUAL DE PATOLOGIA DE PLANTAS**
 Passo Fundo
 ISSN 0104 - 0383

AVANÇOS E PERSPECTIVAS NO ESTUDO DAS DOENÇAS VIRAIS E SUBVIRAIS EM VIDEIRA COM ÊNFASE NA REALIDADE BRASILEIRA

Marcos Fernando Basso¹, Thor Vinícius Martins Fajardo²,
Gilvan Pio-Ribeiro³, Marcelo Eiras⁴, Francisco Murilo Zerbini¹

¹Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 36570-900; ²Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS, 95700-000; ³Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 52171-900; ⁴Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, Instituto Biológico, São Paulo, SP, 04014-002.

E-mail: thor.fajardo@embrapa.br

RESUMO

A videira (*Vitis spp.*) é cultivada em praticamente todos os continentes e o intercâmbio de material de propagação vegetativa entre países tem contribuído para a disseminação de vírus e agentes subviraais. Até o presente, foram detectadas, em todo o mundo, cerca de 60 espécies de vírus e agentes subviraais nesta cultura, além de inúmeras estirpes virais distintas. No Brasil já foram relatadas em videira pelo menos 13 espécies de vírus, dois viroides, um possível novo vírus de DNA circular e duas possíveis viroses, cujos agentes ainda não foram caracterizados. Embora nem todas essas viroses tenham importância econômica, de modo geral apresentam influência negativa no rendimento, qualidade e longevidade dos vinhedos. O uso de material propagativo livre de vírus continua sendo o método de controle mais eficiente para estes patógenos. A transferência de informações e a utilização de material propagativo sadio têm sido consideradas medidas importantes para o sucesso da vitivinicultura. O objetivo da presente revisão foi abordar os avanços recentes na virologia aplicada à cultura da videira, mostrando os conhecimentos alcançados nas últimas décadas e perspectivas de novas descobertas sobre as principais doenças causadas por vírus e agentes subviraais, dando ênfase aos trabalhos realizados no Brasil.

SUMMARY

ADVANCES AND PROSPECTS IN THE STUDY OF VIRAL AND SUBVIRAL DISEASES IN GRAPEVINE WITH EMPHASIS ON THE SITUATION IN BRAZIL

The grapevine (*Vitis spp.*) is cultivated in almost all continents and the exchange of propagating materials between countries has contributed to the spread of viruses and subviral agents. To date, approximately 60 species of viruses and subviral agents and numerous distinct viral strains have been detected in this crop in the world. In Brazil, at least thirteen species of viruses, two viroids, a possible new circular DNA virus and two possible viral diseases whose agents have not yet been characterized, have been reported in grapevine. Although not all of these viruses have economic importance, they generally negatively impact yield, quality and longevity of the vineyards. Virus-free planting material remains the most efficient method of control of these pathogens. The transfer of information and use of healthy propagation materials have been considered important measures for the success of viticulture. The objective of the present review was to summarize recent advances in grapevine virology, showing the increased knowledge achieved and prospects of new discoveries about the main diseases caused by viruses and subviral agents, emphasizing the research carried out in Brazil.

INTRODUÇÃO

A videira (*Vitis spp.*) tem sido cultivada há milhares de anos e está difundida em todos os continentes. No Brasil, os vinhedos ocupam uma área de, aproximadamente, 80.000 hectares, com uma produção anual de cerca de 1.400.000 toneladas (Agrianual, 2012). Na viticultura brasileira utiliza-se uma grande diversidade de material genético, sendo mais de 120 cultivares viníferas (*V. vinifera* L.) e mais de 40 cultivares americanas (*V. labrusca* L.) (Carmargo et al., 2011). A introdução recente de novos materiais de viníferas tem aumentado a diversidade e a qualidade da uva, porém, estes normalmente têm apresentado maior suscetibilidade a diversos patógenos.

Atualmente são conhecidas cerca de 60 espécies de vírus, nove de viroides, três RNAs satélites e cinco possíveis doenças virais capazes de infectar a videira, as quais constituem importante ameaça à vitivinicultura (Tabela 1). Esta perspectiva é decorrente da forma de transmissão destes patógenos, realizada por meio de propagação vegetativa, insetos vetores e, em alguns casos, mecanicamente (Martelli, 2012). Até o momento não há comprovação científica da transmissão viral por instrumentos usados no manejo da videira, a exemplo de tesouras de poda.

Tabela 1. Espécies virais e subvirais (viroides e RNAs satélites) atualmente conhecidas e relatadas em videira (*Vitis* spp.) e seus respectivos vetores. Adaptada de Martelli (2012) e Oliver & Fuchs (2011).

Família	Gênero	Espécie	Vetor
<i>Alphaflexiviridae</i>	<i>Potexvirus</i>	<i>Potato virus X</i> (PVX)	Desconhecido
	<i>Foveavirus</i>	<i>Grapevine rupestris stem pitting-associated virus</i> (GRSPaV) +	Desconhecido
<i>Betaflexiviridae</i>	<i>Trichovirus</i>	<i>Grapevine berry inner necrosis virus</i> (GINV)	Ácaros
		<i>Grapevine Pinot gris virus</i> (PGPV)	Desconhecido
		<i>Grapevine virus A</i> (GVA) +	Cochonilhas
		<i>Grapevine virus B</i> (GVB) +	Cochonilhas
		<i>Grapevine virus D</i> (GVD) +	Desconhecido
		<i>Grapevine virus E</i> (GVE)	Cochonilhas
	<i>Grapevine virus F</i> (GVF)	Desconhecido	
<i>Bromoviridae</i>	<i>Alfamovirus</i>	<i>Alfalfa mosaic virus</i> (AMV)	Afídeos
	<i>Cucumovirus</i>	<i>Cucumber mosaic virus</i> (CMV)	Afídeos
<i>Bunyaviridae</i>	<i>Illarvirus</i>	<i>Grapevine line pattern virus</i> (GLPV)	Desconhecido
		<i>Grapevine angular mosaic virus</i> (GAMoV)	Desconhecido
<i>Closteroviridae</i>	<i>Tospovirus</i>	<i>Tomato spotted wilt virus</i> (TSWV)	Trips
	<i>Closterovirus</i>	<i>Grapevine leafroll-associated virus 2</i> (GLRaV-2) +	Desconhecido
		<i>Grapevine leafroll-associated virus 1</i> (GLRaV-1) +	Cochonilhas
		<i>Grapevine leafroll-associated virus 3</i> (GLRaV-3) +	Cochonilhas
		<i>Grapevine leafroll-associated virus 4</i> (GLRaV-4) + (strain 5*, 6* = De, 9, Cat, Pt)	Cochonilhas
		<i>Grapevine leafroll-associated virus 7</i> (GLRaV-7)	Desconhecido
<i>Caulimoviridae</i>	<i>Badnavirus</i>	<i>Grapevine vein clearing virus</i> (GVCV)	Desconhecido
		<i>Grapevine cabernet franc-associated virus</i> (GCFaV)	Desconhecido
<i>Geminiviridae</i>	n.d.	<i>Grapevine redleaf-associated virus</i> (GRLaV)	Cigarrinhas
		<i>Grapevine red blotch-associated virus</i> (GRBaV)	Desconhecido
<i>Potyviridae</i>	<i>Potyvirus</i>	<i>Bean common mosaic virus</i> (BCMV)	Afídeos

<i>Fabavirus</i>		<i>Broad bean wilt virus</i> (BBWV)	Afídeos	
		<i>Arabis mosaic virus</i> (ArMV)	Nematoides	
	<i>Nepovirus</i> (Subgrupo A)		<i>Grapevine fanleaf virus</i> (GFLV) +	Nematoides
			<i>Raspberry ringspot virus</i> (RpRSV)	Nematoides
		<i>Tobacco ringspot virus</i> (TRSV)	Nematoides	
<i>Nepovirus</i> (Subgrupo B)		<i>Tomato black ring virus</i> (TBRV)	Nematoides	
		<i>Artichoke Italian latent virus</i> (AILV)	Desconhecido	
		<i>Grapevine chrome mosaic virus</i> (GCMV)	Desconhecido	
		<i>Blueberry leaf mottle virus</i> (BBLMV)	Desconhecido	
		<i>Grapevine Tunisian ringspot virus</i> (GTRSV)	Desconhecido	
<i>Nepovirus</i> (Subgrupo C)		<i>Tomato ringspot virus</i> (ToRSV)	Nematoides	
		<i>Peach rosette mosaic virus</i> (PRMV)	Nematoides	
		<i>Cherry leaf roll virus</i> (CLRV)	Desconhecido	
<i>Nepovirus</i> (não classificado)		<i>Grapevine Bulgarian latent virus</i> (GBLV)	Desconhecido	
		<i>Grapevine Anatolian ringspot virus</i> (GARSV)	Desconhecido	
		<i>Grapevine deformation virus</i> (GDefV)	Desconhecido	
<i>Secoviridae</i> não classificado		<i>Strawberry latent ringspot virus</i> (SLRV)	Nematoides	
<i>Tomбовiridae</i>	<i>Carnovirus</i>	<i>Carnation mottle virus</i> (CarMV)	Desconhecido	
	<i>Necrovirus</i>	<i>Tobacco necrosis virus D</i> (TNV-D)	Desconhecido	
	<i>Tomбовirus</i>	<i>Grapevine Algerian latent virus</i> (GALV)	Desconhecido	
<i>Maculavirus</i>		<i>Petunia asteroid mosaic virus</i> (PAMV)	Desconhecido	
		<i>Grapevine fleck virus</i> (GFkV) +	Desconhecido	
<i>Tymoviridae</i>		<i>Grapevine Red Globe virus</i> (GRGV)	Desconhecido	
		<i>Grapevine rupestris vein feathering virus</i> (GRVFV) +	Desconhecido	
		<i>Grapevine asteroid mosaic-associated virus</i> (GAMaV)	Desconhecido	
<i>Virgaviridae</i>		<i>Grapevine Syrah virus -1</i> (GSV-1)	Desconhecido	
		<i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV)	Ausente	
		<i>Tomato mosaic virus</i> (ToMV)	Ausente	

n.d.	<i>Idaeovirus</i>	<i>Raspberry bushy dwarf virus</i> (RBDV)	Desconhecido
n.d.	<i>Sobemovirus</i>	<i>Sowbane mosaic virus</i> (SoMV)	Desconhecido
n.d.	n.d.	<i>Grapevine Ajmashika virus</i> (GAgV)	Desconhecido
n.d.	n.d.	<i>Grapevine stunt virus</i> (GSV)	Desconhecido
n.d.	n.d.	<i>Grapevine labile rod-shaped virus</i> (GLRSV)	Desconhecido
n.d.	n.d.	<i>Southern tomato virus</i> (STV)	Desconhecido
	<i>Apscaviroid</i>	<i>Australian grapevine viroid</i> (AGVd)	Ausente
		<i>Grapevine yellow speckle viroid 1</i> (GYSVd-1)	Ausente
		<i>Grapevine yellow speckle viroid 2</i> (GYSVd-2)	Ausente
		<i>Grapevine yellow speckle viroid 3</i> (GYSVd-3)	Ausente
	<i>Hop stunt viroid</i>	<i>Hop stunt viroid</i> (HSVd) ⁺	Ausente
	<i>Pospiviroid</i>	<i>Citrus exocortis viroid</i> (CEVd) ⁺	Ausente
n.d.	n.d.	<i>Grapevine hammerhead viroid</i> (GHVd)	Ausente
	<i>RNA satellite</i> (Subgrupo I)	<i>Grapevine Bulgarian latent virus satellite RNA</i> (satG-BLV)	Desconhecido
		<i>Grapevine fanleaf virus satellite RNA</i> (satGFLV)	Nematóides
		RNA satélite não nomeado (Al Rwahnih et al., 2013b)	Desconhecido
n.d.	n.d.	<i>Grapevine vein necrosis</i> (Necrose das nervuras da videira) ⁺	
n.d.	n.d.	LN33 stem grooving (Acanaladura do lenho de LN 33) ⁺	
n.d.	n.d.	<i>Grapevine vein mosaic</i> (Mosaico das nervuras da videira)	
n.d.	n.d.	<i>Grapevine enation</i> (Enação da videira)	
n.d.	n.d.	<i>Grapevine summer mottle</i> (Mosqueado de verão da videira)	

⁺ Vírus, viroides e possíveis viroses, com agente causal ainda não caracterizado, relatados infectando videiras no Brasil; n.d.: classificação taxonômica ainda não determinada (ICTV, 2012).

Com os avanços nos métodos de detecção dos vírus e agentes subvirais, verificou-se que a maioria das ocorrências desses patógenos em videira ocorre na forma de infecções mistas, sendo este mais um desafio para o diagnóstico e o controle das doenças resultantes. Estas viroses causam grande impacto econômico pela redução no rendimento, na qualidade e longevidade dos vinhedos (Basso et al., 2010c) (Figura 1A-H). Atualmente, os únicos métodos de controle aplicados para as viroses da videira, baseiam-se em estratégias de prevenção, por meio da utilização de material propagativo (mudas, estacas ou gemas) comprovadamente livre destes patógenos (Lima, 2009). Uma vez infectada, é impossível curar a planta adotando-se métodos tradicionais, como aqueles utilizados para outros patógenos a exemplo de fungos e bactérias. A obtenção de novas plantas sadias, a partir de plantas infectadas, só é possível por meio de limpeza clonal, cultura de tecidos e termoterapia (Fajardo et al., 2004a). Algumas medidas paliativas podem ser adotadas para aumentar o período produtivo de vinhedos infectados, no entanto, tais medidas apresentam eficácia parcial. Além disso, devem ser considerados: (i) o possível aumento do custo de produção com a adoção de práticas de manejo das viroses; (ii) o plantio de cultivares e/ou porta-enxertos mais tolerantes a viroses, porém que não apresentam características enológicas ou agrônomicas requeridas; e (iii) a utilização de cultivares com características desejadas, porém altamente suscetíveis aos vírus (Monis et al., 2010).

O fato de a videira ser uma planta perene, com longo período de exposição dos vinhedos em campo e ser propagada vegetativamente, por meio de diferentes tipos de enxertia e por estacas, facilita a disseminação de patógenos e favorece o aparecimento de doenças complexas, pelo acúmulo de diferentes espécies ou estirpes virais em uma mesma planta ou vinhedo (Fajardo et al., 2007a). Embora nem sempre despertem a atenção dos viticultores, os sintomas exibidos pelas plantas infectadas por vírus podem ser visualmente confundidos com deficiências nutricionais ou com alterações induzidas por outros patógenos, contribuindo para a disseminação inadvertida via propagação vegetativa (Garrido et al., 2008). Dependendo da combinação entre cultivar e espécie viral, os primeiros sintomas característicos podem ser perceptíveis somente 2 a 3 anos após a infecção (Lima & Fajardo, 2012). Os sintomas variam com as condições ambientais, estágio fenológico da planta, práticas de manejo, fertilidade do solo, espécie e estirpe virais e com a cultivar da videira (Fajardo et al., 2007a). A maioria dos sintomas de viroses é facilmente reconhecível em cultivares suscetíveis, em especial, no final do ciclo vegetativo, antes da queda das folhas. Em plantas muito afetadas, os sintomas podem ser evidentes a partir da floração, porém são mais comuns em época próxima à maturação da uva (Cabaleiro & Segura, 2006).

O crescente avanço no conhecimento sobre a ocorrência de vírus e agentes subvirais em videira, a compreensão da dinâmica destes patógenos na

cultura, a prática de indexação de materiais propagativos e os resultados oriundos da pesquisa têm contribuído para o sucesso da produção de uva em várias partes do mundo. Diante da importância socioeconômica da viticultura, dos efeitos danosos das viroses e da necessidade de atualizações técnico-científicas para estudantes e profissionais que trabalham nessa área, o objetivo desta revisão foi abordar os avanços da virologia aplicada ao cultivo da videira, evidenciando as recentes descobertas e perspectivas sobre as principais doenças causadas por vírus e agentes subvirais, dando ênfase aos trabalhos realizados com materiais cultivados nas condições brasileiras.



Figura 1. Sintomas de viroses em videiras. (A) Degenerescência da videira (fanleaf degeneration, induzida pelo *Grapevine fanleaf virus*), folha sintomática (dir.); (B) Caneluras em videira, com ranhuras no tronco (dir.); (C) Lenho rugoso, ramo com intumescimento e rachaduras na base (dir.); (D) Lenho rugoso, corte transversal de ramo com engrossamento da casca e caneluras (dir.); (E) Cachos de uva da cv. Cabernet Franc produzidos em videiras que exibiam sintomas de infecção viral (abaixo); (F) Enrolamento da folha em cv. vinífera branca (abaixo); (G) Enrolamento da folha em cv. vinífera tinta (abaixo); (H) Muda infectada por vírus (dir.). Em todas as fotos foram incluídas videiras saudáveis ou assintomáticas para comparação com materiais infectados (Fotos: Thor V. M. Fajardo).

DANOS CAUSADOS POR VÍRUS EM VIDEIRAS

Os efeitos dos vírus e agentes subvirais na videira podem se manifestar de formas mais específicas ou mais abrangentes, com variações que dependem da espécie viral, cultivar da videira e condições climáticas. As plantas infectadas apresentam alterações na expressão de genes, redução do potencial fotossintético, aumento na taxa de respiração, redução dos teores de clorofila e acúmulo de açúcares solúveis totais nas folhas, e consequentemente, deficiência na translocação desses açúcares para os tecidos de reserva ou para as bagas (Basso et al., 2010c).

Verificou-se indução ou repressão significativa na expressão de genes da videira envolvidos em rotas metabólicas, na biossíntese de metabólitos primários ou secundários, genes que codificam proteínas associadas à senescência (proteases, lipases, proteínas envolvidas na mobilização de nutrientes e minerais, transportadores, fatores de transcrição, proteínas relacionadas com tradução, enzimas antioxidantes), genes relacionados aos mecanismos de defesa e aos processos de desenvolvimento do hospedeiro (Espinoza et al., 2007; Vega et al., 2011).

A infecção viral ou subviral pode acelerar a senescência das plantas e inibir ou retardar a biossíntese de clorofila, alterando inúmeras funções fisiológicas da planta hospedeira. Em plantas infectadas, quando comparadas com plantas saudáveis, os limites máximos de fotossíntese apresentam valores bem abaixo do normal, possivelmente devido a outras limitações fisiológicas impostas pelo vírus, podendo chegar a redução de até 68% (Sampol et al., 2003; Basso et al., 2010c). Verificou-se também alteração na radiação de saturação de folhas sintomáticas, que pode apresentar redução de até 41%, fazendo com que o incremento na fotossíntese seja limitado pelas reações fotoquímicas. Folhas sintomáticas podem apresentar aumento de 80 a 250% no ponto de compensação de luz. Em contrapartida, há redução no rendimento quântico aparente da ordem de 35% em relação às folhas de plantas saudáveis, resultando em maior exigência de radiação para viabilizar a fixação de CO₂ (Basso et al., 2010c). Outros distúrbios podem ser atribuídos a danos diretos que os vírus podem exercer sobre os cloroplastos e membranas dos tilacoides, interferências da proteína capsial no fotossistema II, reduções nas concentrações de clorofila e de proteína solúvel total e redução na atividade da enzima rubisco (Sampol et al., 2003). O menor potencial fotossintético, apresentado pelas plantas infectadas, também pode estar relacionado à menor área foliar exposta em plantas infectadas e ao aumento da concentração de antocianinas (avermelhamento) comumente verificado em folhas sintomáticas (Brar et al., 2008).

Os vírus, ao se concentrarem nos tecidos do floema e por codificarem proteínas de movimento, podem desorganizar os tecidos dos vasos conduto-

res de seiva, interferindo no fluxo de fotoassimilados, que ao se acumularem nas folhas infectadas contribuem para sua carência em órgãos-dreno da planta, como ramos, raízes e frutos (Lalonde et al., 2003). O maior acúmulo de açúcares solúveis totais e amido em folhas de plantas infectadas pode resultar em retroinibição metabólica, como consequência, haveria o bloqueio da translocação desses carboidratos (Berger et al., 2007).

De forma mais abrangente, verifica-se redução no teor de sólidos solúveis totais (grau brix) e ocorrência de maturação irregular das bagas, redução na qualidade e no rendimento da produção e, em casos mais severos de infecção, enfraquecimento e atraso das brotações, redução da longevidade e declínio das plantas e até a morte de plantas cronicamente infectadas (Vega et al., 2011; Giribaldi et al., 2011). Análises enoquímicas evidenciaram a maturação irregular e incompleta das uvas provenientes de plantas infectadas. Uvas colhidas de plantas infectadas apresentaram reduções de sólidos solúveis totais de, aproximadamente, 3ºBrix, aumento na acidez titulável do mosto e reduções na intensidade de cor em cultivares tintas de até 35%, nos índices de polifenóis totais de até 38%, na biossíntese de taninos, flavonóides, antocianinas, poliaminas, compostos aromáticos e outros metabólitos (Brar et al., 2008; Basso et al., 2010c) (Figura 1A-H).

Dubiela et al. (2011) avaliaram variáveis agrônômicas em duas cultivares de videiras infectadas com GRSPaV e GVB comparativamente a videiras assintomáticas. Foram observadas diferenças nas seguintes variáveis (% de redução em relação às plantas sem sintomas): nº ramos com cachos (24-37%), nº cachos (35%), peso fresco do cacho (37-55%), peso total de bagas/cacho (36-55%), peso do engaço (52-54%) e nº bagas/cacho (27-47%). Adicionalmente, em uma das cultivares foram verificadas diferenças, em favor das plantas sem sintomas, em relação ao nº gemas brotadas (28%), nº total gemas (22%) e °Brix do mosto (cerca de 7%) e, em outra cultivar, em relação ao peso médio de baga (13%) e nº de gemas não brotadas nas plantas infectadas (redução de 51%).

PRINCIPAIS DOENÇAS VIRAIS E SUBVIRAIS DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA MUNDIAL

De todas as viroses já relatadas em videira, um grupo restrito se destaca por sua importância econômica em nível mundial. São doenças com sintomas típicos resultantes de infecções simples ou múltiplas de espécies virais das seguintes famílias: a) *Closteroviridae* - Enrolamento da folha; b) *Betaflexiviridae* - Lenho rugoso; c) *Secoviridae* - Degenerescência da videira; d) *Tymoviridae* - Mancha das nervuras. Essas quatro viroses já foram relatadas no Brasil (Tabela 2; Figura 2), com maior relevância para o Enrolamento da folha e o

Lenho rugoso (Radaelli et al., 2009; Basso et al., 2010a), e em países vizinhos como Argentina e Chile (Volpe et al., 2010; Fiore et al., 2008 e 2011).

É comum a ocorrência de infecções múltiplas com vírus pertencentes a diferentes famílias, causando um quadro sintomatológico complexo e variável dependendo das espécies envolvidas, além de agentes subvirais, porventura também presentes. A presença de sintomas normalmente varia em função da idade do tecido da planta infectada, correlacionando-se, na maioria das vezes, com a concentração viral. Assim, tecidos maduros, comparativamente aos jovens, tendem a apresentar expressão de sintomas e maior concentração viral, decrescendo a partir de ramos do ano anterior, ramos do ano, pecíolos, até o limbo foliar (Cabaleiro & Segura, 2006; Tsai et al., 2012).

Muitas espécies virais e agentes subvirais detectados em videiras não apresentam relevância econômica comprovada, ocorrendo de forma ocasional, em áreas restritas ou associados a infecções latentes. A maioria dos vírus que infecta a videira apresenta genoma constituído de RNA fita simples, senso positivo, revestido por um capsídeo, formando partículas virais não envelopadas. Apresentam-se como exceção o *Tomato spotted wilt virus*, do gênero *Tospovirus*, família *Bunyaviridae*, que é envelopado e possui genoma constituído por três segmentos de RNA, sendo um negativo e dois deles com estratégia de expressão ambi-senso, além de quatro vírus com genoma de DNA, recentemente detectados, possíveis membros das famílias *Caulimoviridae* e *Geminiviridae* (Tabela 1). Sem exceção, todos esses patógenos são disseminados por meio da propagação vegetativa da videira.

Quanto às taxas de diversidade e variabilidade genética, as populações dos vírus e agentes subvirais que infectam a videira não fogem à regra e comportam-se como “quase-espécie”, ou seja, um contínuo de genomas virais quase idênticos, pertencentes à mesma espécie. Por outro lado, destaca-se a recente identificação de novas espécies ou estirpes virais resultantes de eventos de recombinação ou acúmulo de mutações ao longo do tempo (Boulila, 2011; Ito et al., 2013). Evidências de coevolução ou adaptação entre espécies de vírus e a videira também já foram relatadas, indicando a ampla disseminação e o sucesso desses patógenos em infectar sua hospedeira (Gambino et al., 2012).

No Brasil, treze espécies de vírus, duas espécies de viroides e duas doenças virais já tiveram suas ocorrências relatadas em vinhedos (Tabela 1). Diversos isolados virais e viroidais foram caracterizados no país (Tabela 2).

Complexo do enrolamento da folha da videira

O Enrolamento da folha da videira é a virose mais difundida no Brasil e nos demais países produtores de uva, tendo sido relatada em praticamente todas as regiões vitícolas (Fajardo et al., 2007b). A importância econômica desta virose é variável em função principalmente da(s) espécie(s) viral(is) envolvida(s), espécie e cultivar da videira, da incidência no vinhedo e da região geográfica em que ocorre (Alkowni et al., 2011).

Essa doença é caracterizada por causar alterações na anatomia dos tecidos do floema, incompatibilidade da enxertia e sintomas foliares característicos que, independentemente da cultivar, aparecem sempre a partir da base dos ramos, evoluindo para as folhas da extremidade, sendo mais acentuados no final do ciclo vegetativo. Em cultivares suscetíveis, os sintomas típicos são o avermelhamento das folhas, que adquirem textura coriácea, seguido de enrolamento dos bordos da folha para baixo. Nas cultivares viníferas tintas, o limbo adquire uma coloração vermelho-violácea e o tecido ao longo das nervuras principais permanece com a cor verde. Nas cultivares brancas, o limbo e as nervuras apresentam leve coloração amarelo-pálida (Lima & Fajardo, 2012) (Figura 1E, F e G). As cultivares de videiras americanas e híbridas, predominantes no Brasil, são consideradas tolerantes, geralmente assintomáticas, observando-se apenas leve enrolamento das folhas nas cvs. Niágara Branca, Niágara Rosada e Concord e, às vezes, necrose entre as nervuras principais. Na cultivar Isabel, a redução no crescimento e no rendimento é, na maioria das vezes, a única alteração evidente, não sendo observados sintomas foliares. As cultivares usadas como porta-enxerto não exibem qualquer sintoma foliar, dificultando a diferenciação entre as plantas infectadas e as saudáveis, o que pode favorecer a disseminação de vírus na etapa de formação das mudas (Basso et al., 2010a).

Os agentes causais do Enrolamento da folha constituem um grupo de vírus, podendo ocorrer de forma isolada ou como um complexo viral, sendo normalmente referidos como os vírus associados ao enrolamento da folha da videira. Até o final de 2011 eram conhecidas onze espécies denominadas *Grapevine leafroll-associated virus* 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, Pr, De, Car (GLRaV-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, Pr, De, Car, respectivamente) (Tabela 1). Pela incidência e importância econômica, na maioria dos países vitícolas, destacam-se o GLRaV-1, -2, -3 e -4 (Martelli, 2012). Uma revisão recente de Maree et al. (2013) reúne informações mais relevantes e atualizadas sobre o GLRaV-3, o principal vírus do complexo do enrolamento da folha da videira.

Tabela 2. Espécies de vírus e viroídeos que infectam a videira e que foram molecularmente caracterizadas no Brasil.

Vírus/viroídeo	Porção genômica caracterizada	Nucleotídeos (pb)	Código GenBank (isolado)	Referências
GVA	Proteína capsidial	597	AF494187 (Brazil), KF667501 (IT-BA), AY340581 (SP)	Fajardo et al. (2003) Moreira et al. (2004a)
GVB	Proteína capsidial (parcial)	451	HM358052 (PC40), KJ848782 (NiagRos2), KJ848783 (NiagRos10)	Basso et al. (2010a)
GVD	Proteína capsidial e Proteína de ligação ao RNA	852	AF438410 (BR1), KF040331 (CO), KF040332 (IS-SVF), KF040333 (CS), AY340582 (Common), AY340583 (Italia)	Nickel et al. (2002); Moreira et al. (2004b); Catarino et al. (2013a)
GLRaV-1	Proteína capsidial	969	JQ031715 (Dole) JQ031716 (Garg)	Fajardo et al. (2012)
GLRaV-2	Proteína capsidial	597	GQ332536 (PS) EU053125 (M/C), EU053126 (L/I), EU204909 (SE), EU204910 (IT), EU204911 (MH), EU204912 (RI)	Fajardo et al. (2011) Radaelli et al. (2009)
GLRaV-3	Proteína capsidial	431	HM059035 (CS2), HM358050 (IS3)	Basso et al. (2010a)
	Proteína capsidial (parcial)	397	KJ958525 (Mer8), KJ958526 (Mer31)	esta revisão
	HSP70 (parcial)	596-623	HM059039 (CS1), HM130523 (SE)	Basso et al. (2010a)
	Proteína capsidial	942	DQ680141 (Pet-1), DQ680142 (Pet-2), DQ621152 (Pet-3), AY753208 (Pet-4), HM059034 (IS2), KJ704369 (RC-PE)	Fajardo et al. (2007b); Basso et al. (2010a)
	Replicase (parcial)	340	AF438411 (Pet-4)	Fajardo et al. (2002)
	HSP70 (parcial)	593	HM059040 (IS1)	Basso et al. (2010a)
	HSP70 (parcial)	230	KC519443 (Pet-4)	Fajardo et al. (2007b)
GLRaV-4	HSP70 (parcial)	302	KC202814 (RB), KC202815 (ME)	Catarino et al. (2013b)
GLRaV-5	Proteína capsidial	798	JQ821315 (Card5)	Fajardo et al. (2012)
	HSP70 (parcial)	565	JQ821314 (Card5)	Fajardo et al. (2012)
GLRaV-6	HSP70 (parcial)	591	JQ290111 (Card)	Fajardo et al. (2012)

GRSPaV	Proteína capsidial	780	EF636803 (CF195), EF636804 (CF207), EF690380 (MG), EF690381 (PN), EF690382 (MH), EF690383 (CF208), EF690384 (CF210), EU040204 (420A), EU204913 (CF195-2), GU166289 (CS1), GU166290 (IS2a), DQ443732 (SP), KJ848784 (NiagRos4), KJ848785 (NiagRos5)	Pereira (2008); Radaelli et al. (2009); Basso et al. (2010a)
	Replicase (parcial)	828-831	AY244640 (Sout. Brazilian), HM059036 (CS2a), HM059037 (IS1), AY340585 (CS2b), HM358051 (IS2b)	Espinha et al. (2003); Fajardo et al. (2004a); Basso et al. (2010a)
		339	HM059038 (CS2b), HM358051 (IS2b)	Basso et al. (2010a)
		628	HM130524 (IS3)	Basso et al. (2010a)
GFLV	Proteína capsidial	1515	EU258680 (RUP), EU258681 (IAC), EU038294 (RS)	Radaelli et al. (2009)
	Proteína capsidial (parcial)	321	AF418579 (RS)	Fajardo et al. (2000)
GFkV	Proteína capsidial	693	JN022610 (BF)	Fajardo et al. (2012)
GRVFV	Proteína capsidial (parcial)	474	KC815703 (MER), KC815704 (SEM)	Catarino et al. (2013b)
TFDaV (nome proposto para novo vírus)	Genoma completo	3442	KJ955449 (MFB15S1)	Basso et al. (2013)
CEVd	Genoma completo	369-371	DQ444473 (CSC07), DQ444474 (NiagD11), DQ471994 (CSC09), DQ471995 (CSC10), DQ471996 (CSC11)	Eiras et al. (2006b)
HSVd	Genoma completo	297	DQ444475 (HCSC10), DQ444476 (HNIagD08), DQ471997 (HCSC01), DQ471998 (HCSC08)	Eiras et al. (2006b)

GVA: Grapevine virus A; GVB: Grapevine virus B; GVD: Grapevine virus D; GLRaV: Grapevine leafroll-associated virus; GRSPaV: Grapevine stem pitting-associated virus; GFLV: Grapevine fanleaf virus; GFkV: Grapevine fleck virus; GRVFV: Grapevine rupestris vein feathering virus; TFDaV: Temperate fruit decay-associated virus (nome proposto para o novo vírus); **CEVd: Citrus exocortis viroid; HSVd: Hop stunt viroid.**

Martelli et al. (2012) propuseram o reagrupamento das espécies de GLRaV conforme apresentado na Tabela 1. No Brasil já foram relatados os vírus GLRaV-1 ao -6, entretanto GLRaV-2 e -3 apresentam maior incidência e importância econômica (Tabela 2; Figura 2). Catarino et al. (2013b, 2013c e 2013d) detectaram GLRaV-4, por meio de RT-PCR em tempo real, em 75% das amostras coletadas nos estados de Pernambuco, Bahia e Paraíba; realizaram a caracterização molecular parcial de isolados desse vírus e concluíram que, no Brasil, o GLRaV-4 também está associado à virose do Enrolamento da folha. Anteriormente, nesse gênero (*Ampelovirus*), apenas os vírus GLRaV-1, -3, -5 e -6 haviam sido constatados no Brasil (Tabela 2; Figura 2).

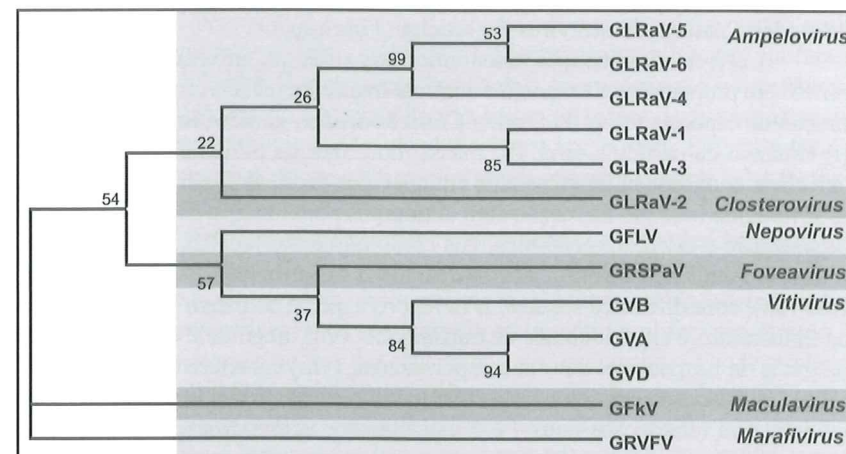


Figura 2. Árvore filogenética dos vírus de RNA, obtida com o software MEGA 5.05 (Tamura et al., 2011), através do método de máxima parcimônia com “bootstrap” de 10.000 réplicas, baseada nas sequências completas de nucleotídeos do gene da proteína capsidial de 13 espécies virais que infectam a videira no Brasil. A classificação taxonômica dos vírus está indicada à direita da árvore. Números de acesso das sequências no GenBank: *Grapevine virus A* (GVA, NC_003604), *Grapevine virus B* (GVB, NC_003602), *Grapevine virus D* (GVD, Y07764), *Grapevine leafroll-associated virus 1* (GLRaV-1, NC_016509), *Grapevine leafroll-associated virus 2* (GLRaV-2, NC_007448), *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3, NC_004667), *Grapevine leafroll-associated virus 4* (GLRaV-4, NC_016416), *Grapevine leafroll-associated virus 5* (GLRaV-5, NC_016081), *Grapevine leafroll-associated virus 6* (GLRaV-6, NC_016417), *Grapevine fanleaf virus* (GFLV, NC_003623), *Grapevine fleck virus* (GFkV, NC_003347), *Grapevine rupestris stem-pitting associated virus* (GRSPaV, NC_001948) e *Grapevine rupestris vein feathering virus* (GRVFV, Y706994).

Esses vírus pertencem aos gêneros *Closterovirus* e *Ampelovirus*, ambos da família *Closteroviridae*, e apresentam partículas alongadas e flexuosas com aprox. 1400 a 2200 nm de comprimento e 10 a 13 nm de espessura. Possuem genoma constituído por uma única molécula de RNA linear de fita simples, senso positivo, com, cerca de, 13 a 18,6 kb e organizado em 6 a 12 ORFs (Meng et al., 2005). São transmitidos de maneira semipersistente por diversas espécies de cochonilhas (Tabela 3) e através de enxertia, mas não são transmissíveis por inoculação mecânica. O GLRaV-2 (*Closterovirus*) apresenta diferentes características biológicas, pois não tem inseto vetor conhecido e pode ser transmitido mecanicamente para hospedeiras herbáceas do gênero *Nicotiana* (Martelli, 2012; Tsai et al., 2010; Le Maguet et al., 2012). A única hospedeira natural desses vírus é a videira (*Vitis spp.*).

A correta classificação taxonômica dos vírus que infectam plantas pode refletir em proposições de manejo e controle mais efetivas. Os critérios para a definição de espécies virais na família *Closteroviridae*, gênero *Ampelovirus*, são: (i) tamanho da partícula viral; (ii) massa molecular da proteína capsidial (CP), calculada com base na sequência de aminoácidos deduzidos; (iii) relacionamento sorológico baseado na reação com anticorpos policlonais e monoclonais; (iv) organização e estrutura genômica, tais como número e localização relativa das ORFs; (v) sequência de aminoácidos deduzidos das principais ORFs (CP, CPM e HSP70h), com diferença superior a 10%; (vi) espécie de inseto vetor envolvida na transmissão e especificidade da transmissão; (vii) magnitude e especificidade da gama de hospedeiras natural e experimental; (viii) características citopatológicas, tais como aspectos dos corpos de inclusão e origem das vesículas citoplasmáticas. Em relação aos itens 4 e 5 mencionados acima, Martelli et al. (2012) propuseram as seguintes alterações, respectivamente: genomas de 15 a 18 kb, organizados em 9 a 12 ORFs, seriam classificados no gênero *Ampelovirus*, subgrupo I; genomas de 13 a 14 kb, organizados em 6 ORFs, seriam classificados no mesmo gênero, porém no subgrupo II e elevação para 25% no “ponto de corte” (“threshold”) para a definição de espécies (Tabela 1). Assim, na nova configuração taxonômica, proposta para a família *Closteroviridae*, a espécie GLRaV-4 ganharia destaque, pois cinco outras atuais espécies (GLRaV-5, -6, -9, -Pr e -Car) passariam a ser consideradas estirpes do GLRaV-4 (Martelli et al., 2012). Esta proximidade filogenética pode ser comprovada na Figura 2, onde pode ser observado o relacionamento genético entre as espécies virais já detectadas no Brasil.

Lenho rugoso da videira

O Lenho rugoso da videira é uma doença que ocorre na maioria dos países vitícolas, resultante da infecção por vírus restritos aos tecidos floemáticos (Martelli et al., 2007). A gama de sintomas desta virose pode variar bastante

dependendo das espécies virais e dos genótipos do enxerto e porta-enxerto envolvidos. O Lenho rugoso é uma virose complexa, apresenta expressiva importância econômica e é constituída por quatro viroses: Intumescimento dos ramos (“Corky bark”), Caneluras do tronco de Rupestris (“Rupestris stem pitting”), Acanaladura do lenho de Kober (“Kober stem grooving”) e Acanaladura do lenho de LN33 (“LN33 stem grooving”), sendo que as três últimas viroses são genericamente conhecidas por “Caneluras do tronco da videira”. No Brasil, embora ainda sejam escassos os levantamentos em algumas áreas vitícolas, a ocorrência de sintomas destas viroses tem sido verificada em várias regiões, havendo indicativos de que a incidência das Caneluras do tronco seja bem maior do que o Intumescimento dos ramos (Lima & Fajardo, 2012).

O Intumescimento dos ramos é responsável por uma deformação intumescente nos ramos da videira, podendo ser observado em cultivares viníferas, americanas ou híbridas. Os sintomas induzem o engrossamento na região da enxertia, avermelhamento de toda a lâmina foliar, inclusive das nervuras, e até um suave enrolamento dos bordos das folhas para baixo, com maior evidência no outono. No entrenó da base do ramo do ano ocorrem fissuras e há formação de tecido corticento na região de sua inserção (Figura 1C). Nas cultivares americanas, os sintomas são facilmente observados e se caracterizam pelo intumescimento dos entrenós dos ramos do ano, com fendilhamento longitudinal do tecido. Ao se fazer um corte transversal na região intumescida, o tecido apresenta um aspecto corticento, de cor marrom-escura, que prolifera em direção à medula. Estes sintomas podem ser observados com menor intensidade também no pecíolo das folhas próximas às regiões mais afetadas dos ramos. Com o amadurecimento do ramo, o tecido da região intumescida morre e fica com um aspecto de cortiça. Os ramos tendem a se curvar para baixo, sendo facilmente destacados da planta, principalmente quando há formação de tecido corticento na região de sua inserção (Figura 1C). As plantas muito afetadas definham gradativamente, além da brotação ser lenta, atrasada e fraca (Nickel et al., 2002).

O agente causal do Intumescimento dos ramos da videira é o *Grapevine virus B* (GVB), pertencente ao gênero *Vitivirus*, família *Betaflexiviridae*. As partículas são alongadas e flexuosas com, cerca de, 800 nm de comprimento e 12 nm de diâmetro, possui genoma monossegmentado de RNA linear de fita simples, senso positivo, poliadenilado, com cerca de 7,6 kb e organizado em 5 ORFs (King et al., 2012).

Assim como na virose do enrolamento da folha, o agente causal do intumescimento dos ramos é transmitido por diferentes espécies de cochonilhas (Tabela 3) (Lima & Fajardo, 2012). Com certa dificuldade, o GVB pode ser transmitido, pela via mecânica, para *Nicotiana occidentalis* (Nickel et al., 2002).

Os sintomas das caneluras do tronco da videira são observados ao se examinar o lenho das plantas, abaixo da casca. De forma progressiva na planta,

anualmente, e com maior intensidade em cultivares viníferas, verifica-se, sobre a superfície do lenho, a formação de reentrâncias longitudinais (caneluras), que correspondem ao local onde a casca penetra no lenho do tronco prejudicando a formação dos vasos condutores de seiva (Figura 1B e D). Em algumas combinações porta-enxerto/enxerto os sintomas podem se limitar a um dos componentes, quando o outro é tolerante. Alguns porta-enxertos (por ex. Paulsen 1103) mostram sintomas nítidos da doença. Também pode ocorrer, na região da enxertia, uma diferença de diâmetro entre o enxerto e o porta-enxerto. As folhas das cultivares viníferas tintas podem apresentar avermelhamento em plantas muito afetadas em função da formação deficiente dos vasos condutores e mudas de videira com a virose das caneluras exibem menor vigor e desenvolvimento quando comparadas com mudas formadas a partir de material sadio (Lima & Fajardo, 2012) (Figura 1H).

As espécies virais *Grapevine rupestris stem pitting-associated virus* (GRSPaV) e *Grapevine virus A* (GVA), pertencentes à família *Betaflexiviridae* e aos gêneros *Foveavirus* e *Vitivirus*, respectivamente, são os agentes causais das viroses Caneluras do tronco de Rupestris e Acanaladura do lenho de Kober, respectivamente. O agente causal da Acanaladura do lenho de LN33 ainda é desconhecido (Fajardo et al., 2004a; Kuhn et al., 2002).

Os vírus GRSPaV e GVA apresentam partículas alongadas e flexuosas com, cerca de, 800 nm e 700 a 800 nm de comprimento, respectivamente, e diâmetro de 12 nm. O genoma viral é monossegmentado com, aproximadamente, 8,7 kb (GRSPaV) e 7,4 kb (GVA), formado por um RNA linear de fita simples, senso positivo, poliadenilado e organizado em 5 ORFs (King et al., 2012).

O GRSPaV não é transmitido mecanicamente via inoculação com extrato foliar e não possui inseto vetor conhecido. O GVA pode ser transmitido por diversas espécies de cochonilhas e mecanicamente para algumas hospedeiras herbáceas a exemplo de *Chenopodium quinoa* e *Nicotiana spp.* (King et al., 2012) (Tabela 3).

Outro vírus pertencente à família *Betaflexiviridae* e ao gênero *Vitivirus*, o *Grapevine virus D* (GVD), já foi detectado infectando videiras no Brasil (Tabela 2; Figura 2). Apesar de o GVD ter sido detectado em videiras exibindo tecidos com aspecto de cortiça, o seu papel como constituinte do complexo do Lenho rugoso da videira ainda é pouco compreendido, bem como, sua importância econômica e os aspectos epidemiológicos ligados a este vírus (Fajardo et al., 2012). Foi verificada severa redução no crescimento do porta-enxerto cv. Freedom, porém não houve a expressão de sintomas no cilindro lenhoso (Rosa et al., 2011). Outros vitivírus (GVE e GVF) também foram recentemente identificados infectando videiras (Al Rwahnih et al., 2012b) (Tabela 1).

Degenerescência

A Degenerescência da videira, também conhecida como Mosaico do Traviú, ocorre nas grandes regiões vitícolas mundiais. Nos Estados Unidos e Europa, onde é referida como “grapevine fanleaf degeneration”, é tida como uma das viroses mais importantes economicamente pelos prejuízos que pode causar à viticultura. Nas regiões vitícolas brasileiras a incidência desta virose é baixa, comparativamente às viroses do enrolamento da folha e do lenho rugoso, resultando em restrita importância econômica no país (Lima & Fajardo, 2012).

Esta doença induz alterações em folhas e ramos da videira, podendo ser assintomática em cultivares americanas ou híbridas. Dependendo da cultivar, observam-se sintomas fracos no início do ciclo vegetativo, os quais podem desaparecer gradativamente em folhas mais velhas. Os sintomas foliares mais característicos são deformações com distribuição anormal das nervuras, ângulo do pecíolo muito aberto ou fechado, assimetria foliar com as bordas pontiagudas, redução na área foliar, presença de manchas translúcidas normalmente no início do ciclo vegetativo, folhas com mosaico amarelo ou clorose nas nervuras (Figura 1A). Nos ramos verifica-se encurtamento dos entrenós, bifurcação, achatamentos e nós duplos, proliferação de gemas e brotação fraca e atrasada.

O *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) pertence à família *Secoviridae*, subfamília *Comovirinae* e ao gênero *Nepovirus* (Tabela 1). Possui partículas isométricas com, aproximadamente, 28 nm de diâmetro, genoma bissegmentado constituído pelos RNA1 e RNA2, lineares de fita simples, senso positivo, poliadenilados, com, aproximadamente, 7,3 e 3,7 kb, respectivamente. Os segmentos genômicos são traduzidos em uma única poliproteína por RNA, as quais são processadas pela protease viral resultando em 5 (RNA1) e 3 (RNA2) proteínas funcionais (King et al., 2012).

O agente causal da Degenerescência da videira pode ser facilmente transmitido mecanicamente para algumas hospedeiras herbáceas, porém a sintomatologia, resultante da infecção, pode ser latente. Nos vinhedos, GFLV é disseminado a curta distância por nematoides vetores como *Xiphinema index* e *X. italiae* (Tabela 3), resultando em grupos concentrados de plantas infectadas (reboleiras), típicas da associação com vetores de baixa mobilidade.

A importância econômica desta virose nos Estados Unidos e Europa se deve provavelmente à estreita associação entre o vírus e os nematoides vetores presentes nos vinhedos. Sabe-se que os restos de raízes e plantas, que permanecem no solo após a eliminação de videiras infectadas, podem ser viáveis por algum tempo e servem de fonte de inóculo em áreas infestadas por nematoides (Andret-Link et al., 2004).

Há pelo menos 16 espécies de vírus da família *Secoviridae* que infectam videiras (Tabela 1), entretanto, no Brasil, apenas o *Grapevine fanleaf vi-*

<i>Neoputvinaria innumerabilis</i>	x	Fortusini et al. (1997)
<i>Parthenolecanium corni</i>	x	Hommay et al. 2008
<i>Putvinaria vitis</i>	x	Belli et al. (1994)
<i>Putvinaria innumerabilis</i>	x	Fortusini et al. (1997)
<i>Ceroplastes rusci</i>	x	Mahfoudhi et al. (2009)
<i>Coccus longulus</i>	x	Kruger & Douglas-Smit (2013)
<i>Coccus hesperidum</i>	x	Kruger & Douglas-Smit (2013)
<i>Parasaissetia nigra</i>	x	Kruger & Douglas-Smit (2013)
<i>Saissetia</i> sp.	x	Kruger & Douglas-Smit (2013)
<i>Nematoídes</i>		
<i>Xiphinema index</i>	x	Sitanath & Raski (1968)
<i>Xiphinema italiae</i>	x	Cohn et al. (1970)
Vetor desconhecido	x	

GLRaV: *Grapevine leafroll-associated virus*; GVA: *Grapevine virus A*; GVB: *Grapevine virus B*; GVD: *Grapevine virus D*; GRSPaV: *Grapevine rupestris stem pitting-associated virus*; GFLV: *Grapevine fanleaf virus*; GFKV: *Grapevine fleck virus*; GRVfV: *Grapevine rupestris vein feathering virus*.

Doenças de etiologia subviral em vinhedos

Em videira foram relatadas infecções por dois grupos de agentes subvirais: viroides e RNAs satélites (Tabela 1). As doenças causadas por viroides apresentam sintomatologia e importância variáveis, dependendo das espécies do patógeno e da hospedeira envolvidas. Na cultura da videira, a incidência de doenças causadas por viroides é bem menor se comparada com as viroses.

Os viroides são constituídos de pequenos genomas de RNA (246 a 401 nucleotídeos), circulares de fita simples com forte estrutura secundária e que não codificam proteínas. Apresentam replicação autônoma e dependem da interação com fatores da hospedeira para completar seu ciclo infeccioso (Flores et al., 2012; Navarro et al., 2012). Com base em suas características biológicas e moleculares, atualmente são classificados em duas famílias, *Pospiviroidae* e *Avsunviroidae*. Membros dos gêneros *Apscaviroid*, *Hostuviroid* e *Pospiviroid* já foram relatados em videira (Owens et al., 2012) (Tabela 1).

A ocorrência de viroides em vinhedos no Brasil pode ser atribuída principalmente ao intercâmbio de material de propagação vegetativa entre países. Os principais métodos de manejo, visando ao controle destes patógenos, são semelhantes aos recomendados para as viroses (Eiras, 2012; Eiras et al., 2006a).

O primeiro viroide relatado infectando videira foi o *Hop stunt viroid* (HSVd) no Japão (Shikata et al., 1984). Apesar dos sintomas de nanismo e amarelecimento induzidos pelo HSVd em plantas hospedeiras herbáceas, nenhum sintoma tem sido observado em videiras infectadas com esse viroide, assim como não foram observados sintomas de *Citrus exocortis viroid* (CEVd) em videiras (Rezaian et al., 1988; Semancik & Szychowski, 1992). Apesar de haver relatos mencionando importância econômica, é comum a ocorrência de infecção assintomática em determinadas cultivares e condições, fazendo com que o patógeno passe despercebido e/ou seja considerado de pouca relevância. Contudo, pode haver sinergismo entre viroides ou mesmo com vírus, como é o caso do GFLV em coinfeção com o *Grapevine yellow speckle viroid* 1 e 2, que resulta em sintomas mais severos de faixas das nervuras nas folhas (“vein-banding”) (Szychowski et al., 1995).

No Brasil já foram relatados o HSVd e CEVd infectando videiras (Fonseca & Kuhn, 1994). Estes dois viroides foram caracterizados por Eiras et al. (2006b), tendo-se verificado que videiras das cvs. Cabernet Sauvignon, assintomática, e Niágara Rosada, com sintoma de pontuações amareladas nas folhas, estavam duplamente infectadas (Tabela 2).

Na cultura da videira também já foram relatados três RNAs satélites (Tabela 1). O *Grapevine Bulgarian latent virus satRNA* (satGBLV) e o *Grapevine fanleaf virus satRNA* (satGFLV) foram relatados associados aos vírus

GBLV e GFLV, respectivamente. Um terceiro RNA satélite foi descrito, porém ainda não foi caracterizado e nomeado (Al Rwahnih et al., 2013b).

O satGBLV e o satGFLV pertencem ao Subgrupo I, que compreende sa- rRNAs com genoma de RNA fita simples de, cerca de, 0,7 a 1,5 kb e que codificam pelo menos uma proteína não estrutural (Hu et al., 2009; Al Rwahnih et al., 2013b). Estes agentes não apresentam significativa importância econômica e, no Brasil, ainda não foram relatados.

Doenças da videira causadas por vírus de DNA e por espécies virais ainda não caracterizadas

O aperfeiçoamento dos métodos de sequenciamento de DNA através das tecnologias Illumina (Solexa) ou 454 (Roche) tem possibilitado grandes avanços na prospecção de novos agentes virais. Sua principal vantagem é permitir a identificação de todo o viroma (genomas virais) presente em uma determinada hospedeira, incluindo populações virais altamente divergentes, as quais seriam difíceis de serem detectadas com base nas técnicas moleculares comumente utilizadas (Radford et al., 2012).

Até 2010 eram conhecidas em videira apenas infecções causadas por vírus com genoma de RNA, embora algumas viroses ainda tivessem os agentes causais não totalmente caracterizados. Atualmente são conhecidas quatro espécies virais que infectam videira com genoma de DNA, além de um possível novo vírus, identificado recentemente no Brasil (Tabela 1 e 2; Figura 3).

Krenz et al. (2012), em Nova York (EUA), identificaram um novo vírus de DNA de fita simples circular, nomeado Grapevine cabernet franc-associated virus (GCFaV), uma vez que foi detectado pela primeira vez em videira cv. Cabernet Franc. Em seguida, na Califórnia (EUA), um vírus muito semelhante ao primeiro, foi detectado, porém nomeado Grapevine red blotch-associated virus (GRBaV) (Tabela 1) e capaz de induzir sintoma de avermelhamento foliar. Esta doença foi nomeada Mancha vermelha da videira (“Grapevine red blotch disease”) e foi, inicialmente, descrita em 2008, na Califórnia, em cultivares de uvas viníferas tintas (Al Rwahnih et al., 2013a). Mais recentemente, Poojari et al. (2013), no estado de Washington (EUA), identificaram outro vírus de DNA, que foi denominado Grapevine redleaf-associated virus (GRLaV). Este vírus induzia, nas cultivares Merlot e Cabernet Franc, avermelhamento foliar na forma de manchas irregulares, as quais se acentuavam no final do ciclo vegetativo da planta. GCFaV, GRLaV e GRBaV pertencem à família *Geminiviridae*, porém ainda não foram classificados em nível de gênero (Tabela 1). Apresentam genoma de, aproximadamente, 3,2 kb, organizados em 6 ORFs, e a identidade de sequências entre os três vírus é de, aproximadamente, 99%, o que indica que poderiam ser considerados isolados de uma mesma espécie. O vírus GRLaV é

transmitido por cigarrinhas *Erythroneura zizac* Walsh, e portanto, o GCFaV e GRBaV também poderiam ser transmitidos por esses insetos (Krenz et al., 2012; Poojari et al., 2013; Al Rwahnih et al., 2013a). Estes três vírus de DNA são semelhantes quando se analisa seus genomas, além de induzirem sintomas similares. Desta forma foi sugerido considerá-los como isolados da espécie Grapevine redleaf-associated virus, agente causal da doença do avermelhamento foliar da videira (“Grapevine redleaf”) (Poojari et al., 2013).

Outra virose foi identificada, no estado de Missouri (EUA), apresentando sintomas severos de clareamento das nervuras na cultivar Chardonnay, tendo como agente causal o *Grapevine vein clearing virus* (GVCV), que pertence à família *Caulimoviridae*, gênero *Badnavirus*, e apresenta genoma de 7,75 kb, organizado em 3 ORFs (Zhang et al., 2011) (Tabela 1).

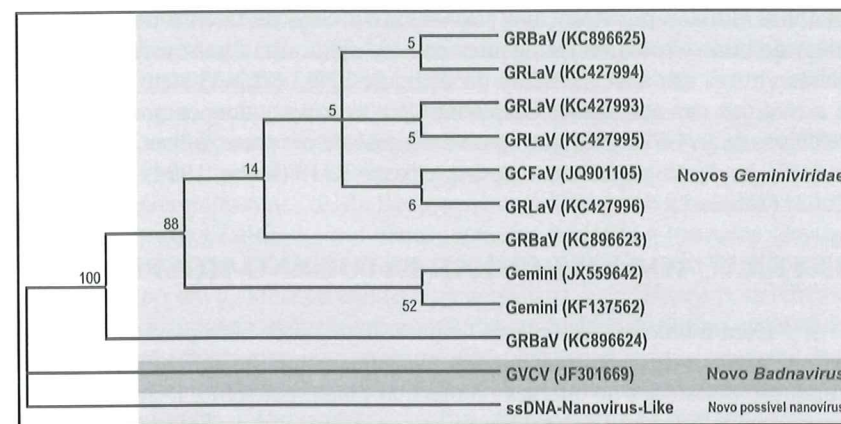


Figura 3. Árvore filogenética dos vírus de DNA relatados infectando a videira, obtida com o software MEGA 5.05 (Tamura et al., 2011), através do método de máxima parcimônia usando “bootstrap” de 10.000 réplicas, baseada nas sequências completas de nucleotídeos do gene da proteína capsidial, com as seguintes espécies virais (número de acesso no GenBank): Grapevine geminivirus (JX559642 e KF137562), *Grapevine cabernet franc-associated virus*, GCFaV (NC_017918 = JQ901105), Grapevine red blotch-associated virus, GRBaV (NC_022002 = KC896623, KC896624 e KC896625), Grapevine redleaf-associated virus, GRLaV (KC427993, KC427994, KC427995 e KC427996), *Grapevine vein clearing virus*, GVCV (NC_015784 = JF301669) e um novo vírus de ssDNA circular, isolado de videira (nome proposto **Temperate fruit decay-associated virus**, TFDaV, acesso no GenBank KJ955449) (Basso et al., 2013).

No Brasil, sintomas, típicos de infecção viral, foram observados na cultivar Cannonao (*V. vinifera*), em material comercialmente introduzido no País, e foram estudados para elucidar o agente causal (Basso et al., 2013). Um possível novo vírus de DNA foi associado a esta doença. O genoma deste vírus é composto por uma molécula de DNA circular de fita simples, de 3,44 kb, organizado em 8 potenciais ORFs, com um nanonucleotídeo (TAGTATTAC) idêntico ao presente no genoma dos *Nanovirus* (Basso et al., 2013) (Tabela 2; Figura 3). Comparações da sequência de aminoácidos deduzidos das potenciais ORFs deste vírus indicaram maior identidade (aprox. 35%) com nanovírus, alfásatélites (gene Rep) e mastrevírus (genes CP e MPs) (Basso et al., 2013). Além disso, esse vírus não apresentou proximidade filogenética com outros vírus de DNA, já relatados em videira (Figura 3).

No total, já foram relatados infectando videiras, no Brasil, 13 vírus com genoma formado por RNA, um possível novo vírus de DNA e dois viroides, além de duas viroses, cujos agentes causais ainda não foram caracterizados. Essas viroses são a Acanaladura do lenho de LN33 (“LN33 stem grooving”) e a Necrose das nervuras (“Grapevine vein necrosis”, doença possivelmente relacionada ao GRSPaV), que causa a necrose de nervuras, folhas cloróticas e redução no desenvolvimento do porta-enxerto R110 (Kuhn, 1994; Kuhn et al., 2002) (Tabela 1).

INTERAÇÃO MOLECULAR PATÓGENO-HOSPEDEIRO

Com a videira, uma planta lenhosa, de ciclo de vida perene e infectada por vários vírus não transmitidos mecanicamente, há dificuldades para a condução de estudos de interação molecular planta-patógeno. Diante disto, há poucos trabalhos na literatura científica que demonstrem a interferência viral nos mecanismos de defesa da planta ou em outras vias regulatórias da videira e que, consequentemente, facilitem a infecção viral. Há alguns trabalhos que demonstram alterações na expressão de genes (Espinoza et al., 2007) ou na síntese de proteínas, por exemplo, promovendo alterações nos plasmodesmas, o que facilita o movimento viral (Haviv et al., 2012b; Kim et al., 2012), na expressão de sintomas (Haviv et al., 2012a), nos mecanismos de defesa baseados em silenciamento de RNA através de supressores de silenciamento (Gouveia et al., 2012), e nos mecanismos de resposta ao estresse salino e hídrico (Gambino et al., 2012). Estudos sobre a diversidade e quantidade de miRNAs, vsRNAs e vd-sRNAs, provenientes da interação da planta com vírus ou viroides, demonstraram alterações significativas na ativação ou modulação dos mecanismos de defesa da planta ou na regulação transcricional de genes da videira (Singh et al., 2012; Alabi et al., 2012).

No caso de viroides, o sequenciamento em larga escala (Solexa-Illumina) de pequenos RNAs derivados de videiras infectadas com HSVD e GYSVD-1 (vd-sRNA) demonstrou predominância de vd-sRNA derivados de algumas regiões específicas do genoma desses viroides (“hotspots”), além da interação de domínios específicos da molécula viroidal com diferentes enzimas do tipo dicer (DCLs). Navarro et al. (2009) sugerem também a participação de enzimas do hospedeiro relacionadas com a rota de metilação de DNA via RNA, apontando um cenário complexo e uma possível interferência dos vd-sRNA na expressão de genes da videira.

A construção de clones infecciosos de vírus pode auxiliar no conhecimento das suas propriedades biológicas e fitopatológicas (Meng et al., 2013). Alguns trabalhos recentes relatam o mapeamento de domínios ou sinais de localização em proteínas virais responsáveis por funções importantes na patogênese ou na epidemiologia, por exemplo, domínios responsáveis pela transmissão viral pelo inseto ou nematoide vetor, translocação da proteína viral para o núcleo da célula hospedeira, entre outras funções (Schellenberger et al., 2011). Também foram obtidas videiras transgênicas apresentando características diferenciadas de resistência a vírus pela inserção de sequências virais invertidas no genoma da videira, resultando na ativação do mecanismo de silenciamento gênico pós-transcricional (Brumin et al., 2009; Gambino et al., 2010). Recentemente foi desenvolvido um vetor viral baseado no vírus GLRaV-2, com várias mutações pontuais e inserções gênicas visando à introdução de características desejáveis na videira sem modificações hereditárias no seu genoma ou efeitos fitopatogênicos. Este sistema possibilitaria a expressão de proteínas recombinantes restritas aos tecidos do floema, auxiliando na translocação de açúcares ou fotoassimilados. Outra característica adicional deste vetor é possibilitar a regulação da expressão de genes endógenos pela atividade de RNA interferente contra outros patógenos, inclusive vírus (Kurth et al., 2012).

Na área da metabolômica, apesar dos recentes avanços envolvendo estudos de doenças virais e seus hospedeiros, ainda não foi possível avançar substancialmente na compreensão destas interações a nível metabólico na cultura da videira. Resultados envolvendo outros vírus demonstram alterações significativas nos mecanismos de defesa ou de resposta ao estresse e no perfil e na síntese de metabólitos, em geral (López-Gresa et al., 2012).

MÉTODOS DE DIAGNOSE

As ferramentas, visando ao diagnóstico dos vírus que infectam a videira, têm evoluído ao longo dos anos, tendo começado pela indexação biológica, em plantas indicadoras lenhosas ou herbáceas, passando pelos testes sorológicos e moleculares, desde a RT-PCR “convencional” até chegar à RT-PCR em tempo real.

Algumas viroses da videira induzem sintomas específicos em cultivares suscetíveis e a avaliação visual desses sintomas pode auxiliar no diagnóstico. Contudo, infecções assintomáticas podem ocorrer em algumas cultivares. Além disso, outros fatores podem induzir sintomas semelhantes a viroses, comprometendo a confiabilidade do diagnóstico. Desta forma, a avaliação visual, por si só, não é suficiente para uma diagnose definitiva. Em resumo, o diagnóstico destes patógenos pode ser realizado, fundamentalmente, por meio de testes biológicos, sorológicos ou moleculares, sendo que cada qual apresenta vantagens e importantes limitações.

A baixa concentração viral, a ausência de transmissão mecânica, o longo período necessário para o aparecimento de sintomas perceptíveis da doença, os sintomas latentes e a existência de cultivares que não expressam sintomas quando infectadas, são alguns fatores limitantes para a aplicação dos testes biológicos. Pode-se, entretanto, utilizar plantas herbáceas indicadoras, caso o vírus em questão seja transmitido mecanicamente, ou videiras indicadoras para a indexação biológica. Nesse último caso, gemas de plantas cujo status fitossanitário é desconhecido são enxertadas em videiras indicadoras (Radaelli et al., 2006). Uma série de videiras indicadoras de viroses já estão definidas e podem ser utilizadas em testes biológicos de indexação ou para complementar o diagnóstico baseado em outros tipos de testes.

Os métodos sorológicos baseiam-se em ensaios imunoenzimáticos, utilizando anticorpos monoclonais, policlonais ou polivalentes. Especialmente o ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) direto e o indireto são os mais difundidos para o diagnóstico de vírus de plantas. Os anticorpos policlonais, produzidos a partir da partícula viral purificada ou da proteína capsidial viral expressada em *Escherichia coli*, são os mais utilizados e recomendados por permitirem maior amplitude na detecção de isolados ou estirpes de vírus distantemente relacionados, reduzindo assim as chances de resultados falso-negativos (Fajardo et al., 2007a). A produção de anticorpos a partir de isolados locais resulta em maior confiabilidade nos testes sorológicos. Os métodos sorológicos para a detecção dos vírus da videira apresentam como principal limitação a sensibilidade, devido à baixa concentração viral normalmente presente em tecidos infectados. Essa limitação pode ser superada por meio da definição correta do estádio vegetativo da planta a ser avaliada. Os testes sorológicos para a detecção das viroses da videira são normalmente realizados utilizando-se tecidos de ramos maduros ou pecíolos e nervuras foliares de plantas em final do ciclo vegetativo, principalmente para a detecção das viroses do enrolamento da folha e do complexo do lenho rugoso da videira. Anticorpos foram produzidos a partir da expressão em *E. coli* do gene da proteína capsidial dos vírus GLRaV-2 e -3, GVB e GRSPaV (Fajardo et al., 2007a, Radaelli et al., 2008, Basso et al., 2010b) e apresentaram bons resultados em testes diagnósticos.

Com o emprego da microscopia eletrônica de transmissão tem sido possível observar partículas virais decoradas com anticorpos específicos em tecidos de videiras infectadas, entretanto, essa não é considerada uma técnica rotineira de diagnóstico (Petrovic et al., 2003; Terlizzi et al., 2010).

Nos últimos anos têm ocorrido avanços significativos no diagnóstico molecular de vírus em plantas, destacando-se os testes baseados em hibridização molecular com sondas marcadas com isótopos radioativos ou com substâncias não radioativas (Abdullahi et al., 2011; Zhang et al., 2012; Thompson et al., 2012) e os métodos baseados em RT-PCR e suas variações, utilizando-se oligonucleotídeos específicos ou degenerados (Digiario et al., 2007). A associação da RT-PCR com a imunocaptura viral, utilizando-se anticorpos (IC-RT-PCR), aumenta a sensibilidade e a especificidade da RT-PCR. Outro método que tem sido utilizado com sucesso é a RT-PCR em tempo real visando à detecção de apenas uma espécie viral ou vários vírus (multiplex) ou, ainda, realizando a análise da curva de dissociação de alta resolução (“high resolution melting”, HRM). Tal técnica permite a quantificação viral, a diferenciação de variantes virais e apresenta elevada sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade (Al Rwahnih et al., 2012a; Bester et al., 2012).

A PCR em tempo real é muito sensível e pode ser utilizada para superar as limitações apresentadas pelos ensaios de indexação biológica, ELISA e/ou PCR convencional (Osman et al., 2008). Esta técnica, derivada da PCR, vem ganhando espaço no diagnóstico viral, por apresentar a capacidade de gerar resultados quantitativos, permitir o acompanhamento da reação ao longo do seu desenvolvimento e por apresentar os resultados de forma mais precisa e rápida, em relação à PCR, que apresenta somente resultados qualitativos (Saponari et al., 2008). Esta técnica permite a quantificação dos fragmentos alvo amplificados de maneira precisa e com maior reprodutibilidade, pois determina valores durante a fase exponencial da reação. Uma das vantagens desse sistema é permitir a utilização de uma sonda na reação, além dos oligonucleotídeos. Esta sonda agrega especificidade à reação, pois se liga apenas a amplicons específicos e ainda possibilita a utilização de diferentes tipos de fluoróforos, excitados pela luz em diferentes comprimentos de onda. Desta forma se processa a marcação de diferentes sondas, o que permite a detecção de mais de uma sequência alvo em uma única reação, caracterizando uma reação multiplex (James et al., 2006). A utilização da PCR em tempo real para a detecção de vírus que infectam a videira foi relatada por diferentes autores (Osman & Rowhani, 2006 e 2008; Osman et al., 2007, 2008 e 2013; Stewart et al., 2007; Dubiela et al., 2013; López-Fabuel et al., 2013).

Com os recentes relatos de ocorrência de vírus de DNA circular em videiras (Tabela 1), a técnica de amplificação por círculo rolante (“Rolling Circle Amplification”, RCA), que visa à amplificação de um DNA viral circular, seguida por clonagem e sequenciamento do genoma completo, tem sido utilizada

com sucesso (Krenz et al., 2012). Uma nova técnica denominada “circomics”, uma combinação de RCA, polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição (RFLP) e pirosequenciamento, poderá ser utilizada para auxiliar a detecção e a caracterização de vírus de DNA circular presentes em videiras (Wyant et al., 2012). Quando o objetivo é a prospecção de novos agentes virais, recomenda-se a observação de sintomas atípicos e amostragens direcionadas, podendo associar-se a RCA com o pirosequenciamento.

A eficiência e a sensibilidade dos métodos de diagnose têm importância fundamental em programas que têm por objetivo produzir, manter e propagar material vegetativo livre de vírus. Entretanto, os métodos diagnósticos apresentam limitações e particularidades, tais como a escolha adequada do tecido vegetal infectado a ser utilizado nos testes de detecção. O estágio de desenvolvimento da planta e os tecidos nos quais o vírus atinge maior concentração devem ser observados para a condução de determinados testes diagnósticos (Beuve et al., 2007). Também há relatos de variação nas reações de plantas indicadoras em função das condições agrônômicas e ambientais em que são mantidas. Para os testes moleculares recomenda-se a utilização de protocolos específicos para a detecção de vírus em videira, a exemplo do isolamento de ácidos nucleicos totais utilizando-se tampões de extração específicos, kits comerciais de extração de RNA ou protocolos para a extração de dsRNA viral, pois a videira apresenta altos níveis de polifenóis e polissacarídeos em seus tecidos, o que dificulta a obtenção de RNA ou DNA em quantidade e qualidade suficientes para os testes diagnósticos (Basso et al., 2010a). Visando maior confiabilidade no diagnóstico, recomenda-se a associação de diversos testes de forma a possibilitar a complementaridade entre eles, considerando-se eventuais limitações que algum teste possa apresentar.

ESTRATÉGIAS DE MANEJO

A sanidade de todo tipo de material utilizado na propagação vegetativa da videira, a exemplo de mudas, enxertos, estacas e gemas, tem sido uma das principais preocupações dos viticultores. O material infectado promove a disseminação de vírus e propicia o acúmulo ao longo do tempo destes patógenos nas videiras, levando ao surgimento de doenças complexas (Oliver & Fuchs, 2011). O uso de porta-enxertos sem garantia de sanidade adquire maior relevância quando a virose é latente, fato relativamente comum nas cultivares de porta-enxerto, o que pode facilitar, ainda mais, a disseminação de vírus. As possibilidades de controle são comuns a todas as viroses mencionadas, destacando-se, no campo, o manejo preventivo, através da seleção sanitária, ao se promover a eliminação de fontes de inóculo e realizar o monitoramento e o controle de insetos ou nematoides vetores (Golino, 1993). É impossível eli-

minar o vírus, de plantas infectadas no campo, por métodos tradicionalmente utilizados para outros tipos de patógenos.

Diversos métodos têm sido utilizados para a limpeza clonal de videiras, porém nenhum apresenta completa eficiência no processo de obtenção de plantas sadias a partir de plantas infectadas. Resultados satisfatórios têm sido obtidos na eliminação de alguns vírus e viroides utilizando-se as técnicas de termoterapia *in vivo* ou *in vitro* (Krizan et al., 2009; Panattoni & Triolo, 2010). Por meio da quimioterapia *in vitro*, utilizando diferentes compostos químicos (ribavirina, tia-zofurin, 6-thioguanina, ácido micofenólico, dentre outros) também foram obtidos resultados satisfatórios (Luvisi et al., 2011; Skiada et al., 2013). Estes podem ser considerados os principais métodos para a limpeza clonal e apresentam maior eficiência na obtenção de plantas sadias quando associados com a cultura de tecidos, pelos procedimentos de cultura de ápices meristemáticos e microenxertia (Maliogka et al., 2009) ou embriogênese somática (Borroto-Fernandez et al., 2009; Gambino et al., 2011). Outras opções que apresentam menor eficiência na limpeza clonal, porém com alguns resultados positivos, são o emprego da eletroterapia e da crioterapia (Wang et al., 2008; Bayati et al., 2011). Algumas desvantagens destes métodos são a indução de alterações genéticas (por ex. modificações na metilação de DNA e na uniformidade genômica), induzidas pelo estresse causado pelo tratamento, além da eficiência destes métodos ser baixa, variando, ainda, segundo a espécie viral (Baranek et al., 2009).

A utilização de cultivares tolerantes a vírus ou resistentes a insetos ou nematoides vetores pode ser uma opção eficiente, porém ainda são poucas as cultivares disponíveis que apresentam estas características. Além disso, não há relatos de fontes de resistência a vírus em cultivares viníferas ou porta-enxertos (Laimer et al., 2009). Estudos recentes permitiram mapear um *locus* gênico (XIR1, *X. index* Resistance 1), responsável por conferir resistência ao nematoide *Xiphinema index*, localizado no cromossomo 19 de *Vitis arizonica* (Xu et al., 2008). Marcadores moleculares foram desenvolvidos com base neste *locus* com a finalidade de auxiliar no melhoramento genético visando à incorporação de resistência ao nematoide (Hwang et al., 2010).

O uso de cultivares de copa ou de porta-enxertos geneticamente modificadas, contendo segmentos virais em orientação senso/antisenso no genoma da planta, tem demonstrado resultados promissores por meio da resistência mediada por RNA interferente (Fuchs et al., 2007). Entretanto, tais resultados ainda se limitam a algumas cultivares experimentais (Laimer et al., 2009; Oliver & Fuchs, 2011). Este tipo de resistência ainda não é amplamente aceita pela opinião pública, devido: (i) à rejeição da transgenia propriamente dita; (ii) possibilidade de recombinação viral, sinergismo e heteroencapsidação; (iii) por não ser considerada duradoura devido a evolução genética dos patógenos virais; e (iv) por conferir apenas tolerância como consequência da redução no título viral (Laimer et al., 2009). Neste mesmo sentido, o uso da proteção

cruzada, empregando-se isolados virais menos virulentos, tem permitindo a obtenção de resultados promissores, reduzindo o acúmulo e a severidade do vírus secundário. Porém, vale ressaltar que essa metodologia pode apresentar limitações semelhantes aquelas citadas anteriormente (Komar et al., 2008).

Ao se constatar alta infestação de insetos ou nematoides vetores no vinhedo, pode-se utilizar agroquímicos para o controle. Para o reaproveitamento da área infestada, deve-se eliminar as plantas infectadas, com o máximo de raízes, além de realizar rotação de culturas com plantas não-hospedeiras dos vetores (Bell et al., 2009). É recomendável também ter cuidado na remoção de restos culturais ou de poda a fim de evitar a dispersão de insetos vetores. Em caso de infestação da área por nematoides, o uso de nematicida pode até ser econômico, porém se for ecologicamente não fundamentado, se justificaria o descarte da área para a implantação de novo vinhedo (Demangeat et al., 2010). Como regra geral, recomenda-se ao viticultor utilizar material propagativo certificado, com identidade varietal e garantia de sanidade, na implantação de um novo vinhedo (Lima & Fajardo, 2012).

O frequente intercâmbio de material propagativo entre países favorece a dispersão e a introdução de novas espécies virais em áreas até então consideradas isentas da virose. Com base na Instrução Normativa Nº41, de 1º de julho de 2008 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, os vírus e viroides *Arabid mosaic virus*, *Tobacco black ring virus* (= *Tomato black ring virus*), *Broad bean wilt virus*, *Tomato ringspot virus*, *Peach rosette mosaic virus*, *Strawberry latent ringspot virus*, *Artichoke Italian latent virus* e *Blueberry leaf mottle virus*, todos capazes de infectar a videira (Tabela 1), são considerados Pragas Quarentenárias Ausentes (A1) no Brasil.

PERSPECTIVAS DE NOVAS DESCOBERTAS DA VIROLOGIA APLICADA AO CULTIVO DA VIDEIRA

Embora progressos consideráveis tenham sido verificados nos últimos anos em relação à compreensão dos mecanismos de replicação, interação patógeno-hospedeiro, expressão gênica e disseminação dos vírus, estes ainda são insuficientes para se propor uma estratégia de manejo altamente eficiente e duradoura. Resultados promissores estão sendo obtidos na área da biotecnologia, possibilitando, num futuro próximo, a obtenção de cultivares comerciais tolerantes ou resistentes a vírus ou a seus vetores. O desafio da aceitação pública de videiras transgênicas poderá ser minimizado ou superado por meio de ensaios prolongados de campo, avaliações de impacto ambiental e de durabilidade da resistência. Porém, como a videira é uma planta perene, estes resultados dispõem mais tempo e energia para serem obtidos. Os avanços na área de proteômica, paralelamente com os estudos de interação proteína-proteína

(patógeno-hospedeiro), possibilitarão um maior entendimento da patogênese em nível molecular. Com o aperfeiçoamento das técnicas de sequenciamento e das novas técnicas moleculares de diagnóstico viral, será possível ampliar o conhecimento acerca do viroma da videira. O uso de múltiplas estratégias de controle poderá contribuir para a eficiência e a durabilidade da resistência. O sequenciamento do genoma completo de isolados virais locais, estudos de diversidade populacional, busca por fontes de resistência a vírus, identificação de novas espécies/estirpes virais, aperfeiçoamento dos métodos de diagnose, caracterização funcional de proteínas virais, implementação rigorosa de sistemas de quarentena, fiscalização da comercialização de material propagativo, ampliação da capacitação técnica e da transferência de informações e de material propagativo sadio ou resistente aos viticultores podem ser considerados extremamente importantes para a sustentabilidade e a segurança da viticultura no Brasil e no mundo.

AGRADECIMENTOS

A Osmar Nickel (Embrapa Uva e Vinho) e Leandro Crestani (EPAGRI) pela revisão crítica do manuscrito.

LITERATURA CITADA

- ABDULLAHI, I.; GRYSHAN, Y. & ROTT, M. 2011. Amplification-free detection of grapevine viruses using an oligonucleotide microarray. *Journal of Virological Methods* 178:1-15.
- AGRIANUAL 2013: Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: Editora Informa Economics FNP, South America. 2012.
- ALABI, O. J.; ZHENG, Y.; JAGADEESWARAN, G.; SUNKAR, R. & NAIDU, R. A. 2012. High-throughput sequence analysis of small RNAs in grapevine (*Vitis vinifera* L.) affected by grapevine leafroll disease. *Molecular Plant Pathology* 13:1060-76.
- ALKOWNI, R.; ZHANG, Y-P.; ROWHANI, A.; UYEMOTO, J. K. & MINAFRA, A. 2011. Biological, molecular and serological studies of a novel strain of *Grapevine leafroll-associated virus 2*. *Virus Genes* 43:102-10.
- AL RWAHNIH, M.; DAVE, A.; ANDERSON, M.; UYEMOTO, J. K. & SUDARSHANA, M. R. 2013a. Association of a DNA virus with grapevines affected by Red Blotch disease in California. *Phytopathology* 103:1069-76.

- AL RWAHNIH, M.; DAUBERT, S.; SUDARSHANA, M. R. & ROWHANI, A. 2013b. Gene from a novel plant virus satellite from grapevine identifies a viral satellite lineage. *Virus Genes* 47:114-8.
- AL RWAHNIH, M.; OSMAN, F.; SUDARSHANA, M.; UYEMOTO, J.; MINAFRA, A.; SALDARELLI, P.; MARTELLI, G. & ROWHANI, A. 2012a. Detection of *Grapevine leafroll-associated virus 7* using real time qRT-PCR and conventional RT-PCR. *Journal of Virological Methods* 179:383-9.
- AL RWAHNIH, M.; SUDARSHANA, M. R.; UYEMOTO, J. K. & ROWHANI, A. 2012b. Complete genome sequence of a novel *Vitivirus* isolated from grapevine. *Journal of Virology* 86:9545.
- ANDRET-LINK, P.; LAPORTE, C.; VALAT, L.; RITZENTHALER, C.; DEMANGEAT, G.; VIGNE, E.; LAVAL, V.; PFEIFFER, P.; STUSSI-GAUD, C. & FUCHS, M. 2004. *Grapevine fanleaf virus*: still a major threat to the grapevine industry. *Journal of Plant Pathology* 86:183-95.
- BARANEK, M.; RADDOVA, J.; KRIZAN, B. & PITRA, M. 2009. Genetic changes in grapevine genomes after stress induced by *in vitro* cultivation, thermotherapy and virus infection as revealed by AFLP. *Genetics and Molecular Biology* 32:834-9.
- BASSO, M. F.; FAJARDO, T. V. M.; EIRAS, M.; AYUB, R. A. & NICKEL, O. 2010a. Detecção e identificação molecular de vírus associados a videiras sintomáticas e assintomáticas. *Ciência Rural* 40:2249-55.
- BASSO, M. F.; FAJARDO, T. V. M.; EIRAS, M.; AYUB, R. A. & NICKEL, O. 2010b. Produção de anti-soro policlonal utilizando a proteína capsidial recombinante do *Rupestris stem pitting-associated virus*. *Ciência Rural* 40:2385-8.
- BASSO, M. F.; FAJARDO, T. V. M.; SANTOS, H. P.; GUERRA, C. C.; AYUB, R. A. & NICKEL, O. 2010c. Fisiologia foliar e qualidade enológica da uva em videiras infectadas por vírus. *Tropical Plant Pathology* 35:351-9.
- BASSO, M. F.; FAJARDO, T. V. M.; SILVA, J. C. F.; ALFENAS-ZERBINI, P. & ZERBINI, F. M. 2013. Association of a novel highly divergent monopartite circular ssDNA virus with chlorotic dwarf and dry branches in apple and pear and potential association with symptoms in grapevine. In: Proceedings of the 7th International *Geminivirus* Symposium and 5th

- International ssDNA Comparative Virology Workshop, Hangzhou, China. p.56. (abstract)
- BAYATI, S.; SHAMS-BAKHS, M. & MOIENI, A. 2011. Elimination of *Grapevine virus A* (GVA) by cryotherapy and electrotherapy. *Journal of Agricultural Science and Technology* 13:443-50.
- BELLI, G.; FORTUSINI, A.; CASATI, P.; BELL, L.; BIANCO, P. & PRATI, S. 1994. Transmission of a *Grapevine leafroll associated closterovirus* by the scale insect *Pulvinaria vitis* L. *Rivista di Patologia Vegetale* 4:105-8.
- BELL, V. A.; BONFIGLIOLI, R. G. E.; WALKER, J. T. S.; LO, P. L.; MACKAY, J. F. & MCGREGOR, S. E. 2009. *Grapevine leafroll-associated virus 3* persistence in *Vitis vinifera* remnant roots. *Journal of Plant Pathology* 91:527-33.
- BERGER, S.; SINHA, A. K. & ROITSCH, T. 2007. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant-pathogen interactions. *Journal of Experimental Botany* 58:4019-26.
- BESTER, R.; JOOSTE, A. E. C.; MAREE, H. J. & BURGER, J. T. 2012. Real-time RT-PCR high resolution melting curve analysis and multiplex RT-PCR to detect and differentiate *Grapevine leafroll-associated associated virus 3* variant groups I, II, III and VI. *Virology Journal* 9:1-11.
- BEUVE, M.; SEMPÉ, L. & LEMAIRE, O. 2007. A sensitive one-step real-time RT-PCR method for detecting *Grapevine leafroll-associated virus 2* variants in grapevine. *Journal of Virological Methods* 141:117-24.
- BORROTO-FERNANDEZ, E. G.; SOMMERBAUER, T.; POPOWICH, E.; SCHARTL, A. & LAIMER, M. 2009. Somatic embryogenesis from anthers of the autochthonous *Vitis vinifera* cv. Domina leads to *Arabis mosaic virus*-free plants. *European Journal of Plant Pathology* 124:171-4.
- BOULILA, M. 2011. Selective constraints, molecular recombination structure and phylogenetic reconstruction of isometric plant RNA viruses of the families *Luteoviridae* and *Tymoviridae*. *Biochimie* 93:242-53.
- BRAR, H. S.; SINGH, Z.; SWINNY, E. & CAMERON, I. 2008. Girdling and grapevine leafroll-associated viruses affect berry weight, colour development and accumulation of anthocyanins in 'Crimson Seedless' grapes during maturation and ripening. *Plant Science* 175:885-97.

- BRUMIN, M.; STUKALOV, S.; HAVIV, S.; MURUGANANTHAM, M.; MOSKOVITZ, Y.; BATUMAN, O.; FENIGSTEIN, A. & MAWASSI, M. 2009. Post-transcriptional gene silencing and virus resistance in *Nicotiana benthamiana* expressing a *Grapevine virus A* minireplicon. *Transgenic Research* 18:331-45.
- CABALEIRO, C. & SEGURA, A. 2006. Temporal analysis of *Grapevine leafroll-associated virus 3* epidemics. *European Journal of Plant Pathology* 114:441-6.
- CAMARGO, U. A.; TONIETTO, J. & HOFFMANN, A. 2011. Progressos na viticultura brasileira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, volume especial, p. 144-9.
- CATARINO, A. M.; FAJARDO, T. V. M.; EIRAS, M.; PIO-RIBEIRO, G. & NICKEL, O. 2013a. Detection and coat protein gene characterization of *Grapevine virus B* isolates from different grapevine species. *Virus Reviews and Research* 18 (suppl.1): 185-6. (Annals of XXIV Brazilian Congress of Virology & VIII Mercosur Meeting of Virology, Porto Seguro, Bahia, Brazil).
- CATARINO, A. M.; FAJARDO, T. V. M.; EIRAS, M.; PIO-RIBEIRO, G. & NICKEL, O. 2013b. Detection and partial molecular characterization of isolates of *Grapevine leafroll-associated virus 4* and *Grapevine rupestris vein feathering virus*. Resumos, 46º Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Universidade Federal de Viçosa / Sociedade Brasileira de Fitopatologia. Ouro Preto-MG. (resumo 371-2).
- CATARINO, A. M.; FAJARDO, T. V. M.; PIO-RIBEIRO, G.; NICKEL, O. & REVERS, L. F. 2013c. Absolute quantification of *Grapevine leafroll-associated virus 4* by TaqMan real time RT-PCR in infected grapevines. *Virus Reviews and Research* 18 (suppl.1): 184-5. (Annals of XXIV Brazilian Congress of Virology & VIII Mercosur Meeting of Virology, Porto Seguro, Bahia, Brazil).
- CATARINO, A.M.; FAJARDO, T.V.M.; PIO-RIBEIRO, G. & NICKEL, O. 2013d. Grapevine viruses survey in Pernambuco, Paraíba and Bahia States, Brazil. Resumos, 46º Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Universidade Federal de Viçosa/Sociedade Brasileira de Fitopatologia. Ouro Preto-MG. (resumo 371-1).
- COHN, E.; TANNE, E. & NITZANY, F. E. 1970. *Xiphinema italiae*, a new vector of *Grapevine fanleaf virus*. *Phytopathological Notes* 60:181-2.
- DAANE, K. M.; ALMEIDA, R. P. P.; BELL, V. A.; BOTTON, M.; FALLAHZADEH, M.; MANI, M.; MIANO, J. L.; SFORZA, R.; WALTON, V. M. & ZAVEIZO, T. 2012. Biology and management of mealybugs in vineyards, p. 271-308. In: BOSTANIAN, N. J.; ISAACS, R.; VINCENT, C. (eds.) *Arthropod Management in Vineyards*. Springer, The Netherlands.
- DEMANGEAT, G.; KOMAR, V.; VAN-GHELDER, C.; VOISIN, R.; LEMAIRE, O.; ESMENJAUD, D. & FUCHS, M. 2010. Transmission competency of single female *Xiphinema index* lines for *Grapevine fanleaf virus*. *Phytopathology* 100:384-9.
- DIGIARO, M.; ELBEAINO, T. & MARTELLI, G. 2007. Development of degenerate and species-specific primers for the differential and simultaneous RT-PCR detection of grapevine-infecting nepoviruses of subgroups A, B and C. *Journal of Virological Methods* 141:34-40.
- DUBIELA, C. R.; FAJARDO, T. V. M.; SANTOS, H. P.; SOUTO, E. R.; CZERMAINSKI, A. B. C. & NICKEL, O. 2011. Avaliação agronômica de videiras infectadas por vírus. *Tropical Plant Pathology* 36(supl.):172. CD-ROM.
- DUBIELA, C. R.; FAJARDO, T. V. M.; SOUTO, E. R.; NICKEL, O.; EIRAS, M. & REVERS, L. F. 2013. Simultaneous detection of Brazilian isolates of grapevine viruses by TaqMan real-time RT-PCR. *Tropical Plant Pathology* 38:158-65.
- EIRAS, M. 2012. Viroides. In: EIRAS, M. & GALLETI, S. R. (Eds.) *Técnicas de diagnóstico de fitopatógenos*. São Paulo: Devir Livraria, p.137-54.
- EIRAS, M.; DARÒS, J. A.; FLORES, R. & KITAJIMA, E. W. 2006a. Viroides e virusóides: relíquias do mundo de RNA. *Fitopatologia Brasileira* 31:229-46.
- EIRAS, M.; TARGON, M. L. P. N.; FAJARDO, T. V. M.; FLORES, R. & KITAJIMA, E. W. 2006b. *Citrus exocortis viroid* and *Hop stunt viroid* doubly infecting grapevines in Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 31:440-6.
- ESPINHA, L. M.; GASPAR, J. O.; KUNIYUKI, H. & CAMARGO, L. E. A. 2003. Molecular detection of *Rupestris stem pitting-associated virus* in grapevines in Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 28:206.
- ESPINOZA, C.; VEGA, A.; MEDINA, C.; SCHLAUCH, K.; CRAMER, G. & ARCE-JOHNSON, P. 2007. Gene expression associated with compatible

- viral diseases in grapevine cultivars. *Functional and Integrative Genomics* 7:95-110.
- FAJARDO, T. V. M.; BARROS, D. R.; NICKEL, O.; KUHN, G. B. & ZERBINI, F. M. 2007a. Expression of *Grapevine leafroll-associated virus 3* coat protein gene in *Escherichia coli* and production of polyclonal antibodies. *Fitopatologia Brasileira* 32:496-500.
- FAJARDO, T. V. M.; DIANESE, E. C.; EIRAS, M.; CERQUEIRA, D. M.; LOPES, D. B.; FERREIRA, M. A. S. V. & MARTINS, C. R. F. 2007b. Variability of the coat protein gene of *Grapevine leafroll-associated virus 3* in Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 32:335-40.
- FAJARDO, T. V. M.; EIRAS, M.; SANTOS, H. P.; NICKEL, O. & KUHN, G. B. 2004a. Detecção e caracterização biológica e molecular de *Rupestris stem-pitting associated virus* e seu efeito na fotossíntese de videiras. *Fitopatologia Brasileira* 29:209-14.
- FAJARDO, T. V. M.; EIRAS, M.; NICKEL, O.; DUBIELA, C. R. & SOUTO, E. R. 2012. Detection and partial molecular characterization of *Grapevine fleck virus*, *Grapevine virus D*, *Grapevine leafroll-associated virus 5* and *6* infecting grapevines in Brazil. *Ciência Rural* 42:2127-30.
- FAJARDO, T. V. M.; KUHN, G. B.; EIRAS, M. & NICKEL, O. 2000. Caracterização parcial de um isolado do *Grapevine fanleaf virus*. *Fitopatologia Brasileira* 25:505-11.
- FAJARDO, T. V. M.; KUHN, G. B.; EIRAS, M. & NICKEL, O. 2002. Detecção de *Closterovirus* em videira e caracterização parcial de um isolado do *Grapevine leafroll-associated virus 3*. *Fitopatologia Brasileira* 27:58-64.
- FAJARDO, T. V. M.; NICKEL, O. & EIRAS, M. 2011. Detecção e caracterização molecular dos genes da proteína capsidial de ilarvírus e ampelovírus que infectam fruteiras temperadas. *Ciência Rural* 41:5-9.
- FAJARDO, T. V. M.; NICKEL, O.; EIRAS, M. & KUHN, G. B. 2003. Detecção de um isolado de *Grapevine virus A* e caracterização do gene da proteína capsidial. *Fitopatologia Brasileira* 28:521-7.
- FAJARDO, T. V. M.; NICKEL, O.; EIRAS, M.; KUHN, G. B. & SCHENATO, P. G. 2004b. Detecção e caracterização molecular parcial do *Grapevine fleck virus* em videiras. *Fitopatologia Brasileira* 29:460.
- FIGLIORE, N.; PRODAN, S.; MONTEALEGRE, J.; ABALLAY, E.; PINO, A. M. & ZAMORANO, A. 2008. Survey of grapevine viruses in Chile. *Journal of Plant Pathology* 90:125-30.
- FIGLIORE, N.; ZAMORANO, A.; RIVERA, L.; GONZÁLEZ, F.; ABALLAY, E.; MONTEALEGRE, J. & PINO, A. M. 2011. Grapevine viruses in the Atacama Region of Chile. *Journal of Phytopathology* 159:743-50.
- FLORES, R.; SERRA, P.; MINOIA, S.; DI SERIO, F. & NAVARRO, B. 2012. Viroids: from genotype to phenotype just relying on RNA sequence and structural motifs. *Frontiers in Microbiology* 3:1-13.
- FONSECA, M. E. N. & KUHN, G. 1994. Natural infection of grapevine by *Citrus exocortis viroid* and *Hop stunt viroid* in Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 19:285 (abstract).
- FORTUSINI, A.; SCATTINI, G.; PRATI, S.; CINQUANTA, S. & BELLI, G. 1997. Transmission of *Grapevine leafroll virus 1* (GLRaV-1) and *Grapevine virus A* (GVA) by scale insects. *Proceedings of 12th Meeting of ICVG, Lisbon*, 121-2.
- FUCHS, M.; CAMBRA, M.; CAPOTE, N.; JELKMANN, W.; KUNDU, J.; LAVAL, V.; MARTELLI, G. P.; MINAFRA, A.; PETROVIC, N.; PFEIFFER, P.; POMPE-NOVAK, M.; RAVELONANDRO, M.; SALDARELLI, P.; STUSSI-GARAUD, C.; VIGNE, E. & ZAGRAI, I. 2007. Safety assessment of transgenic plums and grapevines expressing viral coat protein genes: new insights into real environmental impact of perennial plants engineered for virus resistance. *Journal of Plant Pathology* 89:5-12.
- GAMBINO, G.; CUOZZO, D.; FASOLI, M.; PAGLIARANI, C.; VITALI, M.; BOCCACCI, P.; PEZZOTTI, M. & MANNINI, F. 2012. Co-evolution between *Grapevine rupestris stem pitting-associated virus* and *Vitis vinifera* L. leads to decreased defense responses and increased transcription of genes related to photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 63:5919-33.
- GAMBINO, G.; NAVARRO, B.; VALLANIA, R.; GRIBAUDO, I. & DI SERIO, F. 2011. Somatic embryogenesis efficiently eliminates viroid infections from grapevines. *European Journal of Plant Pathology* 130:511-9.
- GAMBINO, G.; PERRONE, I.; CARRA, A.; CHITARRA, W.; BOCCACCI, P.; MARINONI, D. T.; BARBERIS, M.; MAGHULY, F.; LAIMER, M. & GRIBAUDO, I. 2010. Transgene silencing in grapevines transformed with

- GFLV resistance genes: analysis of variable expression of transgene, siRNAs production and cytosine methylation. *Transgenic Research* 19:17-27.
- GARAU, R.; PROTA, V. A.; BOSCIA, D.; FIORI, M. & PROTA, U. 1995. *Pseudococcus affinis* Masx., new vector of *Grapevine trichoviruses A* and *B*. *Vitis* 34:67-8.
- GARRIDO, L. R.; BOTTON, M.; MELO, G. W. B.; FAJARDO, T. V. M. & NAVES, R. L. 2008. Manual de identificação e controle de doenças, pragas e deficiências nutricionais da videira. 1ª ed. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves.
- GHANEM-SABANADZOVIC, N. A.; SABANADZOVIC, S. & MARTELLI, G. P. 2003. Sequence analysis of the 3' end of three *Grapevine fleck virus*-like viruses from grapevine. *Virus Genes* 27:11-6.
- GIAMPETRUZZI, A.; ROUMI, V.; ROBERTO, R.; MALOSSINI, U.; YOSHIKAWA, N.; LA NOTTE, P.; TERLIZZI, F.; CREDI, R. & SALDARELLI, P. 2012. A new grapevine virus discovered by deep sequencing of virus- and viroid-derived small RNAs in cv. Pinot gris. *Virus Research* 163:262-8.
- GIRIBALDI, M.; PURROTTI, M.; PACIFICO, D.; SANTINI, D.; MANNINI, F.; CACIAGLI, P.; ROLLE, L.; CAVALLARIN, L.; GIUFFRIDA, M. G. & MARZACHI, C. 2011. A multidisciplinary study on the effects of phloem-limited viruses on the agronomical performance and berry quality of *Vitis vinifera* cv. Nebbiolo. *Journal of Proteomics* 75:306-15.
- GOLINO, D. A. 1993. Potential interactions between rootstocks and grapevine latent viruses. *American Journal Enology and Viticulture* 44:148-52.
- GOUVEIA, P.; DANDLEN, S.; COSTA, A.; MARQUES, N. & NOLASCO, G. 2012. Identification of an RNA silencing suppressor encoded by *Grapevine leafroll-associated virus 3*. *European Journal of Plant Pathology* 133:237-45.
- HAVIV, S.; IDAN, Y.; GOSZCZYNSKI, D. E. & MAWASSI, M. 2012a. The ORF5 of *Grapevine virus A* is involved in symptoms expression in *Nicotiana benthamiana* plants. *Annals of Applied Biology* 160:181-90.
- HAVIV, S.; MOSKOVITZ, Y. & MAWASSI, M. 2012b. The ORF3-encoded proteins of vitiviruses GVA and GVB induce tubule-like and punctate structures during virus infection and localize to the plasmodesmata. *Virus Research* 163:291-301.
- HOMMAY, G.; KOMAR, V.; LEMAIRE, O. & HERRBACH, E. 2008. *Grapevine virus A* transmission by larvae of *Parthenolecanium corni*. *European Journal of Plant Pathology* 121:185-8.
- HU, C-C.; HSU, Y-H. & LIN, N-S. 2009. Satellite RNAs and Satellite Viruses of Plants. *Viruses* 1:1325-50.
- HWANG, C-F.; XU, K.; HU, R.; ZHOU, R.; RIAZ, S. & WALKER, M. A. 2010. Cloning and characterization of XiR1, a locus responsible for dagger nematode resistance in grape. *Theoretical and Applied Genetics* 121:789-99.
- ITO, T.; NAKAUNE, R.; NAKANO, M. & SUZAKI, K. 2013. Novel variants of *Grapevine leafroll-associated virus 4* and *7* detected from a grapevine showing leafroll symptoms. *Archives of Virology* 158:273-5.
- JAMES, D.; VARGA, A.; PALLAS, V. & CANDRESSE, T. 2006. Strategies for simultaneous detection of multiple plant viruses. *Canadian Journal of Plant Pathology* 28:16-29.
- KIM, S.; CHO, W. K.; LEE, H-G.; PARK, S-G.; SOHN, S-H. & KIM, K-H. 2012. The p19 protein of *Grapevine algerian latent virus* is a determinant of systemic infection of *Chenopodium quinoa*. *Virus Research* 165:81-9.
- KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B. & LEFKOWITZ, E. J. (Eds). 2012. *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Elsevier Academic Press.
- KOMAR, V.; VIGNE, E.; DEMANGEAT, G.; LEMAIRE, O. & FUCHS, M. 2008. Cross-protection as control strategy against *Grapevine fanleaf virus* in naturally infected vineyards. *Plant Disease* 92:1689-94.
- KUHN, G. B. 1994. Necrose das nervuras, doença que ocorre de forma latente na maioria das cultivares de videira no Rio Grande do Sul. *Fitopatologia Brasileira* 19:79-83.
- KUHN, G. B.; FAJARDO, T. V. M. & NICKEL, O. 2002. Detecção biológica de três vírus do complexo rugoso da videira causadores de caneluras. *Fitopatologia Brasileira* 27(supl.): S207 (abstract).

- KURTH, E. G.; PEREMYSLOV, P. P.; PROKHNEVSKY, A. I.; KASSCHAU, K. D.; MILLER, M.; CARRINGTON, J. C. & DOLJA, V. V. 2012. Virus-derived gene expression and RNA interference vector for grapevine. *Journal of Virology* 86:6002-9.
- KRENZ, B.; THOMPSON, J. R.; FUCHS, M. & KEITH, L. P. 2012. Complete genome sequence of a new circular DNA virus from grapevine. *Journal of Virology* 86: 7715.
- KRIZAN, B.; ONDRUSIKOVÁ, E.; HOLLEINOVÁ, V.; MORAVCOVÁ, K. & BLÁHOVÁ, L. 2009. Elimination of *Grapevine fanleaf virus* in grapevine by *in vivo* and *in vitro* thermotherapy. *Horticultural Science* 36:105-8.
- KRUGER, K. & DOUGLAS-SMIT, N. 2013. *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3) transmission by three soft scale insect species (Hemiptera: Coccidae) with notes on their biology. *African Entomology* 21:1-8.
- LAIMER, M.; LEMAIRE, O.; HERRBACH, E.; GOLDSCHIMIDT, V.; MINAFRA, A.; BIANCO, P. & WETZEL, T. 2009. Resistance to viruses, phytoplasmas and their vectors in the grapevine in Europe: A review. *Journal of Plant Pathology* 91:7-23.
- LALONDE, S.; TEGEDER, M.; THRONE-HOLST, M.; FROMMER, W. B. & PATRICK, J. W. 2003. Phloem loading and unloading of sugars and amino acids. *Plant Cell & Environment* 26:37-56.
- LE MAGUET, J.; BEUVE, M.; HERRBACH, E. & LEMAIRE, O. 2012. Transmission of six ampeloviruses and two vitiviruses to grapevine by *Phenacoccus aceris* (Signoret). *Phytopathology* 102:717-23.
- LIMA, M. F. 2009. Detecção e controle de viroses em videiras. Circular Técnica 90. Embrapa Semi-Árido, Petrolina, PE. Disponível em: http://www.cpatsa.embrapa.br/public_electronica/downloads/CTE90.pdf. Acesso em: 10 ago. 2013.
- LIMA, M. F. & FAJARDO, T. V. M. 2012. Doenças causadas por vírus. In: LIMA, M. F. & MOREIRA, F. R. B. (ed.) *Uva de mesa: fitossanidade*. 2. ed. ver. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, p. 43-58. il., color. (Frutas do Brasil, 14).
- LÓPEZ-FABUEL, I.; WETZEL, T.; BERTOLINI, E.; BASSLER, A.; VIDAL, E.; TORRES, L. B.; YUSTE, A. & OLMOS, A. 2013. Real-time multiplex RT-PCR for the simultaneous detection of the five main grapevine viruses. *Journal of Virological Methods* 188:21-4.
- LÓPEZ-GRESA, M. P.; LISÓN, P.; KIM, H. K.; CHOI, Y. H.; VERPOORTE, R.; RODRIGO, I.; CONEJERO, V. & BELLÉS, J. M. 2012. Metabolic fingerprinting of *Tomato mosaic virus* infected *Solanum lycopersicum*. *Journal of Plant Physiology* 169:1586-96.
- LUVISI, A.; PANATTONI, A. & TRIOLO, E. 2011. Thiopurine prodrugs for plant chemotherapy purposes. *Journal of Phytopathology* 159:390-2.
- MAHFOUDI, N.; DIGIARO, M. & DHOUIBI, M. H. 2009. Transmission of Grapevine leafroll viruses by *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae) and *Ceroplastes rusci* (Hemiptera: Coccidae). *Plant Disease* 93:999-1002.
- MALIOGKA, V. I.; SKIADA, F. G.; ELEFThERIOU, E. P. & KATIS, N. I. 2009. Elimination of a new *Ampelovirus* (GLRaV-Pr) and *Grapevine rupestris stem pitting associated virus* (GRSPaV) from two *Vitis vinifera* cultivars combining *in vitro* thermotherapy with shoot tip culture. *Scientia Horticulturae* 123:280-2.
- MAREE, H. J.; ALMEIDA, R. P. P.; BESTER, R.; CHOOI, K. M.; COHEN, D.; DOLJA, D. D.; FUCHS, M. F.; GOLINO, D. A.; JOOSTE, A. E. C.; MARTELLI, G. P.; NAIDU, R. A.; ROWHANI, A.; SALDARELLI, P.; BURGER, J. T. 2013. *Grapevine leafroll-associated virus 3*. *Frontiers in Microbiology* 4 (art. 82):1-21.
- MARTELLI, G. P. 2012. Grapevine virology highlights 2010-12. Extended abstracts 17th Meeting of International Council of Viruses and Virus Diseases of Grapevine, Davis, California, EUA, p. 13-31.
- MARTELLI, G. P.; ABOU GHANEM-SABANADZOVIC, N.; AGRANOVSKY, A. A.; AL RWAHNIH, M.; DOLJA, V. V.; DOVAS, C. I.; FUCHS, M.; GURGELI, P.; HU, J. S.; JELKMANN, W.; KATIS, N. I.; MALIOGKA, V. I.; MELZER, M. J.; MENZEL, W.; MINAFRA, A.; ROTT, M. E.; ROWHANI, A.; SABANADZOVIC, S. & SALDARELLI, P. 2012. Taxonomic revision of the family *Closteroviridae* with special reference to the grapevine leafroll-associated members of the genus *Ampelovirus* and the putative species unassigned to the family. *Journal of Plant Pathology* 94:7-19.

- MARTELLI, G. P.; ADAMS, M. J.; KREUZE, J. F. & DOLJA, V. V. 2007. Family *Flexiviridae*: a case study in virion and genome plasticity. *Annual Review Phytopathology* 45:73-100.
- MARTELLI, G. P.; SABANADZOVIC, S.; ABOU-GHANEM, S. N.; EDWARDS, M. C. & DREHER, T. 2002. The family *Tymoviridae*. *Archives of Virology* 147:1837-46.
- MENG, B.; LIN, C.; GOSZCZYNSKI, D. E. & GONSALVES, D. 2005. Genome sequences and structures of two biologically distinct strains of *Grapevine leafroll-associated virus 2* and sequence analysis. *Virus Genes* 31:31-41.
- MENG, B.; VENKATARAMAN, S.; LI, C.; WANG, W.; DAYAN-GLICK, C. & MAWASSI, M. 2013. Construction and biological activities of the first infectious cDNA clones of the genus *Foveavirus*. *Virology* 435:453-62.
- MONIS, J.; CONSTABLE, F. & HABIL, N. 2010. Avances en el estudio de enfermedades de la vid provocadas por virus. *Revista Enología, Año VII*, p. 1-8.
- MOREIRA, A. E.; GASPAR, J. O.; CAMARGO, L. E. A. & KUNIYUKI, H. 2004a. Caracterização do gene da proteína capsidial do *Grapevine virus A* em videiras afetadas pela acanaladura do lenho de Kober no Estado de São Paulo. *Fitopatologia Brasileira* 29:205-8.
- MOREIRA, A. E.; GASPAR, J. O.; CAMARGO, L. E. A. & KUNIYUKI, H. 2004b. Caracterização do gene da proteína capsidial de dois isolados, patologicamente distintos e sorologicamente semelhantes, do *Grapevine virus B* em videiras no Estado de São Paulo. *Fitopatologia Brasileira* 29:75-80.
- NAVARRO, B.; GISEL, A.; RODIO, M. E.; DELGADO, S.; FLORES, R. & DI SERIO, F. 2012. Viroids: How to infect a host and cause disease without encoding proteins. *Biochimie* 94:1474-80.
- NAVARRO, B.; PANTALEO, V.; GISEL, A.; MOXON, S.; DALMAY, T.; BISZTRAY, G.; DI SERIO, F. & BURGYÁN, J. 2009. Deep sequencing of viroid-derived small RNAs from grapevine provides new insights on the role of RNA silencing in plant-viroid interaction. *PLoS One* 4:e7686.
- NICKEL, O.; FAJARDO, T. V. M.; ARAGÃO, F. J. L.; CHAGAS, C. M. & KUHN, G. B. 2002. Detection and coat protein gene characterization of an isolate of *Grapevine virus B* from corky bark-affected grapevines in Southern Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 27:279-84.
- OLIVER, J. E. & FUCHS, M. 2011. Tolerance and resistance to viruses and their vectors in *Vitis* sp.: A virologist's perspective of the literature. *American Journal of Enology and Viticulture* 62:438-51.
- OSMAN, F.; HODZIC, E.; OMANSKA-KLUSEK, A.; OLINEKA, T. & ROWHANI, A. 2013. Development and validation of a multiplex quantitative PCR assay for the rapid detection of *Grapevine virus A, B* and *D*. *Journal of Virological Methods* 194:138-45.
- OSMAN, F.; LEUTENEGGER, C.; GOLINO, D. & ROWHANI, A. 2007. Real-time RT-PCR (TaqMan) assays for the detection of *Grapevine leafroll associated viruses 1-5* and *9*. *Journal of Virological Methods* 141:22-9.
- OSMAN, F.; LEUTENEGGER, C.; GOLINO, D. & ROWHANI, A. 2008. Comparison of low-density arrays, RT-PCR and real-time TaqMan RT-PCR in detection of grapevine viruses. *Journal of Virological Methods* 149:292-9.
- OSMAN, F. & ROWHANI, A. 2006. Application of a spotting sample preparation technique for the detection of pathogens in woody plants by RT-PCR and real-time RT-PCR (TaqMan). *Journal of Virological Methods* 133:130-6.
- OSMAN, F. & ROWHANI, A. 2008. Real-time RT-PCR (TaqMan) assays for the detection of viruses associated with Rugose wood complex of grapevine. *Journal of Virological Methods* 154:69-75.
- OWENS, R. A.; FLORES, R.; DI SERIO, F.; LI, S. F.; PALLÁS, V.; RANDELES, J. W.; SANO, T. & VIDALAKIS, G. 2012. Viroids. In: KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B. & LEFKOWITZ, E. J. (Eds). *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Elsevier Academic Press, p.1221-34.
- PANATTONI, A. & TRIOLO, E. 2010. Susceptibility of grapevine viruses to thermotherapy on *in vitro* collection of Kober 5BB. *Scientia Horticulturae* 125:63-7.

- PEREIRA, A. C. B. 2008. Proteína capsidial do *Rupestris stem pitting-associated virus*: sequenciamento do gene, expressão em *Escherichia coli*, purificação e produção de anti-soro policlonal. 66f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto, São Paulo.
- PETROVIC, N.; MENG, B.; RAVNIKAR, M.; MAVRIC, I. & GONSALVES, D. 2003. First detection of *Rupestris stem pitting associated virus* particles by antibody to a recombinant coat protein. *Plant Disease* 87:510-4.
- POOJARI, S.; ALABI, O. J.; FOFANOV, V. Y. & NAIDU, R. A. 2013. A leaf-hopper-transmissible DNA virus with novel evolutionary lineage in the family *Geminiviridae* implicated in grapevine redleaf disease by next-generation sequencing. *PLoS ONE* 8:e64194.
- RADAELLI, P.; FAJARDO, T. V. M.; NICKEL, O.; EIRAS, M. & PIO-RI-BEIRO, G. 2008. Production of polyclonal antisera using recombinant coat proteins of *Grapevine leafroll-associated virus 2* and *Grapevine virus B*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 43:1405-11.
- RADAELLI, P.; FAJARDO, T. V. M.; NICKEL, O.; EIRAS, M. & PIO-RI-BEIRO, G. 2009. Variabilidade do gene da proteína capsidial de três espécies virais que infectam videiras no Brasil. *Tropical Plant Pathology* 34:297-305.
- RADAELLI, P.; NICKEL, O.; SCHONS, J.; ARAGÃO, F. J. L. & FAJARDO, T. V. M. 2006. Diagnóstico biológico e molecular e análise da sequência de nucleotídeos do gene da proteína capsidial de um isolado do *Apple stem pitting virus*. *Fitopatologia Brasileira* 31:51-6.
- RADFORD, A. D.; CHAPMAN, D.; DIXON, L.; CHANTREY, J.; DARBY, A. C. & HALL, N. 2012. Application of next-generation sequencing technologies in virology. *Journal of General Virology* 93:1853-68.
- REZAIAN, M. A.; KOLTUNOW, A. M. & KRAKE, L. R. 1988. Isolation of three viroids and a circular RNA from grapevines. *Journal of General Virology* 69:413-22.
- ROSA, C.; JIMENEZ, J. F.; MARGARIA, P. & ROWHANI, A. 2011. Symptomatology and effects of viruses associated with Rugose wood complex on the growth of four different rootstocks. *American Journal of Enology and Viticulture* 62:207-13.
- SAMPOL, T.; BOTA, J.; MEDRANO, H. & FLEXAS, J. 2003. Analysis of the virus-induced inhibition of photosynthesis in malmsey grapevines. *New Phytologist* 160:403-12.
- SAPONARI, M.; MANJUNATH, K. & YOKOMI, R. K. 2008. Quantitative detection of *Citrus tristeza virus* in citrus and aphids by real-time reverse transcription-PCR (TaqMan). *Journal of Virological Methods* 147:43-53.
- SCHELLENBERGER, P.; SAUTER, C.; LORBER, B.; BRON, P.; TRAPANI, S.; BERGDOLL, M.; MARMONIER, A.; SCHMITT-KEICHINGER, C.; LEMAIRE, O.; DEMANGEAT, G. & RITZENTHALER, C. 2011. Structural insights into viral determinants of nematode mediated *Grapevine fanleaf virus* transmission. *PLoS Pathogens* 7:e1002034.
- SEMANCIK, J. S. & SZYCHOWSKI, J. A. 1992. Relationship among the viroids derived from grapevines. *Journal of General Virology* 73:1465-69.
- SHIKATA, E.; SANO, T. & UYEDA, I. 1984. An infectious low molecular weight RNA was detected in grapevines by molecular hybridization with hop stunt viroid cDNA. *Proceedings of Japan Academy of Sciences* 60B:202-5.
- SINGH, K.; TALLA, A. & QIU, W. 2012. Small RNA profiling of virus-infected grapevines: evidences for virus infection-associated and variety-specific miRNAs. *Functional and Integrative Genomics* 12:659-69.
- SITANATH, D. & RASKI, D. J. 1968. Vector-efficiency of *Xiphinema index* in the transmission of *Grapevine fanleaf virus*. *Nematologica* 14:55-62.
- SKIADA, F. G.; MALIOGKA, V. I.; KATIS, N. I. & ELEFThERIOU, E. P. 2013. Elimination of *Grapevine rupestris stem pitting-associated virus* (GRSPaV) from two *Vitis vinifera* cultivars by in vitro chemotherapy. *European Journal of Plant Pathology* 135:407-14.
- STEWART, E. L.; QU, X. S.; OVERTON, B. E.; GILDOW, F. E.; WENNER, N. G. & GROVE, D. S. 2007. Development of a real-time RT-PCR SYBR Green assay for *Tomato ring spot virus* in grape. *Plant Disease* 91:1083-8.
- SZYCHOWSKI, J. A.; MCKENRY, M. V.; WALKER, A.; WOLPERT, J. A.; CREDI, R. & SEMANCIK, J. S. 1995. The vein-banding disease syndrome: a synergistic reaction between grapevine viroids and fanleaf virus. *Vitis* 34:229-32.

- TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M. & KUMAR, S. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-9.
- TERLIZZI, F.; RATTI, C.; FILIPPINI, G.; PISI, A. & CREDI, R. 2010. Detection and molecular characterization of Italian *Grapevine rupestris stem pitting-associated virus* isolates. *Plant Pathology* 59:48-58.
- THOMPSON, J. R.; FUCHS, M.; FISCHER, K. F. & PERRY, K. L. 2012. Macroarray detection of *Grapevine leafroll-associated viruses*. *Journal of Virological Methods* 183:161-9.
- TSAI, C. W.; DAUGHERTY, M. P. & ALMEIDA, R. P. P. 2012. Seasonal dynamics and virus translocation of *Grapevine leafroll-associated virus 3* in grapevine cultivars. *Plant Pathology* 61:977-85.
- TSAI, C. W.; ROWHANI, A.; GOLINO, D. A.; DAANE, K. M. & ALMEIDA, R. P. P. 2010. Mealybug transmission of grapevine leafroll viruses: an analysis of virus-vector specificity. *Phytopathology* 100:830-4.
- VEGA, A.; GUTIÉRREZ, R. A.; PEÑA-NEIRA, A.; CRAMER, G.R. & ARCE-JOHNSON, P. 2011. Compatible GLRaV-3 viral infections affect berry ripening decreasing sugar accumulation and anthocyanin biosynthesis in *Vitis vinifera*. *Plant Molecular Biology* 77:261-74.
- VOLPE, M. L.; TALQUENCA, S. G.; ENGEL, E. A. & GRACIA, O. 2010. Incidence of *Grapevine leafroll-associated viruses 1, 2, and 3* in Mendoza vineyards. *Tropical Plant Pathology* 35:377-80.
- XU, K.; RONCORONI, N.; JIN, Y.; RIAZ, S.; HU, R.; ZHOU, R. & WALKER, M. A. 2008. Genetic and QTL analysis of resistance to *Xiphinema index* in a grapevine cross. *Theoretical and Applied Genetics* 116:305-11.
- WANG, Q.; CUELLAR, W. J.; RAJAMAKI, M. L.; HIRATA, Y. & VALKONEN, J. P. T. 2008. Combined thermotherapy and cryotherapy for efficient virus eradication: relation of virus distribution, subcellular changes, cell survival and viral RNA degradation in shoot tips. *Molecular Plant Pathology* 9:237-50.

- WYANT, P. S.; STROHMEIER, S.; SCHAFFER, B.; KRENZ, B.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. A. & JESKE, H. 2012. Circular DNA genomics (circomics) exemplified for geminiviruses in bean crops and weeds of northeastern Brazil. *Virology* 427:151-7.
- ZHANG, Y.; SINGH, K.; KAUR, R. & QIU, W. 2011. Association of a novel DNA virus with the grapevine vein-clearing and vine decline syndrome. *Phytopathology* 101:1081-90.
- ZHANG, Z.; PENG, S.; JIANG, D.; PAN, S.; WANG, H. & LI, S. 2012. Development of a polyprobe for the simultaneous detection of four grapevine viroids in grapevine plants. *European Journal of Plant Pathology* 132:9-16.