

## **Diagnóstico del virus GRSPaV en plantas de vid del Banco de Germoplasma del INIFAP-Campo Experimental La Laguna en Matamoros, Coahuila**

**Isidro-Requejo, L.M.<sup>a\*</sup>; Madero-Tamargo, E.E.<sup>b</sup>; Hernandez-Gonzalez, L.E.<sup>c</sup>**

a CELALA-INIFAP. Blvd. José Santos Valdez, No. 1200 Pte. Col. Centro C.P. 27445, Matamoros, Coah.

b UAAAN. Blvd. Raúl López Sánchez. Col. Valle Verde C.P. 27054, Torreón Coah.

c Facultad de Ciencias Biológicas, Ciudad Universitaria UT-UAdeC. Carretera Torreón-Matamoros km. 7.5. Ejido El Águila. C.P. 27087. Torreón, Coah.

[\\*isidro.luis@inifap.gob.mx](mailto:*isidro.luis@inifap.gob.mx)

### **RESUMEN:**

La sanidad del viñedo es un asunto de gran importancia para garantizar la longevidad y la buena producción del mismo. En el espectro de los agentes causales de enfermedades que afectan a la vid están presentes hongos, virus, bacterias y fitoplasmas, ya que hoy en día hay un mercado de viverista profesionalmente bien preparado y que, por otra parte, está sujeto a una legislación que vale por la calidad del material vegetal de los principales géneros cultivados (cítricos, frutales, olivo, fresa, ornamentales, etc.) que en el caso de la vid se desarrolla en el Reglamento de Control y Certificación de Plantas de Vivero de Vid. La identificación temprana de enfermedades y virus en el Banco de Germoplasma de vid del INIFAP-CELALA, es para prevenir una contaminación por virus que afecten a la producción en curso y puedan ser controlados de manera relativamente fácil, o un daño permanente como el que causan virus y bacterias, al comprometer seriamente la vida y la producción del viñedo una vez que estos han producido su infección, ya que el único remedio es el arranque y reposición de las plantas afectadas. El objetivo de esta investigación fue realizar un diagnóstico y la detección de Grapevine rupestris stem pitting-associated virus (GRSPaV) a tiempo en diferentes variedades de uva para mesa y vino por la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Los resultados obtenidos de las diferentes variedades de uva para mesa y vino salieron negativos mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa..

### **ABSTRACT:**

The sanity of the vineyard is a matter of great importance to guarantee the longevity and the good production of the same one. In the spectrum of the causal agents of diseases that affect the vine are fungi, viruses, bacteria and phytoplasmas, since today there is a professionally well-prepared nursery market and, on the other hand, it is subject to legislation that it is worth for the quality of the vegetal material of the main cultivated sorts (citrus, fruit, olive, strawberry, ornamental, etc.) that in the case of the grapevine is developed in the Regulation of Control and Certification of Plants of Vivero de Vid. The early identification of diseases and viruses in the Grapevine Germplasm Bank of CELALA, is to prevent contamination by viruses that affect production in progress and can be controlled relatively easily, or permanent damage such as that caused by viruses and bacteria, seriously compromising the life and production of the vineyard once they have produced their infection, since the only remedy is the start and replacement of affected plants. The objective of this investigation was to perform a diagnosis and detection of Grapevine rupestris stem pitting-associated virus (GRSPaV) in different varieties of table grapes and wine by the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique. The results obtained from the different grape varieties for table and wine were negative using the Polymerase Chain Reaction technique..

### **Palabras clave:**

Virus, plantas de vid, banco de Germoplasma.

### **Key words:**

Virus, vine plant, germplasm banck.

**Área:** Frutas y hortalizas

## INTRODUCCIÓN

La vid (*Vitis vinifera* L.) es una de las especies más cultivada en el mundo y al mismo tiempo hospedante de numerosos patógenos, entre los que destacan los virus, cuya peligrosidad es acentuada por la existencia de eficientes métodos de transmisión, principalmente vectores tales como nemátodos e insectos. Sin embargo, la principal causa de la diseminación a grandes distancias de los virus se debe a la propagación y comercialización de variedades y portainjertos infectados (Red Agrícola, 2011).

La sanidad del viñedo es un asunto de gran importancia para garantizar la longevidad y la buena producción del mismo. En el espectro de los agentes causales de enfermedades que afectan a la vid están presentes hongos, virus, bacterias y fitoplasmas. El accionar de estos puede provocar desde un perjuicio temporal, como es el caso de los hongos como el oídio o la peronospora, que afectan la producción en curso y pueden ser controlados de manera relativamente fácil, o un daño permanente como el que causan virus y bacterias al comprometer seriamente la vida y la producción del viñedo una vez que estos han producido su infección, ya que el único remedio es el arranque y reposición de las plantas afectadas (Monis, 2006).

A nivel mundial en el cultivo de la vid, se han identificado 44 virus diferentes; sin embargo, sólo algunos de ellos tienen importancia en las distintas regiones donde se cultivan las vides; pertenecen a 5 familias y 16 géneros (Herrera & Madariaga, 2001). Los virus Nepovirus son los más diseminados, y en Europa son denominados degenerativos: Grape Fan Leaf Virus (GFLV), Arabis Mosaic Virus (ArMV), Tobacco Black Ring Virus (TBRV), Strawberry Latent Ringspot Virus (SLRV), Raspberry Ringspot Virus (RRV), mientras que en EE.UU. y Canadá son referidos como causantes de declinamiento: Tomato Ringspot Virus (TomRSV), Raspberry Ringspot Virus (RRV), Tobacco Ringspot Virus (TBRSV) y Blueberry Leaf Mottle Virus (BBLMV). Otro grupo de importancia, lo constituyen los Closterovirus, cuyo principal representante en vides es Grapevine Leaf Roll Virus (GLRV). Este incluye a 7 virus serológicamente distintos, algunos transmitidos por insectos. Los modernos métodos de diagnóstico han permitido, por un lado, detectar virus en la vid que no siempre manifiestan síntomas y por otro, descartar la etiología virósica de algunas afecciones (Cáceres, 2011).

Las principales medidas de control de virosis en las plantas son la resistencia genética, la utilización de material vegetal libre de virus y el control de la dispersión. Todas esas medidas tienen, en el cultivo de la vid, dificultades añadidas a un problema en sí bastante complejo. El cultivo de la vid para la producción de vinos de calidad, tiene peculiaridades y despierta curiosas pasiones que lo distinguen de cualquier otra producción agrícola y algunas virosis de la vid parecen haberse “contagiado” de esa peculiaridad y complejidad, en especial los virus asociados al enrollado de la vid (Cabaleiro *et al.*, 2005).

### Algunas características de los virus que más afectan a la vid:

- **Virus del Entrenado Corto (GFLV)**

Constituye el mayor problema vírico en todas las zonas vitícolas del mundo. Esta enfermedad presenta una amplia gama de síntomas externos, que se detallan a continuación:

- Pueden producir hojas anormales con mayor detención y amarilleamiento de nervios.
- En sarmientos se aprecian dobles nudos y entrenados cortos, proliferación de nietos y madera aplastada.
- En racimos se produce corrimiento, parcial o total, llegando a disminuir los rendimientos hasta el 80%.
- Las cepas infectadas presentan un marcado estado depresivo. La longevidad de la cepa se reduce (Muñoz & Lerma, 2008).

- **Virus de Madera Rugosa (G-RSPaV)**

Rupestris Grapevine picaduras madre asociadas a virus (GRSPaV) es miembro del género de la Foveavirus, dentro de la familia recién erigida Flexiviridae. GRSPaV está estrechamente asociada con la enfermedad Rupestris picaduras madre (RSP), es un componente del complejo de la enfermedad de la madera rugosa, que se encuentran entre los más generalizados y devastadores síndromes de enfermedades que afectan a la vid; es quizás el virus más prevalente de la vid (Meng *et al.*, 2006). Parece ser la enfermedad más extendida del complejo de madera rugosa

de la vid. Madera Rugosa (RW) es un término usado para describir un complejo de injertos transmisibles de las vides caracterizadas por las picaduras, ranuras y otras distorsiones en el tallo en la madera. RW puede causar grave deterioro e incluso la muerte a la vid. RW pueden ser diferenciadas en cuatro distintas enfermedades como: Kober 5BB (*Vitis Berlandieri* Planch. X *V. Riparia* Michx), LN-33 (Couderc 1613 X Thompson Seedless) y San Jorge (sinónimo: du Lot, *V. Rupestris* Scheele) son utilizados como indicadores de madera para la indexación. Estas enfermedades como Kober Tallo Ranurado (KSG), LN-33 Ranurado Madre (LNSG), vid corteza corchosa (GCB) y *Rupestris* Madre Picaduras (RSP), fueron descubiertas en California en la década de 1970 entre las selecciones de vid introducidos de Europa Occidental; esto se define como una enfermedad que induce en St. George indicador de una franja de pequeños pozos en el tallo de madera sólo por debajo del sitio donde el inóculo fue injertado (Meng *et al.*, 1999).

- **Virus de Grapevine virus A y B (GVA y GVB)**

Grapevine virus A (GVA) está considerado como uno de los virus asociados con la Madera Rugosa (RW), un de las enfermedades económicamente más importantes de vid. El Grapevine es susceptible a los injertos que transmite las enfermedades causadas por virus y agentes similares a los virus. Entre estas enfermedades, está la de Madera Rugosa (RW) tiene un alto incidencia en todas las regiones vitivinícolas del mundo y puede se considera uno de los económicamente más peligrosos de enfermedades en la vid. Grapevine virus A (GVA), con GVB y GVD pertenece a la *Vitivirus* género de la familia *Flexiviridae*.

GVA es un floema que está asociado con el virus por la transmisión semi-persistente por muchas especies de cochinillas pseudococcid entre las vides. La mejor medida preventiva para el control de virus y enfermedades es la selección de medidas sanitarias y uso de material de propagación limpio. Por lo tanto, hay métodos para identificar las plantas sanas de origen, siendo las más útil para limitar los efectos perjudiciales de los virus de la vid. Las herramientas de diagnóstico deben ser validados por la naturaleza heterogénea de la población de virus, así muestran las diferencias en la naturaleza patógena del GVA aísla en *Nicotiana benthamiana*, y apoyado por las diferentes reacciones de los anticuerpos monoclonales y el análisis molecular.

Grapevine virus B (GVB) se denominan también *vitivirus* y están asociados con las enfermedades complejas de madera rugosa. Las vides afectadas por esta exposición compleja picaduras y ranuras debajo de la corteza. Estos virus se transmiten generalmente por la propagación de material infectado. Los síntomas asociados con GVA incluyen el enrojecimiento de los márgenes de las hojas y pecíolos, vigor pobre, y enrollamiento de la hoja. La planta puede presentar inflamación en la unión del injerto y el agrietamiento del tallo. Vides injertadas pueden estar infectadas con GVA, pero no muestran síntomas visuales. GVB causas corteza de corcho, que se puede ver cuando la corteza en el tronco se extrae. GVB sólo ocurre en las vides injertadas (Murolo *et al.*, 2007).

### **Técnicas de diagnóstico de virus**

Las técnicas de diagnóstico más utilizadas en virología vegetal se clasifican en inmunológicas, génicas y biológicas. Entre las inmunológicas la principal es ELISA (enzyme linked immuno sorbent assay) y entre las génicas la RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction), de la unión de estas dos se obtiene una tercera técnica de diagnóstico muy utilizada en el último tiempo: la IC-RT-PCR (immuno capture reverse transcription polymerase chain reaction). Estos métodos tienen la ventaja de ser seguros, sensibles y aceptados en numerosos protocolos oficialmente mundiales (Cruzat and Montes, 2009).

La prueba de ELISA involucra la unión de la cubierta externa del virus con un anticuerpo específico; los anticuerpos (tipo de proteína elaborada por el sistema inmunológico de un animal en respuesta a una invasión extraña) presentan sitios específicos de unión que “reconocen” una forma molecular. Debido a la capacidad de la molécula del anticuerpo para reconocer con precisión y unirse a determinadas formas en otras moléculas, la actividad de acoplamiento del anticuerpo es usada para identificar específicamente virus y otros patógenos vegetales.

La técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permite la amplificación (es decir, producir múltiples copias) del RNA viral que podría estar presente en la vid en bajas concentraciones. Todos los virus conocidos que infectan a la vid están conformados por ARN, que previamente a la PCR debe ser convertido en DNA. Esta técnica

se denomina RT-PCR (PCR transcriptasa inversa) y requiere una porción de ARN viral e iniciadores para lograr el inicio del proceso de copiado.

Los iniciadores o “primers” son segmentos cortos de ADN que activan el proceso de copiado genético. La ayuda de la polimerasa (molécula que facilita el proceso de copiado del ADN) produce duplicados del ARN viral inicial. La duplicación se repite varias veces con cada copia haciendo más copias, así, luego de 40 ciclos, se ha producido más de 1 millón de millones de copias, y el virus puede ser detectado.

En los últimos años se ha avanzado en la comprensión de la composición del genoma de los virus de la vid, por lo que la PCR se ha transformado en un método usado de preferencia para la detección sensible y específica. Sin embargo, la PCR es laboriosa y cara, y debería ser usada para la detección de virus encontrados en baja concentración y para la confirmación de ausencia de infección, por el contrario, la ELISA se utiliza fundamentalmente para la detección e identificación de virus en laboratorio y se considera como la prueba de rutina y el primer acercamiento al conocimiento del estado sanitario de las plantas (Monis, 2006). El objetivo de esta investigación fue realizar un diagnóstico y la detección de virus a tiempo en diferentes variedades de uva para mesa y vino por la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) del banco de Germoplasma del INIFAP-Campo Experimental La Laguna (CELALA), Matamoros Coahuila.

### MATERIALES Y MÉTODOS

De la colección sembrada de uva para mesa en la temporada 2016, se muestrearon del banco de Germoplasmas: 29 diferentes surcos, 83 variedades, porta injertos y plantas (Cuadro 1), para la colección de uva para vino se muestrearon 20 surcos, 50 variedades, porta injertos y plantas (Cuadro 2), las hojas de las plantas se tomaron por triplicado realizándose una muestra compuesta para su extracción de ARN en el laboratorio de Inocuidad Alimentaria y Valor Agregado del INIFAP-CELALA, Matamoros Coah.

**Cuadro 1.-** Colección de uva para mesa del banco de Germoplasma del INIFAP-Campo Experimental La Laguna.

Surco	Variedad	Porta injerto	Planta
46	Thompson	1613-c	5
	26858	1613-c	6
	Concord	1613-c	6
47	Kismishi	1613-c	6
	1475	Dog-Ridge	9
	Seneca	Dog-Ridge	8
48	Perlette	5-c	1
	351	Dog-Ridge	8
	Niacagara	Dog-Ridge	10
49	Loose Perlette	1613-c	6
	94470	Dog-Ridge	8
	Niabell	1613-c	6
50	Delight	Dog-Ridge	10
	Ruby Seedless	Dog-Ridge	9
	Isabella	Dog-Ridge	10
51	Superior Seedless	Dog-Ridge	8
	Fresno Seedless	Dog-Ridge	8
	Ferdinand de Lesspps	161—c	2
52	Flame Seedless	5-c	1
	Autumm Black	Dog-Ridge	9
	Catawba	1613-c	5
53	Thomuscati	1613-c	5
	Dawn Seedless	Dog-Ridge	8
	Tokay	Seedless	8

	Aldel	1613-c	7
54	Sultana Crimsom	5-c	3
	Crimsom Seedless	1613-c	5
	Black Seedless	Dog-Ridge	8
	New York Muscat	1613-c	6
55	Sultana	1613-c	7
	Centennial Seedless	Dog-Ridge	8
	41217	1613-c	7
	Early Muscat	1613-c	7
56	Carina	5-c	1
	Blush Seedless	Dog-Ridge	8
	40016	Dog-Ridge	3
	July Muscat	1613-c	5
57	Black Monuka	1613-c	6
	Emerald Seedless	5-c	2
	39915	5-c	4
	Chasselar Doné	Dog-Ridge	10
58	Canner	Dog-Ridge	8
	39307	Dog-Ridge	10
	Cardinal Selec	Dog-Ridge	8
59	Black Corinth	5-c	1
	Husseine	Dog-Ridge	9
	33716	Dog-Ridge	8
44	Queen	1613-c	7
45	Moscatel	1613-c	6
47	Moscatel Alex 2268	Dog-Ridge	8
	Fantasy Seedless	Dog-Ridge	9
48	Moscatel Alex 2267	1613-c	5
	Napoleón	Dog-Ridge	9
	Ribier	Dog-Ridge	10
49	Moscatel Alex	5-c	4
	Red Chanez	1613-c	6
50	Malaga Roga	1613-c	6
	90386	1613-c	5
	Red Globe	Dog-Ridge	9
51	Malaga Blanca	Dog-Ridge	8
	88435	1613-c	7
	Olivette Blanche	5-c	3
52	Kandahar	1613-c	6
	44131	1613-c	5
	Italia	1613-c	6
53	Hunisa	1613-c	7
	40318	1613-c	6
	Flame Tokay	1613-c	5
54	Exotic	Dog-Ridge	8
	26585	1613-c	5
	Emperador	1613-c	6
55	Dattier St. Vallier	1613-c	5
	Christmas Rose	1613-c	5

56	Dattier (Regina)	1613-c	8
	90412	Dog-Ridge	8
	Calmeria V-11	1613-c	6
57	Black Prince	1613-c	5
	Calmeria V-10	1613-c	5
58	Black Malvoisie	Dog-Ridge	8
	Taiti	1613-c	5
	Barlinca	1613-c	6
59	Black Rose	Dog-Ridge	8
	Rish Baba	5-c	4
	Almeria	1613-c	5

**Cuadro 2.-** Colección de uva para vino del banco de Germoplasma del INIFAP-Campo Experimental La Laguna.

Surco	Varietal	Porta injerto	Planta
3	Royalty	Freedom	10
4	Salvador	5-c	13
8	Rubired	Freedom	17
10	Malvasia Blanca	5-c	1
	Malbec-4	Freedom	9
	Saint Macaire 03	Freedom	8
14	C.G. 14260	Freedom	9
	C.G. 38049	1613-c	5
15	C.G. 13180	1613-c	5
	C.G. 13668	Freedom	9
	C.G. 14100	Freedom	9
16	C.G. 4113	1613-c	5
	C.G. 6815	1613-c	6
17	C.G. 445	5-c	1
	C.G. 1730	Freedom	10
	C.G. 2539	1613-c	6
18	Camelian 02	5-c	2
	Centurión	1613-c	7
19	Trebbiano	1613-c	5
	Villard Blanc	5-c	4
	Villard Blanc	1613-c	5
20	Shiraz 2272	1613-c	5
	Shiraz 8189	1613-c	5
	Tarrango	1613-c	7
31	St. Emilion V-13	1613-c	6
	Salvador	5-c	2
	Sauvignon Blanc	Freedom	8
32	St. Emilion V-10	1613-c	6
	St. Emilion V-11	1613-c	5
	St. Emilion V-12	5-c	4
33	Ruby Caberret	1613-c	5
	St. Emilion V-8	5-c	2
	St. Emilion V-9	1613-c	6
34	Refosco	5-c	3
	Royalty	Freedom	10

	Ruby Real	1613-c	5
35	Pinot St. George	1613-c	5
	Red Vetliner	1613-c	7
36	Peverella	5-c	1
	Pinot Blanc	5-c	4
	Pinot Gris	1613-c	6
37	Pedro Ximenez	1613-c	7
	Petite Bouschet	1613-c	7
	Petite Sirah	1613-c	6
38	Nebbiolo Fino	1613-c	9
	Orange Muscat	1613-c	7
	Palomino	Freedom	9
39	Mission	1613-c	7
	Muscadelle du Bordelais	Freedom	8
	Muscat Ottonel	Freedom	8



Figura 1

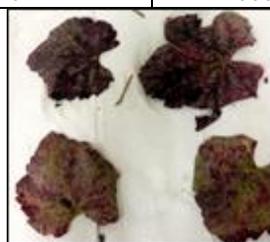


Figura 2



Figura 3

**Figura 1:** Hojas de la planta número 6 (uva para vino) del Surco 37: Petite Sirah; **Figura 2:** Hojas de la planta número 7 (uva para mesa), del Surco 44: Queen; **Figura 3:** Hojas de la planta número 9, del Surco 50: Red Globo.

#### PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE ARN:

Las muestras se recolectaron directamente del campo en buenas condiciones como lo indica el procedimiento: Recepción, inspección y control de muestras PG-GTE-001, en el caso de vid, el tejido a utilizar debe contener cambium vascular, y pueden ser ápices, hojas o yemas en cualquier estado de desarrollo, incluso en dormancia. Para la extracción ARN se usó el Kit RNEASY® PLANT MINI KIT (QIAGEN).

- Se pesaron 50-100  $\mu\text{g}$  de tejido, triturándose en el mortero con 450  $\mu\text{l}$  de buffer RLT. Se agitó con vortex vigorosamente, incubándose la muestra a 56°C durante 3 minutos.
- El lisado se transfirió directamente (400  $\mu\text{l}$ ) a la columna QIA Shredder (color lila).
- Se centrifugó por 2 minutos a 12,000 rpm transfiriendo el sobrenadante a otro tubo, adicionándole 0.5 volúmenes (usualmente 200  $\mu\text{l}$ ) de etanol absoluto.
- Posteriormente se agregó 700  $\mu\text{l}$  de buffer RW1 a la columna, centrifugándose  $\geq 8,000$  rpm por 15 segundos para lavar la columna, colocando la columna en un tubo nuevo de colecta de 2 ml.
- Pipetee 500  $\mu\text{l}$  de buffer PRE en la columna para centrifugarse por 15 segundos a  $\geq 8,000$  rpm para lavar la columna. Eliminar el flujo que pasa por la columna, reutilizándose el tubo de colecta en el siguiente paso.
- Se agregó otros 500  $\mu\text{l}$  de buffer PRE a la columna para centrifugarse 2 minutos a  $\geq 8,000$  rpm para secar la membrana de sílica gel. Continúe directamente con el siguiente paso ó elimine cualquier posibilidad de acarreo de buffer PRE. Transferir la columna a un tubo nuevo de 1.5 ml pipetee 30-50  $\mu\text{l}$  de agua libre de RNasa directamente en la membrana de sílica gel centrifugando 1 minuto a  $\geq 8,000$  rpm.
- Puede repetir el paso anterior, fluyendo en el mismo tubo de colecta.

- Almacenar a -20°C hasta su utilización.

#### PROCEDIMIENTO DE PCR:

- Preparar el stock para el procedimiento de PCR:

Reactivo	Volumen
Buffer PCR	5 µl
MgCl <sub>2</sub>	2 µl
dNTP's	2 µl
GRSPAV-13	2 µl
GRSPAV-14	2 µl
Taq Polimerasa	0.2 µl
Agua MiliQ	9.8 µl

- Se tomó 23 µl del stock por cada muestra adicionándole 7 µl del producto de RT-PCR.
- Posteriormente se realizó la amplificación por PCR, siguiendo las siguientes condiciones:

Temperatura	Tiempo	
94°C	1 min	} 38 ciclos
94°C	30 seg	
50°C	45 seg	
74°C	1 min	
74°C	5 min	
6°C	∞	

#### GEL DE AGAROSA AL 1.2%

1. Se pesó 0.24 g de agarosa en 20 ml de solución amortiguadora TBE 1X.
2. Homogenizar hasta que la agarosa este bien disuelta. Agregar a la agarosa 1ml de Bromuro de Etidio.
3. Posteriormente se preparó el gel en la cámara de electroforesis.
4. Se cargaron los pozos del gel de la siguiente manera:
5. 1 µl azul + 3 µl Marcador de 100bp
6. 2 µl azul + 8 µl Producto de PCR
7. Dejándose correr el gel a 80 voltios durante 5 minutos, posteriormente a 100 voltios, durante 20 minutos o en su defecto, hasta que las muestras hayan recorrido 2/3 del gel.
8. Finalmente se observó el gel en el transiluminador.

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la colección de uva del banco de Germoplasma del INIFAP-Campo Experimental La Laguna en Matamoros Coahuila, salieron negativos para el virus GRSPaV en uva de mesa como de vino en todas las muestras. Sin embargo; se debe de muestrear también el vástago como del porta injerto para que obtener una óptima detección de agentes patógenos. Esto es de especial importancia cuando se realiza un análisis para detectar la presencia de virus asociados con enfermedades como el enrollamiento de la hoja y rugosidad de la madera.

#### CONCLUSIÓN

En base a los resultados se concluye del banco de Germoplasma del INIFAP-Campo Experimental La Laguna en Matamoros Coahuila está libre del virus GRSPaV. Sin embargo; es necesario realizarle la identificación de los virus de Grapevine fanleaf virus (GFLV), y los Grapevine virus A y B (GV-A y GV-B) que afecten a la producción en curso y puedan ser controlados de manera relativamente fácil, o causar un daño permanente, al comprometer

seriamente la vida y la producción del viñedo una vez que estos han producido su infección, ya que el único remedio es el arranque y reposición de las plantas afectadas. Ya que esta planta se vende en todo el país y en nuestra Región Lagunera, así como la uva de mesa como la uva para vino se vende a una empresa Lagunera para la elaboración de vinos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Cáceres, Y.H. (2011). Virus de la vid. Boletín Área de Investigación, Desarrollo e Innovación. Centro de Innovación Tecnológica Vitivinícola. Volumen N. 2.

Cabaleiro, C., Pereira, S., Cid, M. & Segura, A. (2005). El control de los virus del enrollado de la vid (GLRaV). XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología / III Taller de la Asociación Argentina de Fitopatólogos. Departamentos de Producción Vegetal y Fisiología Vegetal. Universidad de Santiago de Compostela. Sociedad Española de Fitopatología. Boletín informativo Núm. 50.

Cruzat, G.R. & Montes, V.C. (2009). Resultados y Lecciones en Detección y Caracterización de Virus y Fitoplasmas en Vid. Proyecto de Innovación entre IV Región de Coquimbo y VII Región del Maule.

Herrera, M.G. & Madariaga, V.M. (2019). Presencia e Incidencia de virus de la vid en la zona. Central de Chile. Agricultura Técnica. Agric. Téc. V .61 N. 4.

Meng, B., Rebelo, A.R. & Fisher, H. (2006). Genetic diversity analyses of grapevine Rupestris stem pitting-associated virus reveal distinct population structures in scion versus rootstock varieties. *Journal of General Virology*. 87, 1725–1733.

Meng, B., Johnson, R., Peressini, S., Forsline, P.L. & Gonsalves, D. (1999). Rupestris stem pitting associated virus-1 is consistently detected in grapevines that are infected with rupestris stem pitting. *European Journal of Plant Pathology* 105: 191–199.

Monis, J. (2006). Determinación de las enfermedades de la vid caudadas por virus. *Revista Enología* N° 13. Año III.

Muñoz, G.R.M. & Lerma, T.M.L. (2008). Principales virosis de la vid diagnosticadas en material procedente de vivero. Análisis de su presencia en material de plantación Castellano-Manchego en el Quinquenio 2002-2006. *Vida Rural*. DOSSIER.

Murolo, S., Romanazzi, G., Rowhani, A., Minafra, A., La Notte, P., Branzanti, M.B. & Savino, V. (2007). Genetic variability and population structure of Grapevine Virus A coat protein gene from naturally infected Italian vines. *Eur J Plant Pathol*, 120:137–145.

Red Agrícola 2011. Virus y vid: Se han identificado más de 60 virus que afectan a la vid.