

ESTUDO DA VARIABILIDADE DO *Grapevine leafroll-associated virus 1 e 3* POR MEIO DE ANÁLISE DE SEQUÊNCIAS DE NUCLEOTÍDEOS E DA TÉCNICA SSCP

Thor V. M. Fajardo^{1*}, Marcelo Eiras², Paula G. Schenato³, Osmar Nickel¹, Gilmar B. Kuhn¹

O enrolamento da folha é uma das mais importantes doenças da videira, pois diminui a produção e a qualidade da uva. É causada por até nove espécies de vírus (*Grapevine leafroll-associated virus*, GLRaV-1 a -9), as quais são sorologicamente distintas e associadas ao floema. GLRaV-1 e -3 pertencem à família *Closteroviridae*, gênero *Ampelovirus*, sendo as espécies mais amplamente distribuídas e economicamente importantes. Estes vírus são transmitidos através da enxertia e disseminados por cochonilhas. Utilizando-se um kit comercial, o RNA total foi extraído a partir de nervuras e pecíolos de videiras infectadas com estes vírus. Na RT-PCR, os oligonucleotídeos definidos por Habili *et al*, (Plant Pathology 46:516-522.1997), LR1-1/LR1-2, e por Tian *et al*, (Phytopathology 86:1167-1173.1996), HSP-P-1/HSP-P-2, foram usados para a detecção de GLRaV-1 e -3, respectivamente. Dois fragmentos de DNA foram amplificados, clonados e seqüenciados: 396 pb compreendendo parte do gene duplicado da proteína capsidial (CPd2=p50) do GLRaV-1 e 602 pb incluindo parte do gene da proteína homóloga à de choque térmico (HSP70=ORF4=p59) do GLRaV-3. As seqüências de nucleotídeos obtidas para o isolado de GLRaV-1 apresentaram maior identidade com um isolado australiano (GenBank AF195822), observando-se clones com 79,8% e 87,4% de identidade. Da mesma forma, as

seqüências obtidas para o isolado de GLRaV-3 exibiram maior similaridade com um isolado norte-americano (AF037268), observando-se, neste caso, clones com 75,1% e 81,8% de identidade. Pela análise do padrão, em gel de poliacrilamida a 7,5%, do DNA viral amplificado a partir dos clones recombinantes e desnaturado, técnica conhecida por Polimorfismo conformacional de fita simples (Single-Strand Conformation Polymorphism, SSCP), foi possível verificar, em relação aos dois vírus, a mesma variabilidade daquela definida com base nas comparações de seqüências. Os resultados demonstraram a ocorrência de diferentes seqüências variantes (isolados ou estirpes) de GLRaV-1 e -3 ocorrendo em videiras infectadas.

¹ Embrapa Uva e Vinho, Caixa Postal 130, 95700-000, Bento Gonçalves, RS, Brasil. *E-mail: thor@cnpuv.embrapa.br

² Instituto Biológico de São Paulo, Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 1252, 04014-002, São Paulo-SP.

³ Bolsista de Iniciação Científica da FAPERGS, estudante de Biologia da UCS - CARVI, Bento Gonçalves, RS.