

葡萄病毒研究最新进展

任 芳, 董雅凤*, 张尊平, 范旭东, 胡国君, 周 俊

(中国农业科学院果树研究所, 国家落叶果树脱毒中心, 辽宁兴城 125100)

摘 要: 对近 5 年关于葡萄病毒分离鉴定、基因组及遗传变异、传毒介体、寄主互作、检测技术、脱毒和抗病毒技术等方面的最新研究进展进行了综述。

关键词: 葡萄; 病毒; 遗传变异; 介体; 检测; 抗病毒技术

中图分类号: S 663.1

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2014) 09-1777-16

Recent Advances in Viruses Infecting Grapevine

REN Fang, DONG Ya-feng*, ZHANG Zun-ping, FAN Xu-dong, HU Guo-jun, and ZHOU Jun

(National Center for Producing Virus-free Deciduous Fruit Tree, Research Institute of Pomology, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Xingcheng, Liaoning 125100, China)

Abstract: Virus disease is important for grapevine production. In order to understand the current research progress of grapevine viruses, the research progress in recent five years on isolation and identification of grapevine viruses, genetic variation, vectors, interaction with host, detection methods, virus elimination and antiviral techniques were reviewed.

Key words: grapevine; virus; genetic variation; vector; detection; antiviral techniques

病毒病是为害葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 的一类重要病害, 造成葡萄生长衰退及产量和品质下降等危害。截至 2012 年已报道侵染葡萄的病毒多达 63 种, 包括单链 DNA、双链 DNA、双链 RNA、单链负义 RNA 及单链正义 RNA 等多种基因组类型的病毒 (Martelli, 2012)。葡萄病毒病在全世界发生普遍, 智利、西班牙、克罗地亚和中国等部分地区葡萄带毒率高达 60%~96% (Martelli, 2012)。近年中国发现报道的病毒种类也不断增加, 危害形势进一步加重 (Pei et al., 2010; Fan et al., 2013)。因此, 密切关注葡萄病毒最新研究进展, 了解国际前沿动态, 对促进葡萄病毒研究和葡萄病毒病防控具有重要意义。

1 葡萄病毒病原鉴定和描述

1.1 近 5 年发现的葡萄新病毒

近 5 年共报道了 9 种葡萄新病毒, 包括 5 种 RNA 病毒和 4 种 DNA 病毒 (表 1)。以前报道的葡萄病毒均为 RNA 病毒 (Martelli, 2012), 直到 2011 年首次报道了 DNA 病毒——葡萄脉明病毒

收稿日期: 2014-06-23; 修回日期: 2014-08-29

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-30-bc-3)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: yfdong@163.com)

Grapevine vein clearing virus, GVCV (Zhang et al., 2011)。GVCV 与葡萄脉明和衰退症状有关, 在美国中西部地区广泛分布, 其基因组为环状双链 DNA, 大小约 7 753 bp, 编码 3 个 ORFs。随后发现 3 种单链 DNA 病毒——葡萄品丽珠伴随病毒 Grapevine cabernet franc-associated virus, GCFaV (Krenz et al., 2012)、葡萄红斑伴随病毒 Grapevine red blotch-associated virus, GRBaV (Al Rwahnih et al., 2013) 和葡萄红叶伴随病毒 Grapevine redleaf-associated virus, GRLaV (Poojari et al., 2013), 分别与葡萄红斑、红叶等症状有关, 为单链环状 DNA 病毒, 根据基因组结构、编码潜力和复制保守区等特点归于双生病毒科 (Geminiviridae), 但还未明确属的划分。

表 1 近 5 年报道的葡萄新病毒

Table 1 New viruses infecting grapevine reported in recent five years

病毒名称 Virus species	基因组类型 Genome type	科属 Family, genus	来源 Origin	葡萄品种 Grape variety	症状 Symptom	参考文献 Reference
葡萄 Q 病毒 Grapevine virus Q (GVQ)	单链 RNA ss RNA	芜菁黄花叶病毒科, 玉米细线病毒属 Tymoviridae, <i>Marafivirus</i>	美国东南部 Southeastern USA	圆叶葡萄 <i>Vitis rotundifolia</i> Michx.	类似健康叶片, 无症状 Apparently healthy	Sabanadzovic & Ghanem-Sabanadzovic, 2009
葡萄角状花叶病毒 Grapevine angular mosaic virus (GAMoV)	单链 RNA ss RNA	雀麦花叶病毒科, 等轴不稳环斑病毒属 Bromoviridae, <i>Ilarivirus</i>	希腊 Greece	‘Baresana’ × ‘Baresana’	叶片角状斑驳, 畸形 Sharp angular mosaic, malformations	Girgis et al., 2009
红玛瑙葡萄卷叶 伴随病毒 Grapevine leafroll-associated Carnelian virus (GLRaCV)	单链 RNA ss RNA	长线形病毒科, 葡萄卷叶病毒属 Closteroviridae, <i>Ampelovirus</i>	美国 加利福尼亚 California, USA	红玛瑙 Carnelian	轻微卷叶 Mild leafroll	Ghanem-Sabanadzovic et al., 2010
葡萄灰皮诺病毒 Grapevine Pinot gris virus (GPGV)	单链 RNA ss RNA	β 线形病毒科, 发痒病毒属 Betaflexiviridae, <i>Trichovirus</i>	意大利 特伦蒂诺 Trentino, Italy	灰比诺 Pinot Gris	叶片褪绿斑驳, 畸形 Chlorotic mottling, leaf deformations	Giampetruzzi et al., 2012
葡萄脉明病毒 Grapevine vein clearingvirus (GVCV)	双链 DNA ds DNA	花椰菜病毒科, 杆状 DNA 病毒属 Caulimoviridae, <i>Badnavirus</i>	美国中西部 Midwest USA	沙多内尔 Chardonel	脉明, 衰退症 Vein-clearing, vine decline	Zhang et al., 2011
葡萄 F 病毒 Grapevine virus F (GVF)	单链 RNA ss RNA	β 线形病毒科, 葡萄病毒属 Betaflexiviridae, <i>Vitivirus</i>	美国 USA	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	嫁接不亲和 Graft incompatibility	Al Rwahnih et al., 2012c
葡萄品丽珠伴随病毒 Grapevine cabernet franc-associated virus (GCFaV)	单链 DNA ss DNA	双生病毒科, 属未确定 Geminiviridae, genus unassigned	美国纽约 New York, USA	品丽珠 Cabernet Franc	衰退症 Vine decline	Krenz et al., 2012
葡萄红斑伴随病毒 Grapevine red blotch-associated virus (GRBaV)	单链 DNA ss DNA	双生病毒科, 属未确定 Geminiviridae, genus unassigned	美国加利福尼亚 California, USA	品丽珠, 赤霞珠, 仙粉黛 Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon, Zinfandel	叶片不规则红斑, 边缘变红, 红脉 Leaves with irregular red blotches, marginal reddening, red veins	Al Rwahnih et al., 2013
葡萄红叶伴随病毒 Grapevine redleaf-associated virus (GRLaV)	单链 DNA ss DNA	双生病毒科, 属未确定 Geminiviridae, genus unassigned	美国华盛顿 Washington, USA	梅鹿辄, 品丽珠 Merlot, Cabernet Franc	红脉, 红斑, 整叶变红 Red veins, red blotches, red leaves	Poojari et al., 2013

1.2 病毒新株系和新发生地

报道了多种葡萄病毒的新株系或分离物: 葡萄卷叶伴随病毒 - 2 (*Grapevine leafroll-associated virus-2*, GLRaV-2) 意大利分离物 GLRaV-2 BD, 是一个温和株系, 不伴随嫁接不亲和, 也很少引起卷叶症状 (Bertazzon et al., 2010); 美国加利福尼亚 GLRaV-2 红地球株系 GLRaV-2 RG (Alkowni et al., 2011); GLRaV-3 南非新分离物 GH11 和 GH30、美国加利福尼亚新分离物和中国分离物 LN (Bester et al., 2012b; Seah et al., 2012; Fei et al., 2013); 新西兰 GLRaV-3 变异株 NZ2 (Chooi et al., 2013b); 阿尔巴利亚分离物 GLRaV-7-Alb (Jelkmann et al., 2012); 葡萄扇叶病毒 (*Grapevine fan*

leaf virus, GFLV) 南非分离物 GFLV-SAPCS3 和 GFLV-SACH44 (Lamprecht et al., 2012, 2013)。

一些已知葡萄病毒在部分国家或地区首次报道: GLRaV-2 和葡萄 B 病毒 (*Grapevine virus B*, GVB) 在克罗地亚; GLRaV-4 和 GLRaV-5 在中国和西班牙; GLRaV-5 在土耳其和葡萄牙; GLRaV-4、-5、-7、-9 和葡萄西拉病毒 - 1 (GSyV-1) 在智利; GSyV-1 在美国华盛顿州、意大利和法国; 南芥菜花叶病毒 (*Arabidopsis mosaic virus*, ArMV) 在西班牙; 葡萄 E 病毒 (*Grapevine virus E*, GVE) 在南非和中国; 葡萄斑点病毒 (*Grapevine fleck virus*, GFkV) 在美国华盛顿州; GVB 和 GFkV 在印度 (Martelli, 2012; Beuve et al., 2013; Fan et al., 2013; Kumar et al., 2013)。

1.3 葡萄病毒分类新变化

近年葡萄卷叶伴随病毒 (GLRaVs) 分类具有一些新变化, 已有研究将 12 种 GLRaVs 分别归属于葡萄卷叶病毒属 *Ampelovirus* (包括 GLRaV-1、-3、-4、-5、-6、-8、-9、-Pr、-De 和 -Car 等 10 种病毒)、长线形病毒属 *Closterovirus* (GLRaV-2) 和 1 个未确定的属 (GLRaV-7) (Martelli et al., 2012)。通过基因组序列及变异等研究对 GLRaVs 分类提出了一些新的观点: (1) 将 GLRaV-4 相近病毒 (包含 GLRaV-4、-5、-6、-9、-De、-Pr 和 -Car 等 7 种病毒) 划分为葡萄卷叶病毒属中的一个系统进化组 (GLRaV-4LVs 组) 或归为 GLRaV-4 的不同分离物 (Ghanem-Sabanadzovic et al., 2012; Martelli, 2012; Thompson et al., 2012b)。(2) 将 GLRaV-7 与樱桃小果病毒 1 (*Little cherry virus-1*, LChV-1) 和朱蕉病毒 1 (*Cordyline virus-1*, CoV-1) 划分为长线形病毒科一个新的属, 暂命名为 *Velarivirus*, 它们在进化树中位于一个独立的进化分支, 病毒基因组结构、序列和编码蛋白相似但与长线形病毒科其他病毒属不同 (Al Rwahnih et al., 2012a; Jelkmann et al., 2012; Martelli et al., 2012)。(3) 将 GLRaV-8 从葡萄卷叶病毒属中取消, 其序列与数据库中已知病毒没有显著相似性, 推测是葡萄基因组序列中的一部分 (Bertsch et al., 2009)。

2 葡萄病毒基因组及遗传变异

2.1 葡萄卷叶伴随病毒 (GLRaVs)

葡萄卷叶病是葡萄上发生最普遍的病毒病害, 其病原包括 GLRaV-1 ~ 9、-Pr、-De、-Car 等 12 种 GLRaVs。近年来持续开展了 GLRaVs 的基因组结构、功能和遗传变异研究。

(1) GLRaV-1: 美国 34 个 GLRaV-1 分离物基于 4 个基因序列分为 3 个系统进化分支, 但仅基于其中 2 个基因时却分为 2 个分支, 推断在一些基因间可能存在重组 (Alabi et al., 2011); 18 个斯洛伐克 GLRaV-1 分离物分为 2 个组 (Predajna et al., 2013); GLRaV-1 河北、辽宁分离物与已报道的巴西、伊朗和澳大利亚分离物分为 3 组 (刘命华 等, 2012)。

(2) GLRaV-2: 美国西北部分离物被分为 6 个分支 (Jarugula et al., 2010), Bertazzon 等 (2010) 基于所有分离物全序列将 GLRaV-2 分为 5 个分支, 16 个地理起源的 GLRaV-2 分离物基于 *cp* 基因也分成 5 个分支, 中国四川和湖北分离物均位于 I 组 (王建辉 等, 2013)。

(3) GLRaV-3: 是葡萄卷叶伴随病毒中发生最普遍的一种病毒, 原 3 个变异组群 (I 组、II 组和 III 组), 近几年越来越多的分离物出现了更多进化分支, 进一步显示出 GLRaV-3 发生的普遍性及其种群的复杂性。南非分离物分为 3 个变异组, 世界其他地区分离物另外聚为 2 或 3 个变异组, 检测样品大多为 II 组, 2 个新的南非株系 GH11 和 GH30 聚在一个独立的亚组 VI (Jooste et al., 2010, 2011; Bester et al., 2012b); 葡萄牙 174 个分离物分为 5 个组, 其中 3 组与 I 组、II 组和 III 组一致, 另外两组中, 一个与智利变异体一致, 一个为只包含葡萄牙变异体的新组 (Gouveia et al., 2011);

美国加利福尼亚州纳帕谷不同分离物被分为 4~7 组 (Sharma et al., 2011; Wang et al., 2011), 一个新的变异体与南非 (GH11) 和新西兰 (NZ-1) 分离物聚为最紧密的一组 (Seah et al., 2012); 印度赤霞珠上 GLRaV-3 新分离物与其他分离物均不同 (Kumar et al., 2012); 新西兰变异株 NZ1-B 和 NZ2 与已报道的 GLRaV-3 核苷酸序列差异性大于 20%, NZ1-B 是 NZ-1 的一个变异体, NZ2 是一个新的变异株 (Chooi et al., 2013b); GLRaV-3 在中国广泛分布, Liu 等 (2013) 报道 19 个省的 249 份葡萄样品中 GLRaV-3 检出率为 100%。Farooq 等 (2013) 基于 *cp* 基因序列将 16 个中国分离物分为 4 个组, 其中包括两个由重组导致的新亚组 (1B 和 3B), 而 Liu 等 (2013) 的 153 个中国分离物共分为 5 个进化组, 进一步丰富了 GLRaV-3 中国分离物遗传组群。Fei 等 (2013) 报道了迄今为止基因组 RNA 最大的 GLRaV-3 分离物 (中国 LN 分离物), 其与分离物 PL-20 一起位于第 3 组; Gouveia 和 Nolasco (2012) 首次报道的 GLRaV-3 RNA 沉默抑制子 p19.7 蛋白抑制活性在不同变异体间存在差异, 这可能与氨基酸替代突变有关。

(4) GLRaV-4LVs: 葡萄卷叶伴随病毒属中包含一类相近的病毒, 即 GLRaV-4 相近病毒组 (GLRaV-4LVs), 目前包含 GLRaV-4、-5、-6、-9、-De、-Pr 和 -Car 等 7 种病毒 (Thompson et al., 2012b)。15 个葡萄牙 GLRaV-5 分离物分为 8 个分支 (Esteves et al., 2012), 法国 GLRaV-5 分离物基因组结构与 GLRaV-4LV 组一致并且聚为一个紧密组群。从 ‘Estellat’ 葡萄上获得的 GLRaV-4 和 GLRaV-6 始终与 GLRaV-5、-9 和 -Pr 组成一个亚组, 病毒间的遗传距离甚至不比其他长线形病毒的种内多样性更大, 部分纯化的 GLRaVs-4、-5、-6 和 -9 只与同源的单抗血清反应, 但均能被 GLRaV-5 和 GLRaV-9 的多抗血清识别。因此多项研究认为应将这几种病毒划分为一个系统进化组或归为 GLRaV-4 的不同分离物 (Ghanem-Sabanadzovic et al., 2012; Martelli, 2012; Thompson et al., 2012b)。

(5) GLRaV-7: 目前在多个国家和地区均有分布, 但仅获得美国 (Swi) (Al Rwahnih et al., 2012a) 和阿尔巴利亚分离物 (Alb) (Jelkmann et al., 2012) 基因组全序列, 以及 1 个日本分离物 (Ru) 长 7 726 nt 的部分基因组序列 (Ito et al., 2013)。2013 年中国首次报道 GLRaV-7 (Lyu et al., 2013), 随后发现该病毒在中国葡萄主产区普遍分布, 从 13 个省的 213 份葡萄样品中有 40.4% 检出 GLRaV-7, 带毒样品包含 50 多个品种, 部分主栽品种带毒率高达 50%~100% (Lyu et al., 2014)。基于 *p61* 基因序列这些分离物被分为 3 组, 绝大多数中国分离物 (51 个) 与 Alb 分离物聚在 I 组, 剩余两个中国分离物与 Swi 为 II 组, 日本分离物 Ru 单独为第 III 组 (Lyu et al., 2014)。

2.2 葡萄病毒属病毒

葡萄病毒属 (*Vitivirus*) 为近年新确立的一个病毒属, 目前包含葡萄病毒 A、B、D、E 和 F (*Grapevine virus A*、*B*、*D*、*E* 和 *F*, GVA、GVB、GVD、GVE 和 GVF) 共 5 种病毒 (Martelli, 2012), 为葡萄皱木复合病病原, 分别引起克勃茎沟病、栓皮病等病害。原暂定种葡萄 C 病毒 (*Grapevine virus C*, GVC) 与 GLRaV-2 是同一种病毒, 从该属中取消 (du Preez et al., 2011)。GVA 是葡萄病毒属的代表种, 引起克勃茎沟病并与南非西拉葡萄衰退病有关。南非 GVA 分离物分为 3 个变异体组 (I 组、II 组和 III 组)。Goszczynski 和 Habili (2012) 在澳大利亚和美国表现西拉衰退病的葡萄植株上检测到了 GVA, 为 II 组变异体类型, 还发现了变异最大的 GVA III 组成员, 这些变异体与西拉衰退病无关, 但却在感病植株中频繁与 II 组成员复合侵染。12 个中国辽宁 GVA 分离物与已报道的 GVA I 组亲缘关系最近, 多个样品存在不同变异体类型的复合侵染。绝大多数变异体聚集在 GVA I 组分支, 推测为优势序列 (任芳 等, 2012)。中国四川不同欧美品种上分离的 5 个 GVA 分离物之间遗传差异较大, 分别位于 4 个系统进化组 (王建辉 等, 2013); 表现栓皮病症状的 LN33 葡萄被两种 GVB 变异体复合侵染, 而不表现症状的植株只被一种变异体侵染 (Goszczynski, 2010); 美国华盛顿州 ‘赤霞珠’ 上新报道一个 GVE 全基因组序列, 与南非和日本的 GVE 分离物全基因组结构相同, 与

南非西拉葡萄上分离物的序列相似性高于日本 ‘Aki Queen’ 分离物 (Alabi et al., 2013)。

2.3 葡萄扇叶病毒及其卫星

GFLV 隶属线虫传多面体病毒属 (*Nepovirus*)。美国加利福尼亚部分分离物在 $1E^{Pol}$ 、 $2A^{HP}$ 和 $2B^{MP}$ 等基因位点产生种内重组以及 GFLV 与 ArMV 的种间重组, 其中 $2C^{CP}$ 基因位点重组率最高 (Oliver et al., 2010); 新的南非分离物 GFLV-SAPCS3 与法国分离物 GFLV-F13 同源性最高, 与 GFLV-GHu 和 ArMV 的亲缘关系也比其他 GFLV 更近, 可能由 GFLV-F13-type 和 ArMV-Ta-type 重组产生 (Lamprecht et al., 2012)。另一南非分离物 GFLV-SACH44 与 GFLV-SAPCS3 同源性最近, 其次为法国分离物 GFLV-F13 (Lamprecht et al., 2013); 伊朗 GFLV 分离物 $2A^{HP}$ 基因与已报道分离物序列同源性为 82%~86%, 聚为一个单独的进化分支, 其变异也较大。不同国家或地区种群间多存在明显差异, 在 50 个分离物中检测到 11 个重组发生。GFLV 这种地理种群多样性可能是由于寄主适应性、重组以及种植者人为因素等所致 (Sokhandan-Bashir et al., 2012; Sokhandan-Bashir & Melcher, 2012)。

此前有关葡萄病毒卫星的研究不多, 2013 年确定了两个 GFLV 分离物的卫星 RNA (satRNA) 序列: 南非分离物 GFLV-SACH44 卫星 RNA, 全长 1104 nt, 与南非分离物 GFLV-SAPCS3 satRNA 同源性最近, 其次与 ArMV satRNA 的同源性比与 GFLV-F13 satRNA 更近。satRNA 与两种 GFLV 共同接种能成功侵染, 但与 ArMV-NW 共同接种则没有侵染性 (Lamprecht et al., 2013); 另一种是 GFLV 大卫星 RNAs (B 型 satRNAs), 与 ArMV NW 和 J86 株系 satRNAs 的相似性最高, 可能源于亚组 A 线虫传多面体病毒与一个未知 RNA 序列在 5' 端区域的重组。目前认为该卫星对病毒积累和在草本寄主昆诺藜上的症状表达没有明显作用 (Gottula et al., 2013)。

2.4 其他葡萄病毒

沙地葡萄茎痘相关病毒 (*Grapevine rupestris stem pitting-associated virus*, GRSPaV) 为 β 线形病毒科 (Betaflexiviridae) 凹陷病毒属 (*Foveavirus*) 的正义单链 RNA 病毒, 在全世界鲜食和酿酒葡萄上多有分布, 由一个巨大的序列变异群体组成 (Meng & Li, 2010)。美国西北太平洋葡萄园的 GRSPaV 基因组遗传变异性较大, 分布在全球 4 个进化组中, 不存在地理聚集且不同进化组间还存在重组 (Alabi et al., 2010); 在意大利 ‘Moscato Giallo’ 葡萄上分离到一个新的分离物 GRSPaV-MG, 与 GRSPaV-SG1 亲缘关系最近 (Morelli et al., 2011); Beuve 等 (2013) 在西拉无性系中检测到 GRSPaV, 但植株对西拉衰退病的敏感度与 GRSPaV 序列变异没有显著相关性, 因此 GRSPaV 不是西拉衰退病的直接病原, 该病害的病原还有待进一步鉴定。GRSPaV 还与沙地葡萄茎痘病和脉坏死症状有关, Meng 等 (2013) 首次构建了 GRSPaV cDNA 全长侵染性克隆, 对葡萄和本氏烟均具有侵染性, 将为进一步研究 GRSPaV 及其他相关病毒的复制机制等提供依据。

葡萄畸形病毒 (*Grapevine deformation virus*, GDefV) 为豇豆镶嵌病毒科 (Secoviridae) 豇豆镶嵌病毒亚科 (Comovirinae) 线虫传多面体病毒属亚组 A 成员, RNA 1 链仅包含一个 ORF, 编码一个大小为 252 kD 的多肽 (p1), 氨基酸序列与 GFLV 和 ArMV 相似性最高。GDefV RNA2 存在一个由 GFLV 和 ArMV 重组产生的嵌合结构, 表明 GDefV 起源于 GFLV 和 ArMV 的种间重组 (Elbeaino et al., 2012)。

葡萄安那托利亚环斑病毒 (*Grapevine Anatolian ringspot virus*, GARSV) 为线虫传播多面体病毒属亚组 B 成员, 此前仅报道了一个匈牙利分离物全序列, 2012 年新确定了意大利 ‘Kizlar Tahtasi’ 葡萄上 GARSV RNA1 全序列, 包含一个大的 ORF, 编码从 1A 到 1E 的蛋白, 与 TBRV 和 BRSV 氨基酸序列同源性最高 (Digiaro et al., 2012)。

葡萄 DNA 病毒: 双链 DNA 病毒目前仅报道了 GVCV, 从美国中西部地区表现脉明和衰退症状的欧亚种葡萄和杂交葡萄品种上分离得到, 其与花椰菜花叶病毒科 (Caulimoviridae) 杆状 DNA 病

病毒属 (*Badnavirus*) 病毒的基因组一致, 序列同源性最高 (Zhang et al., 2011); 单链 DNA 病毒目前已报道 3 种: GCFaV、GRBaV 和 GRLaV。GCFaV 从美国纽约品丽珠上分离到, 基因组大小为 3 206 nt, 与双生病毒亲缘关系最近, 比双生病毒基因组大 4%, 全序列同源性仅为 50%, 但具有双生病毒共有的保守九核苷酸序列, 基因组双向转录, 病毒链和互补链分别编码 3 个 ORFs, 这些特点与双生病毒科成员类似, 但又与双生病毒科已有 4 个属病毒不同, 位于一个独立的进化分支 (Krenz et al., 2012)。GRBaV 和 GRLaV 与 GCFaV 相近, 它们与双生病毒科中其他病毒基因组特征不同, 代表了一个新的进化组 (Al Rwahnih et al., 2013; Poojari et al., 2013)。

3 传毒介体

3.1 粉蚧

粉蚧是 GLRaVs 的传毒介体, 已知有 10 种粉蚧可作为卷叶病毒的传播介体。粉蚧与 GLRaVs 之间的传播不具有专一性, 例如不同种的粉蚧均可传播 GLRaV-3, 而一种粉蚧即可传播 5 种卷叶病毒 (Tsai et al., 2010), 在美国 GLRaV-3 和 GLRaV-1 常被一种虫混合吸食 (Fuchs et al., 2009)。绵粉蚧 (*Phenacoccus aceris*) 是粉蚧中较为重要的一种, 可传播 GLRaV-1、-3、-4、-5、-6、-9、GVA 和 GVB, 不能传播 GLRaV-7。其 1 龄若虫是传播 GLRaV-1、-3 和 GVA 效率最高的时期 (Tsai et al., 2010; Le Maguet et al., 2012)。据报道, 法国勃艮第葡萄园中绵粉蚧分布与 GLRaV-1 感病植株间存在显著统计学相关性, 是 GLRaV-1 快速蔓延的主要因素 (Le Maguet et al., 2013)。美国华盛顿康科特葡萄园中的主要粉蚧种类是海粉蚧 (*Pseudococcus maritimus*), 它既是果实串上的直接害虫之一, 也是 GLRaVs 的传播介体 (Bahder et al., 2013)。

了解介体昆虫传毒特性及影响因素等有利于掌握病害传播规律并进行相应的防治。电子监控及病毒检测研究发现, 长尾粉蚧获毒 GLRaV-3 一般发生在获毒周期 24 ~ 72 h 内, 韧皮部取食至少 1.8 h 后 (Sandanayaka et al., 2013)。多种生物和非生物因素都可能影响介体传播效率, 如介体昆虫和寄主组织偏好性会影响获毒率和接种率。而 Tsai 等 (2011) 研究认为不同植株部位对粉蚧获毒和传毒没有显著影响, 可能是因为组织中病毒种群本身没有差异。但田间 GLRaV-3 随生长季节变化及在植株部位间的传递与粉蚧类似, 病毒与介体昆虫这种空间和时间动态变化的一致性将增加 GLRaV-3 在春末和夏初的传播风险。Bahder 等 (2013) 研发出一种携带海粉蚧信息素诱饵的诱器, 可比目测调查更快速地监测海粉蚧, 从而提供用于确定治理决策的物候期数据。

3.2 线虫

葡萄上寄生的有害线虫可在植株上形成虫瘿并造成葡萄根系的严重损害, 同时还可传播病毒。线虫传播葡萄病毒具有特异性, 如 GFLV 由剑线虫 (*Xiphinema index*) 特异性传播, ArMV 由裂尾剑线虫 (*X. diversicaudatum*) 传播。GFLV CP 蛋白携带了有关特异性传播的决定因子, 其 betaB-betaC 环上的 11 个氨基酸为剑线虫传播所必需, ArMV CP 也携带了线虫特异性传播病毒的决定因子 (Marmonier et al., 2010; Schellenberger et al., 2010)。Schellenberger 等 (2010, 2011) 首次从结构上提出了植物病毒与介体线虫之间的相互作用机制, 发现突变株系 GFLV-TD 难于被线虫传播是由于 CP 中 297 位点由甘氨酸突变成天冬氨酸所致, 这一突变与外壳外表面上一个环状结构对应, 该环状结构包含一个病毒传播决定因子, 是剑线虫传播 GFLV 的配体结合位点。

防治剑线虫是控制葡萄扇叶病危害的一个重要环节, 生物防治方法控制线虫及病毒危害具有广阔应用前景。菌根诱导可引起葡萄对剑线虫的局部和系统防御, 减少葡萄砧木 SO4 根上的虫瘿以及

周围土壤中的线虫数量, 抑制效果随时间增强。高通量表达分析表明在菌根诱导控制剑线虫过程中出现了植物基因表达上调 (Hao et al., 2012)。还可通过间作植物防控剑线虫, 温室种植白羽扇豆、万寿菊等可显著减少剑线虫数量, 田间葡萄园中万寿菊和野豌豆可作为减少剑线虫数量的覆盖植物 (Villate et al., 2012)。

国际上对介体传毒特性和传毒条件等开展了大量研究, 但中国还未见葡萄病毒传毒介体的报道。

4 葡萄病毒与寄主互作

葡萄病毒与寄主互作研究有助于深入了解病毒危害和寄主防御机制等相关信息, 为寻找寄主抗病因子和提高病毒防控水平提供理论依据。病毒侵染对葡萄产量和性状表现会产生有害影响, 代谢和基因水平也会引起相应变化。例如: GLRaV-1、GVA 和 RSPaV 侵染影响葡萄果皮中有关抗氧化的蛋白以及果肉中有关细胞结构代谢的蛋白 (Giribaldi et al., 2011); GLRaV-3 侵染改变葡萄花青素合成和糖代谢基因表达, 阻断了正常的果实成熟进程 (Vega et al., 2011); 感染 GFLV 增加过氧化物自由基和过氧化氢含量及歧化酶活性, 使植株后期不能抵抗 GFLV 扩散, 但能更好地抵抗病原物诱导的氧化压力 (Sgherri et al., 2013); GRSPaV 侵染引起葡萄生理效率、产量和果实糖分含量下降及一些转录改变 (Gambino et al., 2012); 感染 GLRaV-2 的葡萄中筛选到 8 种寄主因子与 GLRaV-2 基因沉默抑制子 p24 互作, 在植物对逆境胁迫的反应中起着重要作用 (费菲 等, 2011)。

小 RNA 是一类长 21 ~ 25 nt 的小分子 RNA (miRNA 和 siRNA), 参与基因表达调控, 在生物的生长发育和抵御外来感染等过程中发挥重要作用。近年鉴定了 GRSPaV 和 GFkV 病毒衍生 vsiRNAs, 多为 21 nt 或 22 nt 大小, 在病毒基因组 RNA 中不连续分布, 少部分的 vsiRNAs 参与抗病毒反应 (Pantaleo et al., 2010; Miozzi et al., 2013)。病毒侵染诱导的 miRNAs 具有调控葡萄防御反应、调节有关营养代谢的基因表达等功能。Singh 等 (2012) 鉴定了 54 个新 miRNAs, 有 6 个仅在病毒侵染的样品中检测到。在卷叶病症状的 ‘Merlot’ 葡萄中小 RNA 与 GLRaV-3、HpSVd、GYSVd-1 和 GYSVd-2 具有特异性, 而无症状植株中小 RNA 则仅与 HpSVd、GYSVd-1 和 GYSVd-2 具有特异性关系。除已经在葡萄上确定的 135 个保守的 microRNAs (Vvi-miRs) 外, Alabi 等 (2012) 从有症状和无症状葡萄中分离鉴定到 10 个新 Vvi-miRs, 个别成员在有症状和无症状叶片中存在差异表达。

5 葡萄病毒检测技术

5.1 酶联免疫 (ELISA) 检测

GLRaV-1 常规检测主要采用双抗夹心 ELISA 和 RT-PCR, 但仍存在漏检情况。为改进 GLRaV-1 血清学检测技术, 获得可识别所有已知 CP 变异体的特异性抗体, Esteves 等 (2013) 针对 83 个病毒 CP 序列确定了一段具有适合抗原簇的保守区域, 合成多肽并制备抗体, 可成功检测所有阳性样品。利用原核表达技术诱导表达 GLRaV-3、GRSPaV 等病毒 CP 蛋白, 分别制备出相应的特异抗血清, 可特异性检测田间样品 (Basso et al., 2010; 徐章逸 等, 2010; 王克双 等, 2012)。Cogotzi 等 (2009) 利用原核表达方法制备出一种检测灵敏度、特异性和稳定性堪比商业化试剂盒的 GLRaV-3 CP 抗体, 检测灵敏度达 0.1 ng。

在 ELISA 基础上构建了一些新的检测技术, 如抗体芯片, 其与碱性磷酸酯酶标记的病毒提取物孵育检测 ArMV 和 GFLV, 灵敏度与传统 ELISA 相当 (Abdullahi & Rott, 2009); 一种细菌磁力珠和 DAS-ELISA 结合的荧光免疫分析方法可检测 GFLV, 检测浓度可低至 1×10^6 稀释倍数, 灵敏度

比传统 ELISA 高 6 个数量级 (Chen et al., 2009)。

5.2 常规 RT-PCR 检测

RT-PCR 检测技术是目前用于葡萄病毒检测的常用分子检测技术,近年来已建立了多种葡萄病毒 RT-PCR 检测技术并广泛应用:建立了特异性检测 GLRaV-1、-2、-3、-4、-5 和 -7 等卷叶病毒的 RT-PCR 技术(裴光前等, 2011; 王仲等, 2012);为减少可能由序列变异引起的假阴性, Chooi 等 (2013a) 根据一系列不同的 *HSP70* 基因设计了一对 GLRaV-3 通用引物,还设计了可同时检测 GLRaV-3 变异组 1、2、6 和组外变异体 NZ2 的特异性引物;建立了能准确、可靠地检测 GVB 的 RT-PCR 技术(杨相昆等, 2010); Liebenberg 等 (2009) 利用 RT-PCR、双抗夹心 ELISA 和免疫凝聚试纸条方法检测 GFLV 发现,直接单管 RT-PCR 检测效果最好;建立了 GFkV RT-PCR 检测技术(卓娜等, 2011)。

5.3 多重 RT-PCR 检测

葡萄中常存在多种病毒的重复侵染,建立多重 RT-PCR 技术同时检测多种病毒可显著提高病毒检测效率。裴光前等 (2010) 建立了同时检测 GLRaV-1、GLRaV-3、GLRaV-4 和 GLRaV-5 的多重 RT-PCR 技术体系。范旭东等 (2012) 建立了能同时检测 GLRaV-3、GRSPaV、GVB 和 GVA 的多重 RT-PCR 方法,其与单一 RT-PCR 检测灵敏度基本一致。

5.4 定量 RT-PCR 检测

近年广泛开展了葡萄病毒定量 RT-PCR (quantitative RT-PCR, qRT-PCR) 检测研究,取得了较大进展(范旭东等, 2014)。根据 *RdRp*、*Hsp70h*、*cp* 等基因设计引物,分别建立了用于 GLRaV-1、-3、-7, GVA, GFLV 和 GFkV 的定量 RT-PCR 检测方法,可同时检测并鉴别 4 个南非 GLRaV-3 变异体组 (I、II、III 和 IV),检测 GLRaV-7 时比常规 RT-PCR 方法更灵敏 (Pacífico et al., 2011; Al Rwahnih et al., 2012b; Bester et al., 2012a)。TaqMan 探针法 qRT-PCR 可检测低至 10 个基因组拷贝的 GFLV,灵敏度比常规 ELISA 技术高出 1 000 倍 (Čepin et al., 2010),最少可从 100 μ g 葡萄组织中检测到 GFkV (卓娜等, 2011)。Osman 等 (2012) 对葡萄病毒定量 PCR 检测进行了样本处理和检测体系的优化研究。基于磁珠技术的 RNA 提取方法优于其他方法,用组织破碎仪使葡萄组织彻底均质化、在 cDNA 合成前对纯化 RNA 进行 DNA 酶消化等可以改进病毒检测效果。

5.5 多重定量 RT-PCR (qRT-PCR) 检测

将多重 PCR 与实时荧光定量 PCR 结合,建立多重 qRT-PCR 是近年葡萄病毒检测技术研究的热点之一,在病毒检测、基因表达及功能分析等研究中具有重要作用。多重 qRT-PCR 可针对同属内的不同种病毒,如可同时检测 GVA、GVB 和 GVD 的多重 qRT-PCR 方法,节时省力且检测范围、检测特异性及病毒含量与单重 qRT-PCR 没有显著差异,比使用简并引物的传统多重 RT-PCR 也更加灵敏有效(复合侵染检出率分别为 95.83% 和 77.08%) (Osman et al., 2013);多重 qRT-PCR 也可检测不同属的葡萄病毒,已建立同时检测葡萄上主要 RNA 病毒 (GFLV、ArMV、GLRaV1、GLRaV3 和 GFkV) 的多重 qRT-PCR 方法,检测植物提取物有效稀释倍数至少达 10 000 倍,检测灵敏度高于 ELISA (López-Fabuel et al., 2013)。

5.6 其他检测方法

基因芯片检测技术是在多种病毒快速检测中具有应用潜力的一项新型分子技术,分别报道了可同时检测 GLRaV-1、-2、-3、-4、-7、-9, GVA, GVB, GFLV 和 GRSPaV (Engel et al., 2010);检

测主要 GLRaVs (Thompson et al., 2012a); 同时检测大多葡萄病毒种类 (38 种葡萄病毒) (Thompson et al., 2014) 的芯片检测技术, 田间样品检测验证可达到与常规 RT-PCR 和 ELISA 相近的结果。Abdullahi 等 (2011) 研究出一种不需要模板扩增即可检测的寡核苷酸芯片检测方法。采用 cDNA 荧光标记和杂交, 利用 27 ~ 75 nt 的寡核苷酸探针, 可检测线虫传播的多面体病毒、葡萄病毒属病毒、葡萄卷叶伴随病毒等多种葡萄病毒。

逆转录环介导等温扩增 (RT-Loop-Mediated Isothermal Amplification, RT-LAMP) 检测技术是一种新颖的恒温核酸扩增方法, 已针对 GLRaV-3 和 GRSPaV 等建立了 RT-LAMP 检测体系 (范旭东 等, 2014)。目标病毒基因在 60 °C 等温条件下 2 h 反应扩增, 使用染料指示剂通过观察颜色变化可直接判断阳性结果。将 50 个样品混在一起依然可以检测出其中唯一 1 个 GLRaV-3 阳性样品, ELISA、巢式 PCR 及 RT-LAMP 几种方法对比, RT-LAMP 灵敏度与巢式 PCR 相近 (Walsh & Pietersen, 2013); 对 GRSPaV RNA 最大检测稀释倍数达 10^4 , 比 RT-PCR 方法更为灵敏 (范旭东 等, 2013)。

高通量测序技术是对传统测序的革命性改变, 一次对几十万到几百万条 DNA 进行序列测定, 可对一个物种的转录组和基因组进行全面分析, 近年来在葡萄病毒研究中得到较多应用, 可同时检测一个样品中多种病毒序列。如在意大利叶片褪绿斑驳和畸形症状的‘灰比诺’葡萄上检测出 6 种病毒和类病毒 (Giampetruzzi et al., 2012); 在美国表现和不表现红叶病症状的葡萄上分别检测到 7 种和 5 种病毒和类病毒 (Poojari et al., 2013); 先后发现了 GPGV、GVCV、GVF、GRLaV 和 GRBaV 等新病毒 (Zhang et al., 2011; Al Rwahnih et al., 2012c, 2013; Giampetruzzi et al., 2012; Poojari et al., 2013); 还可进行小 RNA 深测序, 从而研究小 RNA 与病毒及寄主症状间的相关性 (Alabi et al., 2012)。可见在葡萄病毒诊断、基因变异和功能及与寄主互作等研究中高通量测序具有传统分子技术无法比拟的优势, 但由于花费昂贵、样品要求高、数据量巨大且分析难度大等原因其广泛应用受到很大限制。

6 葡萄病毒脱除技术和抗病毒技术

6.1 脱毒

葡萄脱毒技术主要包括茎尖培养、热处理、化学处理、体细胞胚再生、电疗法和超低温脱毒等 (胡国君 等, 2013a)。目前采用较多的是热处理结合茎尖培养, 可脱除 ‘Mantilaria’ 和 ‘Prevezaniko’ 葡萄上的 GLRaV-Pr 和 GRSPaV (Maliogka et al., 2009); 脱除 Kober 5BB 上单独侵染的 GVA、GFLV、GLRaV-1 和 GLRaV-3, 脱毒率 24.7% ~ 70.2% (Panattoni & Triolo, 2010); 脱除 GLRaV-1、GFkV、GFLV、GLRaV-2 和 GRSPaV, 脱毒率 61.5% ~ 81.8% (张尊平 等, 2013)。

抗病毒药剂在一些病毒脱除中可能达到比热处理更好的效果, 如噻唑羧胺核苷 (TR) 或利巴韦林 (RBV) 脱除 GLRaV-1, 神经氨酸酶抑制剂 (oseltamivir) 和嘌呤生物合成抑制剂 (6-thioguanine) 脱除 GLRaV-3, 均获得比热处理更好的效果 (Panattoni et al., 2011); 适宜浓度的 TR、RBV 和霉酚酸 (MPA) 脱除 GRSPaV 效率最高 (Skiada et al., 2013); RBV 处理试管苗可脱除 GFkV、GRSPaV、GVA、GLRaV-1、-2、-3、-6 等 (胡国君 等, 2013b)。

通过体细胞胚再生方法脱除了 ‘达米娜’ 上的 ArMV (Borroto-Fernandez et al., 2009) 和 3 个意大利葡萄品种上的 GFLV (Gambino et al., 2009); 采用超低温方法脱除 ‘Black’ 葡萄中的 GVA, 脱毒率为 42% (Bayati et al., 2011); 电疗法最初脱除 GFLV 效果并不理想, 但近年来用于脱除 GLRaV-1 和 GLRaV-3 的效率达到了 33.33% ~ 66.66%, 脱除 ‘Black’ 葡萄上 GVA 的效率为 40% (Guta et al., 2010; Bayati et al., 2011)。

6.2 抗病毒技术

抗病毒转基因是培育抗病毒葡萄的一种有效途径,迄今已获得 10 余个抗病毒转基因葡萄品种,转入基因主要包括 GLRaV-2、-3、GVA、GVB、GFLV 和 GCMV 等病毒的 *cp* 或 *mp* 基因,转基因植株表现出不同程度的抗病毒效果(任芳等, 2013)。对 GFLV *cp* 等转基因植株的研究表明病毒抗性产生机理与转录后基因沉默有关(Gambino et al., 2010)。

RNA 干扰(RNAi)介导的植物抗病毒研究是近年来广泛关注的一项植物抗病毒基因工程策略。利用 RNAi 策略已成功获得具有 GVA 或 GFLV 抗性的转基因烟草,推测病毒抗性是转入基因诱导的转录后基因沉默所致(Brumin et al., 2009; Winterhagen et al., 2009)。为了更好地利用 RNA 干扰机制进行葡萄抗病毒研究,还构建了 GVA MP 基因片段干扰载体(丁艳杰等, 2011)、GVA 来源的 VIGS 载体(Muruganantham et al., 2009)、在葡萄中可成功表达以 GFLV *cp* 基因为靶标的 amiRNA 载体(Jelly et al., 2012),为进一步将 RNA 干扰载体应用于葡萄抗病毒基因工程奠定了基础。

7 展望

葡萄由于长期无性繁殖等原因使得病毒不断传播蔓延并常伴随多种病毒复合侵染,给防控带来很大困难。培育抗病品种和建立规范的无病毒苗木繁育体系是防控葡萄病毒病的根本途径。纵观近年葡萄病毒研究现状,在葡萄病毒鉴定、基因组学、遗传变异及检测技术等方面取得了很多成果,但对于病毒,特别是新病毒与病害症状的关系以及致病机理还不甚清楚;病毒检测技术多处处在试验研发阶段,还需要建立更多可商品化的批量检测技术和产品;目前已有葡萄无病毒苗木的相关产品标准和检测技术规程,但还需要在生产中严格执行并不断建立和完善无病毒苗木繁育体系,真正从源头上控制病毒危害。中国于 20 世纪 80 年代中期开始开展了葡萄病毒病研究并取得一定进展,但在研究和防控方面还存在一些问题和不足:研究内容不系统,对基因组功能、致病机理等研究不深入;检测技术重复性差,缺乏有效的商品化检测试剂盒;抗病性研究进展缓慢;葡萄苗木市场紊乱,缺乏规范的无病毒苗木繁育体系等。在防控上应建立高效、快速、简便的病毒检测技术手段,加强对繁殖材料的监督检验和各项标准规程的贯彻执行力度,管理和规范葡萄苗木生产市场,尽可能实现无毒化栽培,同时加强抗性砧木培育和抗病品种选育。

References

- Abdullahi I, Gryshan Y, Rott M. 2011. Amplification-free detection of grapevine viruses using an oligonucleotide microarray. *Journal of Virological Methods*, 178 (1-2): 1-15.
- Abdullahi I, Rott M. 2009. Microarray immunoassay for the detection of grapevine and tree fruit viruses. *Journal of Virological Methods*, 160 (1-2): 90-100.
- Alabi O J, Al Rwahnih M, Karthikeyan G, Poojari S, Fuchs M, Rowhani A, Rayapati N. 2011. *Grapevine leafroll-associated virus 1* occurs as genetically diverse populations. *Phytopathology*, 101 (12): 1446-1456.
- Alabi O J, Martin R R, Naidu R A. 2010. Sequence diversity, population genetics and potential recombination events in grapevine rupestris stem pitting-associated virus in Pacific North-West vineyards. *Journal of General Virology*, 91 (1): 265-276.
- Alabi O J, Poojari S, Sarver K, Martin R R, Naidu R A. 2013. Complete genome sequence analysis of an American isolate of *Grapevine virus E*. *Virus Genes*, 46 (3): 563-566.
- 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 (9): 1060-1076.
- 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 (1): 102-110.

- Al Rwahnih M, Dave A, Anderson M M, Rowhani A, Uyemoto J K, Sudarshana M R. 2013. Association of a DNA virus with grapevines affected by red blotch disease in California. *Phytopathology*, 103 (10): 1069 – 1076.
- Al Rwahnih M, Dolja V V, Daubert S, Koonin E V, Rowhani A. 2012a. Genomic and biological analysis of *Grapevine leafroll-associated virus 7* reveals a possible new genus within the family *Closteroviridae*. *Virus Research*, 163 (1): 302 – 309.
- Al Rwahnih M, Osman F, Sudarshana M, Uyemoto J, Minafra A, Saldarelli P, Martelli G, Rowhani A. 2012b. Detection of *Grapevine leafroll-associated virus 7* using real time qRT-PCR and conventional RT-PCR. *Journal of Virological Methods*, 179 (2): 383 – 389.
- Al Rwahnih M, Sudarshana M R, Uyemoto J K, Rowhani A. 2012c. Complete genome sequence of a novel vitivirus isolated from grapevine. *Journal of Virology*, 86 (17): 9545.
- Bahder B W, Naidu R A, Daane K M, Millar J G, Walsh D B. 2013. Pheromone-based monitoring of *Pseudococcus maritimus* (Hemiptera: Pseudococcidae) populations in concord grape vineyards. *Journal of Economic Entomology*, 106 (1): 482 – 490.
- Basso M F, Fajardo T V M, Eiras M, Ayub R A, Nickel O. 2010. Production of a polyclonal antiserum using recombinant coat protein of *Rupestris stem pitting-associated virus*. *Ciencia Rural*, 40: 2385 – 2388.
- Bayati S H, Shams-Bakhsh M, Moieni A. 2011. Elimination of *Grapevine Virus A* (GVA) by Cryotherapy and Electrotherapy. *Agr Sci Tech Vol*, 13: 443 – 450.
- Bertazzon N, Borgo M, Angelini E. 2010. The complete genome sequence of the BD variant of *Grapevine leafroll-associated virus 2*. *Archives of Virology*, 155 (10): 1717 – 1719.
- Bertsch C, Beuve M, Dolja V V, Wirth M, Pelsy F, Herrbach E, Lemaire O. 2009. Retention of the virus-derived sequences in the nuclear genome of grapevine as a potential pathway to virus resistance. *Biology Direct*, 4: 21.
- Bester R, Jooste A E, Maree H J, Burger J T. 2012a. Real-time RT-PCR high resolution melting curve analysis and multiplex RT-PCR to detect and differentiate *Grapevine leafroll-associated virus 3* variant groups I, II, III and VI. *Virology Journal*, 9 (1): 219.
- Bester R, Maree H J, Burger J T. 2012b. Complete nucleotide sequence of a new strain of *Grapevine leafroll-associated virus 3* in South Africa. *Archives of Virology*, 157 (9): 1815 – 1819.
- Beuve M, Moury B, Spilmont A S, Sempé-Ignatovic L, Hemmer C, Lemaire O. 2013. Viral sanitary status of declining grapevine Syrah clones and genetic diversity of *Grapevine Rupestris stem pitting-associated virus*. *European Journal of Plant Pathology*, 135 (2): 439 – 452.
- Boroto-Fernandez E G, Sommerbauer T, Popowich E, Scharl 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 (1): 171 – 174.
- 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 (3): 331 – 345.
- Čepin U, Aguirre I G, Balažic L, Novak M P, Gruden K, Ravnikar M. 2010. A one-step reverse transcription real-time PCR assay for the detection and quantitation of *Grapevine fanleaf virus*. *Journal of Virological Methods*, 170 (1 – 2): 47 – 56.
- Chen J F, Li Y, Wang Z F, Li J L, Jiang W, Li S H. 2009. High-sensitivity detection of fruit tree viruses using bacterial magnetic particles. *Journal of Integrative Plant Biology*, 51 (4): 409 – 413.
- Chooi K M, Cohen D, Pearson M N. 2013a. Generic and sequence-variant specific molecular assays for the detection of the highly variable *Grapevine leafroll-associated virus 3*. *Journal of Virological Methods*, 189 (1): 20 – 29.
- Chooi K M, Cohen D, Pearson M N. 2013b. Molecular characterisation of two divergent variants of *Grapevine leafroll-associated virus 3* in New Zealand. *Archives of Virology*, 158 (7): 1597 – 1602.
- Cogotzi L, Giampetruzzi A, Nölke G, Orecchia M, Elicio V, Castellano M A, Martelli G P, Fischer R, Schillberg S, Saldarelli P. 2009. An assay for the detection of *Grapevine leafroll-associated virus 3* using a single-chain fragment variable antibody. *Archives of Virology*, 154 (1): 19 – 26.
- Digiario M, Nahdi S, Elbeaino T. 2012. Complete sequence of RNA1 of *Grapevine Anatolian ringspot virus*. *Archives of Virology*, 157 (10): 2013 – 2016.
- Ding Yan-jie, Zhou Zong-shan, Dong Ya-feng, Xu Cheng-nan, Wu Yu-xing, Chi Fu-mei. 2011. Construction of the RNAi vector of GVAMP Gene. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 27 (10): 256 – 259. (in Chinese)
- 丁艳杰, 周宗山, 董雅凤, 徐成楠, 吴玉星, 迟福梅. 2011. 葡萄病毒 AMP 基因 RNA 干扰载体的构建. *中国农学通报*, 27 (10): 256 – 259.
- du Preez J, Stephan D, Mawassi M, Burger J T. 2011. The grapevine-infecting vitiviruses, with particular reference to *Grapevine virus A*. *Archives of Virology*, 156 (9): 1495 – 1503.

- Elbeaino T, Digiaro M, Ghebremeskel S, Martelli G P. 2012. *Grapevine deformation virus*: Completion of the sequence and evidence on its origin from recombination events between *Grapevine fanleaf virus* and *Arabid mosaic virus*. *Virus Research*, 166 (1 - 2): 136 - 140.
- Engel E A, Escobar P F, Rojas L A, Rivera P A, Fiore N, Valenzuela P D T. 2010. A diagnostic oligonucleotide microarray for simultaneous detection of grapevine viruses. *Journal of Virological Methods*, 163 (2): 445 - 451.
- Esteves F, Teixeira Santos M, Eiras-Dias J E, Fonseca F. 2012. Occurrence of *Grapevine leafroll-associated virus 5* in Portugal: Genetic variability and population structure in field-grown grapevines. *Archives of Virology*, 157 (9): 1747 - 1765.
- Esteves F, Teixeira Santos M, Eiras-Dias J E, Fonseca F. 2013. Molecular data mining to improve antibody-based detection of *Grapevine leafroll-associated virus 1* (GLRaV-1). *Journal of Virological Methods*, 194 (1 - 2): 258 - 270.
- Fan Xu-dong, Dong Ya-feng, Zhang Zun-ping, Ren Fang, Hu Guo-jun, Zhou Jun. 2014. Progress on molecular detection of grapevine viruses. *Acta Horticulturae Sinica*, 41 (5): 1009 - 1019. (in Chinese)
- 范旭东, 董雅凤, 张尊平, 任 芳, 胡国君, 周 俊. 2014. 葡萄病毒分子检测技术研究进展. *园艺学报*, 41 (5): 1009 - 1019.
- Fan Xu-dong, Dong Ya-feng, Zhang Zun-ping, Ren Fang, Hu Guo-jun, Zhu Hong-juan. 2013. RT-LAMP assay for detection of *Grapevine rupestris stem pitting-associated virus*. *Acta Phytopathologica Sinica*, 43 (3): 286 - 293. (in Chinese)
- 范旭东, 董雅凤, 张尊平, 任 芳, 胡国君, 朱红娟. 2013. 沙地葡萄茎痘相关病毒的 RT-LAMP 检测方法. *植物病理学报*, 43 (3): 286 - 293.
- Fan Xu-dong, Dong Ya-feng, Zhang Zun-ping, Ren Fang, Li Ya-hui. 2012. Multiplex RT-PCR for simultaneous detection of four grapevine viruses. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (5): 949 - 956. (in Chinese)
- 范旭东, 董雅凤, 张尊平, 任 芳, 李亚惠. 2012. 葡萄 4 种病毒多重 RT-PCR 检测体系的建立. *园艺学报*, 39 (5): 949 - 956.
- Fan X D, Dong Y F, Zhang Z P, Ren F, Hu G J, Zhu H J. 2013. First report of *Grapevine virus E* from China. *Journal of Plant Pathology*, 95 (3): 659 - 668.
- Farooq A B, Ma Y X, Wang Z, Zhuo N, Wen X X, Wang G P, Hong N. 2013. Genetic diversity analyses reveal novel recombination events in *Grapevine leafroll-associated virus 3* in China. *Virus Research*, 171 (1): 15 - 21.
- Fei F, Lyu M D, Li J, Fan Z F, Cheng Y Q. 2013. Complete nucleotide sequence of a Chinese isolate of *Grapevine leafroll-associated virus 3* reveals a 5' UTR of 802 nucleotides. *Virus Genes*, 46 (1): 182 - 185.
- Fei Fei, Liu Ming-hua, Zhou Tao, Fan Zai-feng, Cheng Yu-qin. 2011. Preliminary study on interactions between p24 of *Grapevine leafroll-associated virus 2* and the host by yeast two-hybrid screening. *Acta Phytopathologica Sinica*, 41 (1): 102 - 105. (in Chinese)
- 费 菲, 刘命华, 周 涛, 范在丰, 程玉琴. 2011. 利用酵母双杂交研究葡萄卷叶伴随病毒 2 号 p24 与寄主互作的初步结果. *植物病理学报*, 41 (1): 102 - 105.
- Fuchs M, Marsella-Herrick P, Loeb G M, Martinson T E, Hoch H C. 2009. Diversity of ampeloviruses in mealybug and soft scale vectors and in grapevine hosts from leafroll-affected vineyards. *Phytopathology*, 99 (10): 1177 - 1184.
- Gambino G, Cuzzo D, Fasoli M, Pagliarini 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 defence responses and increased transcription of genes related to photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 63(16): 5919 - 5933.
- Gambino G, Di Matteo D, Gribaudo I. 2009. *Elimination of Grapevine fanleaf virus* from three *Vitis vinifera* cultivars by somatic embryogenesis. *European Journal of Plant Pathology*, 123 (1): 57 - 60.
- Gambino G, Perrone I, Carra A, Chitarra W, Boccacci P, Torello Marinoni D, 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 Res*, 19 (1): 17 - 27.
- Ghanem-Sabanadzovic N A, Sabanadzovic S, Gugerli P, Rowhani A. 2012. Genome organization, serology and phylogeny of *Grapevine leafroll-associated viruses 4 and 6*: Taxonomic implications. *Virus Research*, 163 (1): 120 - 128.
- Ghanem-Sabanadzovic N A, Sabanadzovic S, Uyemoto J K, Golino D, Rowhani A. 2010. A putative new ampelovirus associated with grapevine leafroll disease. *Archives of Virology*, 155 (11): 1871 - 1876.
- Giampetruzzi A, Roumi V, Roberto R, Malossini M, Yoshikawa N, La Notte P, Terlizzi F, Saldarelli P. 2012. A new grapevine virus discovered by deep sequencing of virus- and viroid-derived small RNAs in cv Pinot gris. *Virus Research*, 16 (1): 262 - 268.
- Girgis S M, Bem F P, Dovas C I, Sclavounos A, Avgelis A D, Tsagris M, Katis N, Kyriakopoulou P E. 2009. Characterisation of a novel ilarvirus causing grapevine angular mosaic disease. *European Journal of Plant Pathology*, 125 (2): 203 - 211.
- 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 (1): 306 – 315.
- Goszczynski D E, Habili N. 2012. *Grapevine virus A* variants of group II associated with Shiraz disease in South Africa are present in plants affected by Australian Shiraz disease, and have also been detected in the USA. *Plant Pathology*, 61 (1): 205 – 214.
- Goszczynski D E. 2010. Divergent molecular variants of *Grapevine virus B* (GVB) from corky bark (CB)-affected and CB-negative LN33 hybrid grapevines. *Virus Genes*, 41 (2): 273 – 281.
- Gottula J, Lapato D, Cantilina K, Saito S, Bartlett B, Fuchs M. 2013. Genetic variability, evolution, and biological effects of *Grapevine fanleaf virus* satellite RNAs. *Phytopathology*, 103 (11): 1180 – 1187.
- 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 (1): 237 – 245.
- Gouveia P, Nolasco G. 2012. The p19.7 RNA silencing suppressor from *Grapevine leafroll-associated virus 3* shows different levels of activity across phylogenetic groups. *Virus Genes*, 45 (2): 333 – 339.
- Gouveia P, Santos M T, Eiras-Dias J E, Nolasco G. 2011. Five phylogenetic groups identified in the coat protein gene of *Grapevine leafroll-associated virus 3* obtained from Portuguese grapevine varieties. *Arch Virol*, 156 (3): 413 – 420.
- Guta I C, Buciumeanu E C, Gheorghe R N, Teodorescu A T. 2010. Solutions to eliminate *Grapevine leafroll associated virus* serotype 1 + 3 from *V. vinifera* L. cv. Ranai Magaraci. *Romanian Biotechnological Letters*, 15: 72 – 78.
- Hao Z, Fayolle L, van Tuinen D, Chatagnier O, Li X, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V. 2012. Local and systemic mycorrhiza-induced protection against the ectoparasitic nematode *Xiphinema index* involves priming of defence gene responses in grapevine. *Journal of Experimental Botany*, 63 (10): 3657 – 3672.
- Hu Guo-jun, Dong Ya-feng, Zhang Zun-ping, Fan Xu-dong, Ren Fang, Zhu Hong-juan. 2013a. Research progress on virus elimination techniques of grapevine. *Journal of Fruit Science*, 30 (2): 304 – 310. (in Chinese)
- 胡国君, 董雅凤, 张尊平, 范旭东, 任 芳, 朱红娟. 2013a. 葡萄病毒脱除技术研究进展. *果树学报*, 30 (2): 304 – 310.
- Hu Guo-jun, Dong Ya-feng, Zhang Zun-ping, Fan Xu-dong, Ren Fang, Zhu Hong-juan. 2013b. Primary study on the virus elimination of grapevine by medical antiviral compound. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 41 (6): 607 – 610. (in Chinese)
- 胡国君, 董雅凤, 张尊平, 范旭东, 任 芳, 朱红娟. 2013b. 医用抗病毒剂脱除葡萄病毒的初步研究. *山西农业科学*, 41 (6): 607 – 610.
- Ito T, Nakaune R, Nakano M, Suzuki K. 2013. Novel variants of *Grapevine leafroll-associated virus 4* and *7* detected from a grapevine showing leafroll symptoms. *Archives of Virology*, 158: 273 – 275.
- Jarugula S, Alabi O J, Martin R R, Naidu R A. 2010. Genetic variability of natural populations of *Grapevine leafroll-associated virus 2* in Pacific Northwest vineyards. *Phytopathology*, 100 (7): 698 – 707.
- Jelkmann W, Mikona C, Turturo C, Navarro B, Rott M E, Menzel W, Saldarelli P, Minafra A, Martelli G P. 2012. Molecular characterization and taxonomy of *Grapevine leafroll-associated virus 7*. *Archives of Virology*, 157 (2): 359 – 362.
- Jelly N S, Schellenbaum P, Walter B, Maillot P. 2012. Transient expression of artificial microRNAs targeting *Grapevine fan leaf virus* and evidence for RNA silencing in grapevine somatic embryos. *Transgenic Research*, 21 (6): 1319 – 1327.
- Jooste A E C, Maree H J, Bellstedt D U, Goszczynski D E, Pietersen G, Burger J T. 2010. Three genetic *Grapevine leafroll-associated virus 3* variants identified from South African vineyards show high variability in their 5'UTR. *Archives of Virology*, 155: 1997 – 2006.
- Jooste A E C, Pietersen G, Burger J T. 2011. Distribution of *Grapevine leafroll associated virus-3* variants in South African vineyards. *European Journal of Plant Pathology*, 131 (3): 371 – 381.
- Krenz B, Thompson J R, Fuchs M, Perry K L. 2012. Complete genome sequence of a new circular DNA virus from grapevine. *J Virol*, 86 (14): 7715.
- Kumar S, Baranwal V K, Singh P, Jain R K, Sawant S D, Singh S K. 2012. Letter to the editor: Characterization of a *Grapevine leafroll-associated virus 3* from India showing incongruence in its phylogeny. *Virus Genes*, 45 (1): 195 – 200.
- Kumar S, Singh L, Ferretti L, Barba M, Zaidi A A, Hallan V. 2013. Evidence of *Grapevine leafroll associated virus-1 - 3*, *Grapevine fleck virus* and *Grapevine virus B* occurring in Himachal Pradesh, India. *Indian Journal of Virology*, 24 (1): 66 – 69.
- Lamprecht R L, Maree H J, Stephan D, Burger J T. 2012. Complete nucleotide sequence of a South African isolate of *Grapevine fanleaf virus*. *Virus Genes*, 45 (2): 406 – 410.
- Lamprecht R L, Spaltman M, Stephan D, Wetzel T, Burger J T. 2013. Complete nucleotide sequence of a South African isolate of *Grapevine fanleaf*

- virus* and its associated satellite RNA. *Viruses*, 5 (7): 1815 – 1823.
- Le Maguet J, Beuve M, Herrbach E, Lemaire O. 2012. Transmission of six ampeloviruses and two vitiviruses to grapevine by *Phenacoccus aceris*. *Phytopathology*, 102 (7): 717 – 723.
- Le Maguet J, Fuchs J, Chadœuf J, Beuve M, Herrbach E, Lemaire O. 2013. The role of the mealybug *Phenacoccus aceris* in the spread of *Grapevine leafroll-associated virus-1* (GLRaV-1) in two French vineyards. *European Journal of Plant Pathology*, 135 (2): 415 – 427.
- Liebenberg A, Freeborough M J, Visser C J, Bellstedt D U, Burger J T. 2009. Genetic variability within the coat protein gene of *Grapevine fanleaf virus* isolates from South Africa and the evaluation of RT-PCR, DAS-ELISA and ImmunoStrips as virus diagnostic assays. *Virus Research*, 142 (1 – 2): 28 – 35.
- Liu M H, Li M J, Qi H H, Guo R, Liu X M, Wang Q, Cheng Y Q. 2013. Occurrence of grapevine leafroll-associated viruses in China. *Plant Disease*, 97 (10): 1339 – 1345.
- Liu Ming-hua, Wang Ke-shuang, Qi Hong-hua, Lü Mu-di, Li Jie, Cheng Yu-qin, Fan Zai-feng. 2012. Sequences analysis of *CP* genes in two isolates of *Grapevine leafroll-associated virus 1* from Hebei and Liaoning Province. *Journa of China Agricultural University*, 17 (2): 90 – 93. (in Chinese)
- 刘命华, 王克双, 齐洪华, 吕睦岷, 李 捷, 程玉琴, 范在丰. 2012. 葡萄卷叶伴随病毒 1 号河北和辽宁分离物 *CP* 基因序列分析. *中国农业大学学报*, 17 (2): 90 – 93.
- 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 (1 – 2): 21 – 24.
- Lyu M D, Li M J, Li J, Li X M, Cheng Y Q. 2013. First report of *Grapevine leafroll-associated virus 7* in two native grape varieties in China. *Plant Disease*, 97 (1): 150.
- Lyu M D, Li X M, Guo R, Li M J, Liu X M, Wang Q, Cheng Y Q. 2014. Prevalence and distribution of *Grapevine leafroll-associated virus 7* in China detected by an improved reverse transcription polymerase chain reaction assay. *Plant Pathology*, DOI: 10.1111/ppa.12195
- 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 (2): 280 – 282.
- Marmonier A, Schellenberger P, Esmenjaud D, Schmitt-Keichinger C, Rizenthaler C, Andret-Link P, Lemaire O, Fuchs M, Demangeat G. 2010. The coat protein determines the specificity of virus transmission by *Xiphinema diversicaudatum*. *Journal of Plant Pathology*, 92: 275 – 279.
- Martelli G P, Abou Ghanem-Sabanadzovic N, Agranovsky A A, Al Rwahnih M, Dolja V V, Dovas C, Fuchs M, Gugerli 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 (1): 7 – 19.
- Martelli G P. 2012. Grapevine virology highlights: 2010—2012 // *Proceedings of the 17th Congress of ICVG*. Davis, California, USA: 13 – 31.
- Meng B, Li C. 2010. The capsid protein of *Grapevine rupestris stem pitting-associated virus* contains a typical nuclear localization signal and targets to the nucleus. *Virus Research*, 153 (2): 212 – 217.
- 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 (2): 453 – 462.
- Miozzi L, Gambino G, Burgyan J, Pantaleo V. 2013. Genome-wide identification of viral and host transcripts targeted by viral siRNAs in *Vitis vinifera*. *Molecular Plant Pathology*, 14 (1): 30 – 43.
- Morelli M, Minafra A, Boscia D, Martelli G P. 2011. Complete nucleotide sequence of a new variant of *Grapevine rupestris stem pitting-associated virus* from southern Italy. *Archives of Virology*, 156 (3): 543 – 546.
- Muruganantham M, Moskovitz Y, Haviv S, Horesh T, Fenigstein A, Preez J, Stephan D, Burger J T, Mawassi M. 2009. *Grapevine virus A*-mediated gene silencing in *Nicotiana benthamiana* and *Vitis vinifera*. *Journal of Virological Methods*, 155 (2): 167 – 174.
- Oliver J E, Vigne E, Fuchs M. 2010. Genetic structure and molecular variability of *Grapevine fanleaf virus* populations. *Virus Research*, 152 (1 – 2): 30 – 40.
- 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 (1 – 2): 138 – 145.
- Osman F, Olineka T, Hodzic E, Golino D, Rowhani A. 2012. Comparative procedures for sample processing and quantitative PCR detection of

- grapevine viruses. *Journal of Virological Methods*, 179 (2): 303 – 310.
- Pacifico D, Caciagli P, Palmano S, Mannini F, Marzachi C. 2011. Quantitation of *Grapevine leafroll associated virus-1* and -3, *Grapevine virus A*, *Grapevine fanleaf virus* and *Grapevine fleck virus* in field-collected *Vitis vinifera* L. ‘Nebbiolo’ by real-time reverse transcription-PCR. *Journal of Virological Methods*, 172 (1 – 2): 1 – 7.
- Panattoni A, Luvisi A, Triolo E. 2011. Selective chemotherapy on *Grapevine leafroll-associated virus-1* and -3. *Phytoparasitica*, 39 (5): 503 – 508.
- Panattoni A, Triolo E. 2010. Susceptibility of grapevine viruses to chemotherapy on *in vitro* collection of Kober 5BB. *Scientia Horticulturae*, 125 (1): 63 – 67.
- Pantaleo V, Saldarelli P, Miozzi L, Giampetruzzi A, Gisel A, Moxon S, Dalmay T, Bisztray G, Burgyan J. 2010. Deep sequencing analysis of viral short RNAs from an infected Pinot Noir grapevine. *Virology*, 408 (1): 49 – 56.
- Pei G Q, Dong Y F, Zhang Z P, Fan X D. 2010. First reort of *Grapevine leafroll-associated virus 4* and 5 in grapevins in China. *Plant Disease*, 94 (1): 130.
- Pei Guang-qian, Dong Ya-feng, Zhang Zun-ping, Fan Xu-dong, Li Li-li. 2010. Detection of four *Grapevine leafroll-associated viruses* by multiplex RT-PCR. *Acta Phytopathologica Sinica*, 40 (1): 21 – 26. (in Chinese)
- 裴光前, 董雅凤, 张尊平, 范旭东, 李丽丽. 2010. 4 种葡萄卷叶伴随病毒多重 RT-PCR 检测. *植物病理学报*, 40 (1): 21 – 26.
- Pei Guang-qian, Dong Ya-feng, Zhang Zun-ping, Fan Xu-dong, Ren Fang. 2011. Study of grapevine leafroll-associated viruses in China. *Journal of Fruit Science*, 28 (3): 463 – 468. (in Chinese)
- 裴光前, 董雅凤, 张尊平, 范旭东, 任 芳. 2011. 我国葡萄主栽区卷叶病相关病毒种类的检测分析. *果树学报*, 28 (3): 463 – 468.
- Poojari S, Alabi O J, Fofanov V Y, Naidu R A. 2013. A leafhopper-transmissible DNA virus with novel evolutionary lineage in the family geminiviridae implicated in grapevine redleaf disease by next-generation sequencing. *PLoS One*, 8 (6): e64194.
- Predajňa L, Gažiová A, Holovičová E, Glasa M. 2013. Analysis of a short genomic region of *Grapevine leafroll-associated virus 1* (GLRaV-1) reveals the presence of two different molecular groups of isolates in Slovakia. *Acta Virologica*, 57 (3): 353 – 356.
- Ren Fang, Dong Ya-feng, Zhang Zun-ping, Fan Xu-dong, Hu Guo-jun, Zhu Hong-juan. 2013. Review of advances and perspectives in virus-resistant transgenic grapevine studies. *Acta Horticulturae Sinica*, 40 (9): 1633 – 1644. (in Chinese)
- 任 芳, 董雅凤, 张尊平, 范旭东, 胡国君, 朱红娟. 2013. 葡萄抗病毒转基因研究进展. *园艺学报*, 40 (9): 1633 – 1644.
- Ren Fang, Fan Xu-dong, Dong Ya-feng, Zhang Zun-ping, Wang Jiao-min. 2012. Cloning and molecular variation analysis of coat protein gene of *Grapevine virus A*. *Molecular Plant Breeding*, 10 (5): 568 – 574. (in Chinese)
- 任 芳, 范旭东, 董雅凤, 张尊平, 王教敏. 2012. 葡萄 A 病毒外壳蛋白基因克隆及分子变异分析. *分子植物育种*, 10 (5): 568 – 574.
- Sabanadzovic S, Ghanem-Sabanadzovic N A. 2009. Grapevine virus Q: The first phyto virus with inverted RdRp motifs. *Phytopathology*, 99 (Supplement): S112.
- Sandanayaka W R M, Blouin A G, Prado E, Cohen D. 2013. Stylet penetration behaviour of *Pseudococcus longispinus* in relation to acquisition of *Grapevine leafroll virus 3*. *Arthropod-Plant Interactions*, 7 (2): 137 – 146.
- Schellenberger P, Andret-Link P, Schmitt-Keichinger C, Bergdoll M, Marmonier A, Vigne E, Lemaire O, Fuchs M, Demangeat G, Ritzenthaler C. 2010. A stretch of 11 amino acids in the betaB-betaC loop of the coat protein of *Grapevine fanleaf virus* is essential for transmission by the nematode *Xiphinema* index. *Journal of Virology*, 84 (16): 7924 – 7933.
- 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 Pathog*, 7 (5): e1002034.
- Seah Y M, Sharma A M, Zhang S, Almeida R P, Duffy S. 2012. A divergent variant of *Grapevine leafroll-associated virus 3* is present in California. *Virol J*, 9 (1): 235.
- Sgherri C, Ranieri A, Quartacci M F. 2013. Antioxidative responses in *Vitis vinifera* infected by *Grapevine fanleaf virus*. *Journal of Plant Physiology*, 170 (2): 121 – 128.
- Sharma A M, Wang J, Duffy S, Zhang S, Wong M K, Rashed A, Cooper M L, Daane K M, Almeida R P. 2011. Occurrence of *Grapevine leafroll-associated virus* complex in napa valley. *PLoS One*, 6 (10): e26227.
- Singh K, Talla A, Qiu W. 2012. Small RNA profiling of virus-infected grapevines: Evidences for virus infection-associated and variety-specific miRNAs. *Funct Integr Genomics*, 12 (4): 659 – 669.
- Skiafi 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 (2): 407 – 414.

- Sokhandan-Bashir N, Hooshmand A, Delpasand-Khabazi A. 2012. Molecular characterization of phylogenetically distinct isolates of *Grapevine fanleaf virus* from Iran based on 2AHP gene. *Indian Journal of Virology*, 23 (1): 50 – 56.
- Sokhandan-Bashir N, Melcher U. 2012. Population genetic analysis of grapevine fanleaf virus. *Archives of Virology*, 157 (10): 1919 – 1929.
- Thompson J R, Fuchs M, Fischer K F, Perry K L. 2012a. Macroarray detection of *Grapevine leafroll-associated viruses*. *Journal of Virological Methods*, 183 (2): 161 – 169.
- Thompson J R, Fuchs M, McLane H, Toprak-Celebi F, Fischer K F, Potter J L, Perry K L. 2014. Profiling viral infections in grapevine using a randomly primed RT-PCR/macroarray multiplex platform. *Phytopathology*, 104 (2): 211 – 219.
- Thompson J R, Fuchs M, Perry K L. 2012b. Genomic analysis of *Grapevine leafroll associated virus-5* and related viruses. *Virus Research*, 163 (1): 302 – 309.
- Tsai C W, Bosco D, Daane K M, Almeida R P. 2011. Effect of host plant tissue on the vector transmission of *Grapevine leafroll-associated virus 3*. *Journal of Economic Entomology*, 104 (5): 1480 – 1485.
- Tsai C W, Rowhani A, Golino D A, Daane K M, Almeida R P. 2010. Mealybug transmission of grapevine leafroll viruses: An analysis of virus-vector specificity. *Phytopathology*, 100 (8): 830 – 834.
- 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 Mol Biol*, 77 (3): 261 – 274.
- Villate L, Morin E, Demangeat G, Van Helden M, Esmenjaud D. 2012. Control of *Xiphinema* index populations by fallow plants under greenhouse and field conditions. *Phytopathology*, 102 (6): 627 – 634.
- Walsh H A, Pietersen G. 2013. Rapid detection of *Grapevine leafroll-associated virus type 3* using a reverse transcription loop-mediated amplification method. *Journal of Virological Methods*, 194 (1 – 2): 308 – 316.
- Wang J, Sharma A M, Duffy S, Almeida R P. 2011. Genetic diversity in the 3' terminal 4.7-kb region of *Grapevine leafroll-associated virus 3*. *Phytopathology*, 101 (4): 445 – 450.
- Wang Jian-hui, Liu Jian-jun, Chen Ke-ling, Li Hong-wen, He Jian, Guan Bin. 2013. RT-PCR detections and phylogenetic studies on three viruses from grapevine. *Journal of Fruit Science*, 30 (2): 197 – 201. (in Chinese)
- 王建辉, 刘建军, 陈克玲, 李洪雯, 何建, 关斌. 2013. 三种葡萄病毒的 RT-PCR 检测和系统进化分析. *果树学报*, 30 (2): 197 – 201.
- Wang Ke-shuang, Fei Fei, Lü Mu-di, Li Jie, Cheng Yu-qin. 2012. Preparation and application of antiserum against *Grapevine leafroll-associated virus 3*. *Journal of China Agricultural University*, 17 (4): 81 – 85. (in Chinese)
- 王克双, 费菲, 吕睦颀, 李捷, 程玉琴. 2012. 葡萄卷叶伴随病毒 3 号抗血清的制备及应用. *中国农业大学学报*, 17 (4): 81 – 85.
- 王仲, 刘命华, 李捷, 李明骏, 程玉琴. 2012. 3 种葡萄卷叶伴随病毒 RT-PCR 检测. *中国果树*, (4): 43 – 46.
- Winterhagen P, Dubois C, Sinn M, Wetzel T, Reustle G M. 2009. Gene silencing and virus resistance based on defective interfering constructs in transgenic *Nicotiana benthamiana* is not linked to accumulation of siRNA. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47 (8): 739 – 742.
- Xu Zhang-yi, Wang Guo-ping, Liu Ya-ping, Wang Cai-xia, Hong Ni. 2010. Prokaryotic expression of coat protein of *Grapevine leafroll associated virus-3* and its special antiserum preparation. *Acta Phytopathologica Sinica*, 40 (2): 129 – 134. (in Chinese)
- 徐章逸, 王国平, 刘亚萍, 王彩霞, 洪霓. 2010. 葡萄卷叶伴随病毒-3 外壳蛋白的原核表达及其特异性抗血清的制备. *植物病理学报*, 40 (2): 129 – 134.
- Yang Xiang-kun, Tian Hai-yan, Niu Jian-xin, Wang Lin, Dai Yong-xin. 2010. Study on the detection of *Grapevine virus B* by RT-PCR. *Biotechnology Bulletin*, 5: 97 – 106. (in Chinese)
- 杨相昆, 田海燕, 牛建新, 王林, 代永欣. 2010. 葡萄病毒 B 的 RT-PCR 检测技术研究. *生物技术通报*, 5: 97 – 106.
- 张尊平, 范旭东, 胡国君, 任芳, 朱红娟, 董雅凤. 2013. 葡萄试管苗热处理脱毒技术研究. *中国果树*, (1): 39 – 41.
- 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 (9): 1081 – 1090.
- Zhuo Na, Wang Guo-ping, Deng Cong-liang, Hong Ni. 2011. RT-PCR detection of *Grapevine fleck virus*. *Journal of Fruit Science*, 28 (4): 717 – 720. (in Chinese)
- 卓娜, 王国平, 邓丛良, 洪霓. 2011. 葡萄斑点病毒的 RT-PCR 检测. *果树学报*, 28 (4): 717 – 720.