

Isolado de *Grapevine rupestris stem pitting-associated virus* causando necrose das nervuras da videira

Aléxis Cardama Kin¹; Thor Vinícius Martins Fajardo²; Osmar Nickel²

Grapevine rupestris stem pitting-associated virus (GRSPaV) está associado à virose das caneluras do tronco de Rupestris, é transmissível pela enxertia, não possui vetores conhecidos e forma o complexo do lenho rugoso da videira. A doença é responsável por incompatibilidade da enxertia, brotação tardia, declínio e até morte de plantas. O objetivo do trabalho foi comprovar a associação de uma estirpe específica do GRSPaV com sintomas de necrose de nervuras. Vinte mudas do porta-enxerto cv. R110 (*Vitis berlandieri* x *V. rupestris*), não inoculadas, exibiram necrose de nervuras em casa de vegetação. Muda do porta-enxerto cv. P1103, infectada com GRSPaV, isolado-típico, causador de caneluras do tronco, foi utilizada como controle. A extração do RNA total foi realizada utilizando-se o método de adsorção em sílica. Na amplificação por RT-PCR *one step* foram utilizados os oligonucleotídeos 48V / 49C (Lima et al. Arch. Virol. 151:1889-1894. 2006). Fragmentos de DNA amplificados foram clonados e os plasmídeos recombinantes foram sequenciados. As sequências obtidas de nucleotídeos (nt) e de aminoácidos deduzidos (aad) foram comparadas entre si e com isolados homólogos depositados em banco de dados. Foi amplificado um fragmento de DNA com 330 nt (109 aad) compreendendo parte do gene da proteína capsidial (CP) do GRSPaV, de ambos isolados, localizado do nt 408 ao 737 no gene CP do isolado brasileiro (CF210) de GRSPaV (EF690384/ABS12086). O alinhamento das sequências de nt e aad obtidas com sequências homólogas do GenBank apresentou maiores identidades de nt (99-100%) e de aad (100%) com o isolado CF210. As comparações entre as sequências dos dois isolados exibiram 99,6% e 100% de identidades, nt e aad, respectivamente. A única diferença de nucleotídeos foi a substituição de G→A, isolados P1103 e R110, respectivamente, na posição 220 do fragmento sequenciado. As 20 plantas de R110 e uma de P1103 foram indexadas por RT-PCR em tempo real (TaqMan RT-qPCR) confirmando-se a presença do GRSPaV nas amostras. Comprovou-se que na etiologia dos sintomas observados de necrose das nervuras está associada uma estirpe específica do GRSPaV, também constatado por Bouyahia et al. (*Vitis* 44:133-137. 2005). Assim, excluem-se outras possíveis causas, por ex., antracnose da videira, doença fúngica com sintomas semelhantes aos observados em R110 e causada pelo fungo *Elsinoe ampelina*.

Apoio financeiro: Embrapa-SEG, MP2, Projeto 02.13.14.002

¹ Graduando em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS, Bento Gonçalves, RS. Bolsista de Iniciação Científica PIBIC Fapergs. E-mail: alexiskin15@gmail.com

² Embrapa Uva e Vinho, CP 130, CEP 95700-000, Bento Gonçalves, RS, E-mail: thor.fajardo@embrapa.br; osmar.nickel@embrapa.br