

INFEÇÃO VIRAL DA VINHA NOS BISCOITOS (ILHA TERCEIRA) - AÇORES

GRAPEVINE VIRUS INFECTION AT BISCOITOS (TERCEIRA ISLAND) - AZORES

ARÍCIA FIGUEIREDO¹, ISABEL CORTEZ², ANA MARIA NAZARÉ PEREIRA²

RESUMO

A região dos Biscoitos na ilha Terceira, nos Açores, é mundialmente conhecida pela vinha em curraletas destinada à produção de Vinhos Licorosos de Qualidade Produzidos em Região Demarcada (VLQPRD). As castas predominantes são Verdelho branco e Verdelho roxo mas também estão presentes Terrantez, Arinto e Boal branco.

Um dos objectivos do projecto Interfruta-II é avaliar o actual estado sanitário destas videiras em relação aos principais vírus. Assim, em Fevereiro de 2006, foi realizada uma prospecção em sete vinhas tendo sido analisados por ELISA os vírus GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GLRaV-7, GFLV, ArMV, GVA, GVB e GFkV.

Os resultados são analisados por casta e vinha. No global mostram que a infecção por GLRaV-3 atinge os 100% e que a infecção por um ou dois *Nepovirus* é superior a 50%. Os restantes vírus foram detectados em menor percentagem. Existe elevada per-

centagem de infecções mistas. Atendendo ao prejudicial efeito qualitativo e/ou quantitativo das infecções detectadas, é apresentada uma estratégia de intervenção fitossanitária pretendendo contribuir para a recuperação da vinha nos Biscoitos.

Palavras-chave: Açores, protecção de plantas, vírus, urticado, enrolamento.

ABSTRACT

At Terceira island in Azores, the region Biscoitos is well known by its vineyards in typical "curraletas". The grapevines are for the production of VLQPRD (i.e. Quality Liquorus Wines Produced in Demarcated Region). The predominant varieties are Verdelho branco and Verdelho roxo but also Terrantez, Arinto and Boal branco are present.

One of the objectives of the project Interfruta-II is the evaluation of the actual sanitary status of those grapevines in relation to the main viruses. Therefore, in February 2006, a survey was done in seven vineyards evaluating by ELISA the virus GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GLRaV-7, GFLV, ArMV, GVA, GVB and GFkV.

The results are analyzed by vineyard and by variety. In general they show that infection by GLRaV-3 is 100% and that infection by one or two *Nepovirus* is above 50%. The other viruses were detected in lower percentages. Mixed infections were also relevant. Because of the qualitative and/or quantitative deleterious effect of the infections detected, a phytosanitary strategy will be presented in order to contribute for the recuperation of the grapevine in Biscoitos region.

¹ Universidade dos Açores, Departamento de Ciências Agrárias, Secção de Protecção de Plantas, Terra-Chã, 9702-851 Angra do Heroísmo, Terceira – Açores
silviabettencourt@yahoo.com
asimoes@mail.angra.uac.pt

² Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Departamento de Agronomia e CITAB, 5000-801 Vila Real anazare@utad.pt
Comunicação apresentada no 5º Congresso da Sociedade Portuguesa de Fitopatologia, Coimbra, 2007

Key-words: Azores, plant protection, virus, fanleaf, leafroll.

INTRODUÇÃO

A região dos Biscoitos na ilha Terceira nos Açores é mundialmente conhecida pela vinha em curraletas destinada à produção de Vinhos Licorosos de Qualidade Produzidos em Região Demarcada (VLQPRD). As castas predominantes são Verdelho branco e Verdelho roxo mas também estão presentes Terrantez, Arinto e Boal branco.

Vários estudos, há muito publicados, referiam a presença dos nemátodes vectores do vírus do urticado da videira nas ilhas de S. Miguel e Terceira nos Açores (Sequeira e Dias, 1964; Sturhan, 1973; Bravo, 1983; Lamberti *et al.*, 1994; Bravo & Lemos, 1997). Testes serológicos aí realizados nos anos

80-90 do século passado evidenciam também a importância do vírus do urticado da videira nessas ilhas (Lamberti *et al.*, 1994).

Atendendo ao declínio progressivo que se tem verificado nestas vinhas foi feita, no âmbito do projecto Interfruta-II, a avaliação do actual estado sanitário destas videiras em relação aos principais vírus de que são hospedeiros e para os quais é possível a detecção serológica, nomeadamente *Grapevine leafroll associated virus-1* (GLRaV-1), *Grapevine leafroll associated virus-2* (GLRaV-2), *Grapevine leafroll associated virus-3* (GLRaV-3), *Grapevine leafroll associated virus-7* (GLRaV-7), *Grapevine fanleaf virus* (GFLV), *Arabis mosaic virus* (ArMV), *Grapevine virus A* (GVA), *Grapevine virus B* (GVB) e *Grapevine fleck virus* (GFkV) conforme caracterizados (Buchen-Osmond, 2002; Fauquet *et al.*, 2004) no Quadro 1.

Quadro 1 – Caracterização dos vírus da videira prospectados.

Família	Género	Espécie	Vectores naturais
<i>Closteroviridae</i>	<i>Ampelovirus</i>	GLRaV-1	Cochonilhas
		GLRaV-3	Cochonilhas
	<i>Closterovirus</i>	GLRaV-2	
	Não classificado	GLRaV-7	
<i>Flexiviridae</i>	<i>Vitivirus</i>	GVA	Cochonilhas
		GVB	
<i>Tymoviridae</i>	<i>Maculavirus</i>	GFkV	
<i>Comoviridae</i>	<i>Nepovirus</i>	GFLV	Nemátodes
		ArMV	

MATERIAL E MÉTODOS

Em Fevereiro de 2006 foi realizada uma prospecção em sete vinhas nos Biscoitos (ilha Terceira). A amostragem teve em conta a predominância das castas. Em cada vinha, e por curraleta, foi marcada uma videira e, em cada videira, foram colhidas duas varas em zonas opostas da planta. Foram colhidas no total 300 varas de 150 videiras. As varas foram mantidas a 4°C até serem testadas. Os testes ELISA-Enzyme linked immunosorbent assay (antissoros AGRITEST, SRL, Bari, Itália) foram realizados na UTAD en-

tre Maio e Outubro de 2006. Cada amostra consistiu em lenho de uma vara (de cada videira foram analisadas duas varas, correspondendo a duas amostras). Cada uma foi testada em duplicado, em placas Nunc immunoplate Maxisorp, usando 100µL/alvéolo, extracto 1:10 p/v em tampão Tris-HCl, pH 8,2, ao qual foi adicionado 2% PVP, 1% PEG e 0,05% Tween20. O substrato cromogénico da fosfatase alcalina foi *p*-nitrofenil fosfato sendo consideradas positivas as amostras com absorvância a 405nm superior a três vezes a absorvância dos controlos negativos.

Quadro 2 – Infecção detectada por ELISA, para nove vírus, nas sete vinhas nos Biscoitos (ilha Terceira, Açores).

	Nº total de amostras	Nº de amostras positivas								
		GLRaV1	GLRaV2	GLRaV3	GLRaV7	GFLV	ArMV	GVA	GVB	GFkV
Vinha 1										
Planta	20	0	0	20	4	20	6	5	12	5
Vara	40	0	0	40	5	36	10	9	22	8
Vinha 2										
Planta	20	2	1	20	1	7	9	9	3	13
Vara	40	2	1	40	1	12	13	17	3	17
Vinha 3										
Planta	20	0	9	20	0	6	5	6	4	0
Vara	40	0	12	40	0	12	8	7	7	0
Vinha 4										
Planta	10	0	0	10	0	4	4	2	0	2
Vara	20	0	0	20	0	8	8	2	0	4
Vinha 5										
Planta	30	0	0	30	2	16	8	11 ^(a)	0	0
Vara	60	0	0	60	2	31	14	14	0	0
Vinha 6										
Planta	20	0	4	20	1	8	2	4 ^(b)	0	0
Vara	40	0	4	40	1	13	2	5	0	0
Vinha 7										
Planta	30	0	3	30	1	22	20	3 ^(c)	0	0
Vara	60	0	4	60	1	41	34	4	0	0
Total										
Planta	150	2	17	150	9	83	54	40	19	20
Vara	300	2	21	300	10	153	89	58	32	29

(a) só foram testadas 23 plantas (45 varas) por falta de antissoro.

(b) só foram testadas 13 plantas (25 varas) por falta de antissoro.

(c) só foram testadas 18 plantas (35 varas) por falta de antissoro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As vinhas da ilha Terceira (Biscoitos) possuem uma elevada infecção viral. No Quadro 2 evidencia-se a infecção detectada por vinha, nas sete vinhas amostradas, para os nove vírus testados.

De forma global a infecção total detectada nas sete vinhas em estudo é apresentada no Quadro 3. Os resultados dos testes serológicos efectuados em videiras de curraletas distintas mostraram que 100% das videiras amostradas estavam infectadas com o Vírus do enrolamento foliar da videira do tipo 3

(GLRaV-3). Outros vírus também presentes em grande número de videiras são o Vírus do urticado da videira (GFLV) e o Vírus do mosaico de Arabis (ArMV), existindo GFLV com maior incidência (55,3% e 36%, respectivamente). De destacar ainda a infecção por GVA (32,3%). Os restantes vírus prospectados foram também encontrados embora em muito menor percentagem. A infecção pelo Vírus do enrolamento foliar da videira do

tipo 1 (GLRaV-1) parece ser esporádica pois apenas foi detectada em 2 videiras do total de 150 testadas.

Verifica-se que quando a análise de videiras infectadas é feita pelo valor conjunto das duas varas, a percentagem de infecção é superior à percentagem de infecção detectada quando se considera que uma vara é uma amostra, o que salienta a importância da amostragem alargada na planta (Quadro 3).

Quadro 3 – Infecção total detectada por ELISA, nas cinco castas amostradas, nas sete vinhas nos Biscoitos (ilha Terceira, Açores).

Vírus	por videira (2 varas)	por vara
	nº plantas +/ nº plantas testadas (%)	nº varas + /nº varas testadas (%)
GLRaV1	2/150 (1,3)	2/300 (0,66)
GLRaV2	17/150 (11,3)	21/300 (7,0)
GLRaV3	150/150 (100,0)	300/300 (100,0)
GLRaV7	9/150 (6,0)	10/300 (3,3)
GFLV	83/150 (55,3)	153/300 (51,0)
ArMV	54/150 (36,0)	89/300 (29,7)
GVA*	40/124 (32,3)	58/245 (23,7)
GVB	19/150 (12,7)	32/300 (10,7)
GFkV	20/150 (13,3)	29/300 (9,7)

Uma planta por curraleta, total de 150 plantas.

Duas varas por planta (zonas opostas de planta), total de 300 varas.

* menos plantas testadas por falta de antissoro.

Ao analisarmos a presença dos vírus prospectados por castas (Quadro 4) verifica-se que o Vírus do enrolamento foliar da videira do tipo 3 (GLRaV-3) e o Vírus do urticado ou nó-curto da videira (GFLV) estão presentes em todas as castas. O Vírus do mosaico de Arabis (ArMV) e o Vírus A da Videira (GVA) foram detectados em todas as castas excepto na casta Boal branco (mas apenas uma planta estava incluída na amostragem). O Vírus do marmoreado da videira (GFkV) foi detectado em Verdelho branco, Verdelho roxo e em Terrantez. O Vírus B

da Videira (GVB) foi detectado também em Verdelho branco, Verdelho roxo e em Arinto. Os vírus associados ao Enrolamento foliar da videira do tipo 2 (GLRaV-2) e ao Enrolamento foliar da videira do tipo 7 (GLRaV-7) foram apenas encontrados em Verdelho (roxo e branco) e o Vírus associado ao Enrolamento foliar da videira do tipo 1 (GLRaV-1) foi apenas detectado numa planta de Verdelho branco. É também de referir que existe elevada percentagem de infecções mistas de dois ou mais vírus na mesma planta.

Quadro 4 – Infecção detectada por ELISA, em cinco castas, nas sete vinhas nos Biscoitos (ilha Terceira, Açores).

Vírus	Castas (Nº plantas testadas)				
	Verdelho roxo (70)	Verdelho branco (58)	Terrantez (12)	Arinto (9)	Boal branco (1)
GLRaV-1		+			
GLRaV-2	+	+			
GLRaV-3	+	+	+	+	+
GLRaV-7	+	+			
GFLV	+	+	+	+	+
ArMV	+	+	+	+	
GVA	+	+	+	+	
GVB	+	+		+	
GFkV	+	+	+		

Estratégia de intervenção fitossanitária - As vinhas na ilha Terceira (Biscoitos) possuem uma elevada infecção viral e como todos os vírus da videira são transmitidos pelo material de propagação vegetativa é essencial que não seja usado material destas vinhas para re-enxertia e/ou para início de novas plantações.

É conhecido o efeito negativo, qualitativo e/ou quantitativo, de alguns vírus da videira nomeadamente dos vírus GLRaV-3 e GFLV, que se detectaram com maior incidência nos Biscoitos (Bovey *et al.*, 1980; Pearson & Goheen, 1988; Santos *et al.*, 2003).

O vírus do enrolamento da videira do tipo 3 (GLRaV-3), totalmente disseminado na região prospectada, afecta a qualidade das uvas pelo atraso que causa na maturação, acréscimo de acidez e decréscimo dos açúcares (logo reduzindo o etanol potencial do mosto) e redução das antocianinas e polifenóis, podendo levar a uma perda de pigmentação nos cachos na ordem de 50% nas castas tintas (Over de Linden & Chamberlain, 1970; Pearson & Goheen, 1988; Cabaleiro *et al.*, 1999; Gugerli, 2003).

Para GLRaV-3, para além da transmissão por enxertia, há referência a várias espécies

de cochonilhas vectores das famílias Coccidae e Pseudococcidae, nomeadamente *Planococcus citri*, *P. ficus*, *Pseudococcus longispinus*, *Ps. viburni* (= *Ps. affinis*), *Ps. calceoridiae*, *Ps. maritimus*, *Phenacoccus aceris*, *Pulvinaria vitis*, *Heliococcus bohemicus* e *Parthenocanium corni* (Tanne *et al.*, 1989; Engelbrecht & Kasdorf, 1990; Belli *et al.*, 1994; Golino *et al.*, 1995; Cabaleiro & Segura, 1997; Petersen & Charles, 1997; Golino *et al.*, 2000; Sforza & Greif, 2000; Golino *et al.*, 2002; Gugerli, 2003; Sforza *et al.*, 2003; Cid *et al.*, 2006). Algumas destas espécies são também vectores de GVA nomeadamente *Pseudococcus longispinus*, *Planococcus ficus*, *Planococcus citri* e *Neopulvinaria innumerabilis* (Roscioglione *et al.*, 1983; Fortusini *et al.*, 1997; Bunchen-Osmond, 2004). De salientar que a cochonilha escura, *Pseudococcus viburni*, foi identificada pela primeira vez na videira na ilha Terceira e na ilha do Pico em 2005 (Bettencourt *et al.*, 2006) e está em estudo o seu potencial como espécie vector de isolados de GLRaV-3 e de GVA da ilha Terceira.

Assim, será aconselhável a prospecção de cochonilhas nas curraletas para averiguar a necessidade de intervenção cultural, nome-

adamente eliminar e queimar, na altura da poda, os sarmentos atacados e, se viável, raspar o ritidoma das plantas afectadas. É de salientar que a presença na vinha de vários organismos auxiliares poderá levar à limitação natural das cochonilhas (Amaro, 2001).

O vírus do urticado da videira (GFLV), que apresenta estirpes cromogénicas e estirpes deformantes, é um vírus com características degenerativas para o hospedeiro e pode causar perdas quantitativas na produção da videira de cerca de 60% (Pearson & Goheen, 1988; Martelli & Taylor 1989; Taylor e Brown, 1997; Andret-Link *et al.*, 2004). Os nemátodes *Xiphinema index*, *X. italiae* e *X. diversicaudatum* são vectores destes vírus (Cohn *et al.*, 1970; Martelli & Taylor 1989). A sua aquisição pode ser feita pelas formas jovens ou adultas do vector, existindo grande especificidade entre estes vírus e a espécie de nemátode.

Sabe-se há muito da existência de nemátodos vectores do vírus do urticado da videira nas ilhas de S. Miguel e Terceira nos Açores (Sequeira e Dias, 1964; Sturhan, 1973; Bravo, 1983; Lamberti *et al.*, 1994). Por isso, não é de estranhar a grande dispersão de *Nepovirus* encontrada nas curraletas, embora não deva ser negligenciada a provável acção do Homem, pela utilização de material de enxertia contaminado.

É importante avaliar a actual incidência de nemátodos vectores de *Nepovirus* nos vinhedos da ilha Terceira. Admite-se que a presença destes vectores nos solos seja ainda uma constante existindo as condições de perpetuação da doença nomeadamente videiras infectadas e nemátodos vectores pelo que, e devido à importância da vitivinicultura na economia agrícola da região, torna-se fundamental lutar contra os nemátodos e contra o vírus.

A luta contra estes agentes não será fácil de realizar, principalmente quando se trata de culturas perenes, como a vinha. Relativamente à luta contra os nemátodos fitopatogénicos em geral, a luta química tem sido a mais utilizada, com 1,3-dicloropropeno em pré-plantação e apenas no ano da plantação

(Lemos *et al.*, 1997; Garrido, 2007). Contudo, esta forma de luta apresenta graves inconvenientes, nomeadamente o custo, a falta de especificidade dos nematodocidas e os efeitos secundários em relação ao Homem e outros animais e ao agro-ecossistema vinha. Além disso, estes nemátodos conseguem existir a profundidades de 3,5 metros, associados à raiz da videira.

A utilização de plantas com efeito alelopático é, numa óptica de viticultura sustentável, uma medida que poderá ser aplicada na região. Existem numerosas espécies de plantas que possuem compostos que podem ter um efeito nematocida ou nematoestático (Jaeger, 2003). Esses compostos pertencem principalmente ao grupo dos isotiocianatos, glicósidos cianogénicos, poliacetilenos, alcalóides, ácidos gordos e derivados, terpenoides, fenólicos entre outros (Chitwood, 2002, Argentieri *et al.*, 2008). Aballay e Insunza (2002) testaram o efeito alelopático de oito espécies de plantas em *Xiphinema index*, tendo verificado que nas parcelas onde *Brassica napus* foi utilizada como cultura de cobertura, e depois incorporada no solo, houve uma redução significativa da população de nemátodos. A acção alelopática de *B. napus* é devida à produção de glucosinolatos que quando são hidrolisados originam tiocianatos e isotiocianatos, entre outros compostos (Campos *et al.*, 1994).

Assim, para a melhoria do estado sanitário e consequentemente da produtividade e rentabilidade das vinhas nos Açores, e neste caso particular nos Biscoitos, consideramos que deverá proceder-se à replantação das castas utilizadas, que terão que estar certificadas para a isenção de todos os vírus que constam da Directiva europeia (Directiva nº 2005/43/CE), onde estão incluídos nomeadamente os vírus GLRaV-3 e GFLV. Para que a replantação seja eficiente de modo a garantir que as castas não voltem a ser infectadas, deverá haver uma redução substancial dos vectores no solo antes de se efectuar esta replantação. Não é de aconselhar a utilização de nematodocidas de síntese, por todos os efeitos negativos já referidos. Parece-nos

que uma opção sustentável será a utilização de *Brassica napus* como cultura de coberto vegetal, fazendo-se depois a sua incorporação. É necessário contudo determinar quais as variedades de *B. napus* mais indicadas para o clima e solo da região dos Biscoitos e que simultaneamente tenham teores elevados de glucosinolatos. Será também conveniente determinar qual a melhor época para efectuar a incorporação da cultura, tendo como objectivo o controlo dos nemátodes. Simultaneamente dever-se-á ainda estudar até que profundidades actuam estes compostos na luta contra os nemátodes. Só uma luta sustentável permitirá a eliminação gradual e eficaz destes vírus da cultura da vinha nos Açores e um aumento no rendimento dos vitivinicultores a médio prazo.

CONCLUSÕES

A elevada infecção viral detectada na região dos Biscoitos em 2006 está de acordo com idêntica prospecção realizada no ano anterior nas vinhas utilizadas para produção de VLQPRD nas Ilhas do Pico e Terceira (ver Bettencourt *et al*, este Congresso SPF).

Apesar de a maioria da transmissão das viroses na videira se dar devido à utilização indevida de bacelos e/ou garfos infectados, será também importante uma estratégia de protecção sustentável, tal como foi referido anteriormente, relativamente aos vectores conhecidos das duas viroses detectadas com maior incidência, nomeadamente cochonilhas das famílias Coccidae e Pseudococcidae (vectores de GLRaV-3, mas também de GLRaV-1, GVA, GVB) e nemátodes do género *Xiphinema* (vectores de GFLV e ArMV).

AGRADECIMENTOS

À Direcção Regional de Desenvolvimento Agrário (vinha 1), aos viticultores Euliotério Dias (vinha 2), Paulo Cota (vinha 3), João Gonçalves Pereira (vinha 4), Rui Manuel Cota (vinha 5), Manuel Rufino Simas (vinha

6) e Alcino Gomes Meneses (vinha 7) pela permissão de recolha de amostras nas respectivas vinhas. A Reinaldo Pimentel (Universidade dos Açores) pelo DVD com as fotografias de material com sintomas nas sete vinhas. A Carlos da Assunção Martins (Universidade de Trás-os Montes e Alto Douro) pela execução laboratorial dos testes serológicos.

Trabalho parcialmente financiado pelo Projecto Interfruta-II (05/MAC/3.1/A4) no âmbito do INTERREG III-B Açores-Madeira-Canárias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aballay, E.& Insunza, V. (2002) – Evaluacion de plantas con propiedades neamatocidas en el control de *Xiphinema index* en vid de mesa cv. Thompson seedless en la zona central de Chile. *Agricultura Técnica* (Chile) 62: 357-365.
- Amaro, P. (Ed.). (2001) – *A protecção integrada da vinha na região norte*. ISA/Press, Porto, 148 p.
- Andret-Link, P.; Laporte, C.; Valat, L.; Ritzenthaler, C.; Demangeat, G.; Vigne, E.; Laval, V.; Pfeiffer, P.; Stussi-Garaud, C.; Fuchs, M. (2004) – Grapevine fanleaf virus: still a major threat to the grapevine industry. *Journal of Plant Pathology* 86:183-195.
- Argentieri, M. P., D'Addabbo; Tava, A., Agostinelli, T., Jurzysta, M. & Avato, P. (2008) – Evaluation of nematocidal properties of saponins from *Medicago* spp. *Eur. J. Plant Pathol.* 120: 189-197.
- Belli, G.; Fortusini A.; Casati, P.; Belli, 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: 105-108
- Bettencourt, S. , Simões, A.M. Á & Franco, J.C. (2006) – Novos registos de cochonilhas Pseudococcidae e Diaspididae para as ilhas Terceira e Pico no Arquipélago dos Açores. *Boletim Sociedad Entomológica Aragonesa* 39: 419-420.

- Bovey, R.; Gartel, W., Hewitt, W.B.; Martelli, G.P. & Vuittenez, A. (1980) – *Virus and virus-like diseases of grapevines; color atlas of symptoms*. Editions Payout, Lausanne, 183p.
- Bravo, M. A. (1983) – *Nemátodos vectores de viroses da videira*. Encontro de Técnicos de Viticultura. Ministério da Agricultura, Florestas e Alimentação, EAN, Oeiras, pp. 1-6.
- Bravo, M.A. & Lemos, R. M. (1997) – *Longidorus, Paralongidorus and Xiphinema* in Portugal. In: Santos, M. S de A., Abrantes, I. O., Brown, D. J. F. & Lemos, R. M. (Eds). *An introduction to virus vector nematodes and their associated viruses*. Instituto do Ambiente e Vida, Universidade de Coimbra, pp. 421-441.
- Buchen-Osmond, C. (2002) – *ICTVdB Virus descriptions*. Disponível em <<http://phene.cpmc.columbia.edu/ICTVdB/index.htm>> (acesso em 14 Fevereiro 2008)
- Buchen-Osmond, C. (2004) – *76.0.1.T.003 Grapevine virus A. ICTVdB*. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/7601t003.htm>> (acesso em 14 Fevereiro 2008)
- Cabaleiro, C. & Segura, A. (1997) – Field transmission of grapevine leafroll associated virus 3 (GLRaV-3) by the mealybug *Planococcus citri*. *Plant Disease* 81: 283-287.
- Cabaleiro, C., Segura, A. & Garcia-Berrios, J. (1999) – Effects of grapevine leafroll-associated virus 3 on the physiology and must of *Vitis vinifera* L. Cv. Albarino following contamination in the field. *Am. J. Enol. Vitic.* 50 (1): 40-44.
- Campos, H., Lizama, N. & Marquez, M.G. (1994) – Determinación cualitativa del contenido de glucosinolatos en semillas de raps (*Brassica napus* L.) através de glucocinta. *Agricultura Técnica* (Chile) 54:318-322.
- Chitwood, D. J. (2002) – Phytochemical based strategies for nematode control. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40: 221-249.
- Cid, M.; Pereira, S.; Gago, P.; Couceiro, C.; Cabaleiro, C. & Segura, A. (2006) – *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera: Pseudocoridae) as GLRaV-3 vector. In: *15th ICVG Meeting*. Stellenbosch, South Africa, 3-7 April, 252-254.
- Cohn, E.; Tanne, E., & Nitzany, F.E. (1970) – *Xiphinema italiae*, a new vector of grapevine fanleaf virus. *Phytopathology* 60: 181-182.
- Engelbrecht, D. J.; Kasdorf, G.G.F. (1990) – Transmission of grapevine leafroll disease and associated closterovirus by the vine mealybug, *Planococcus ficus*. *Phytophylactica* 22: 341-346. In: Petersen C. L. & Charles, J. G. (1997) - Transmission of grapevine leafroll associated closteroviruses by *Pseudococcus longispinus* and *P. calceolariae*. *Plant Pathology* 46: 509-515.
- Fauquet, C.M; Mayo, M.A. & others (eds.). (2004) – *VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier Publishers, Amsterdam, 1162pp.
- Fortusini, A.; Scattini, G.; Prati, S.; Cinquanta, S. & Belli, G. (1997) – Transmission of grapevine leafroll virus (GLRaV-1) and Grapevine virus A (GVA) by scale insects. In: *12th ICVG Meeting*, Lisbon, Portugal, 28 Sep. – 2 Oct, 121-122.
- Garrido, J (coord.). (2007) – *Agro-manual - produtos fitofarmacêuticos, fertilizantes, sementes*. Agro-manual Publicações, Lda., Odivelas, 402 pp.
- Golino, D. A.; Sim, S. T. & Rowhani, A. (1995) – Transmission studies of grapevine leafroll associated virus and grapevine corky bark associated virus by the obscure mealybug. *Am. J. Enol. Vitic* 46: 408.
- Golino, D.A.; Sim, S. & Rowhani, A. (2000) – Experimental transmission of grapevine leafroll associated viruses by mealybugs. In: *13th ICVG Conference*. Adelaide, Australia, 12- 17th March, 19-20
- Golino, D.A.; Sim, S.T.; Gill, R. & Rowhani, A.; (2002) – California mealybugs can spread grapevine leafroll disease. *California Agriculture* 56 (6): 196-201.
- Gugerli, P. (2003) – Grapevine leafroll and related viruses. In: *14th ICVG Meeting*. Locorotondo (Bari), Italy, September 12-17, 25-32.

- Jaeger, C. (2003) – *Organic farming: which green manure should I grow?* The Agriculture Note AG1084, Department of Primary Industries, State of Victoria Australia. Disponível em <[http://www.nre.vic.gov.au/DPI/nreninf.nsf/v/19E10478E7246AF0CA2573C500044E56/\\$file/AG1122_Dec07.pdf](http://www.nre.vic.gov.au/DPI/nreninf.nsf/v/19E10478E7246AF0CA2573C500044E56/$file/AG1122_Dec07.pdf)> (acesso em 12 Janeiro 2008).
- Lamberti, F., Bravo, M.A., Agostinelli, A. & Lemos, R.M. (1994). The *Xiphinema americanum*-group in Portugal with descriptions of four new species (Nematoda, Dorylaimida). *Nematol. mediterr.* 22:189-218.
- Lemos, R. M., Santos, M.S. de A. & Abrantes, I.M. (1997) – Control strategies for virus vector nematodes and their associated viruses. In: Santos, M. S de A., Abrantes, I. O., Brown, D. J. F. & Lemos, R. M. (Eds). *An introduction to virus vector nematodes and their associated viruses*. Instituto do Ambiente e Vida, Universidade de Coimbra, pp. 381-420.
- Martelli, G.P. & Taylor, C.E. (1989) – Distribution of viruses and their nematode vectors. In: K.F. Harris (Ed). *Advances in Disease Vector Research*, Volume 6. Springer-Verlag, New York, pp.151-189.
- Over de Linden, A. J.; Chamberlain, E. E. (1970) – Effect of grapevine leafroll virus on vine growth and fruit yield and quality. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 13: 689-698.
- Pearson, R.C. & Goheen, A.C. (1988) – *Compendium of Grape Diseases*. APS Press, St. Paul, MN, USA, 93pp.
- Petersen C. L. & Charles, J. G. (1997) – Transmission of grapevine leafroll associated closteroviruses by *Pseudococcus longispinus* and *P. calceolariae*. *Plant Pathology* 46: 509-515.
- Rosciglione, B.; Castellano, M. A. Martelli, G. P.; Savino, V. & Cannizzaro, G. (1983) - *Vitis* 22: 331 In: Cabaleiro, C.; Segura, A.; (1997) Some characteristics of the transmission of grapevine leafroll associated virus 3 by *Planococcus citri* Risso. *European Journal of Plant Pathology* 103: 373-378.
- Santos, M. T.; Rocha, M. L. G.; Martins, J. M. S. & Carneiro, L. C. (2003) – Effect of grapevine fanleaf virus, leafroll associated virus 3 and grapevine fleck virus on leaf morphology of the Portuguese white variety Arinto by multivariate discriminant analysis. In: *14th ICVG Conference*. Locorotondo (Bari), Italy, 12-17th September, pp. 21-22.
- Sequeira, O.A. De & Dias, H.F. (1964). Transmissão do vírus do urticado da videira pelo nemátodo *X.index* Thorne et Allen. *Agronomia lusit.* 24:307-316
- Sforza, R. & Greif, C. (2000) – Les cochenilles et l'enroulement viral de la vigne. *Phytoma-La Défense des Végétaux* 532: 46-50.
- Sforza, R.; Boudon-Padieu, E.; Grief, C. (2003) – New mealybugs species vectoring grapevine leafroll-associated viruses-1 and -3 (GLRaV-1 and -3). *Eur. J. Plant Pathol.* 109: 975-981.
- Sturhan, D. (1973). Ergebnisse der forschungsreise auf die Azoren, 1969. Internationales Forschungsproject Makaronesischer Raum. II Zur Nematodenfauna der Azoren. *Boln. Mus.Mun. Funchal* 27: 18-25. In: Santos, M. S de A., Abrantes, I. O., Brown, D. J. F. & Lemos, R. M. (Eds). *An introduction to virus vector nematodes and their associated viruses*. Instituto do Ambiente e Vida, Universidade de Coimbra, pp. 426.
- Tanne, E.; Ben-Dov, Y. & Raccah, B. (1989) – Transmission of grapevine closterovirus particles by mealybugs (Pseudococcidae) in Israel; *Phytoparasitica* 17: 63-64 In: Petersen C. L. & Charles, J. G. (1997) - Transmission of grapevine leafroll associated closteroviruses by *Pseudococcus longispinus* and *P. calceolariae*. *Plant Pathology* 46: 509-515.
- Taylor, C. E. & Brown, D. J. F. (1997) – Nematode-transmitted viruses. In: Lamberti, F., Taylor, C.E. & Seinhorst, J.W. (Eds.). *Nematode vectors of plant viruses*. CAB International, UK, pp. 142-143.