

36 Detecção e caracterização molecular do gene da proteína capsidial do *Grapevine leafroll-associated virus 2*

*Paula Radaelli*¹; *Ana Paula Muterle Varela*²; *Thor Vinicius Martins Fajardo*³; *Marcelo Eiras*⁴; *Gilmar Barcelos Kuhn*³; *Osmar Nickel*³

O enrolamento da folha ocorre nas principais regiões vitícolas do mundo, tendo sido demonstrado que determinadas estirpes do *Grapevine leafroll-associated virus 2* (GLRaV-2), gênero *Closterovirus* (*Closteroviridae*), podem causar incompatibilidade da enxertia. O objetivo deste trabalho foi detectar o GLRaV-2 em videiras e caracterizar o gene da proteína capsidial. As seis cultivares de videira analisadas: Concord, Isabel, Seibel 2, Itália, Moscatel de Hamburgo e Riesling foram fornecidas pelo Dr. H. Kuniyuki (IAC). O RNA total foi extraído de ramos e pecíolos pelo método de adsorção em sílica. Na RT-PCR foram empregados os oligonucleotídeos GLR2CP1/GLR2CP2 (*Vitis* 39: 119-121. 2000). Os fragmentos de DNA amplificados foram ligados ao vetor pCR2.1 e clonados em *E. coli*. Dois clones de Concord e dois de Isabel foram seqüenciados e as seqüências comparadas com outras depositadas no GenBank. Aliquotas dos RNAs totais foram depositadas sobre membranas de nylon (dot blot), e na síntese das sondas não radioativas foi utilizado um kit comercial (Roche), sendo a marcação do DNA feita com digoxigenina e a detecção por quimioluminescência. Foi possível amplificar o gene da proteína capsidial do GLRaV-2 (597 bp) a partir de todas as amostras avaliadas. Dos quatro clones seqüenciados, três apresentaram alta identidade de nucleotídeos entre si (~99%) e diferiram do quarto clone (identidade de nt de 89%), permitindo determinar a infecção da cv. Isabel por dois isolados distintos de GLRaV-2. O primeiro isolado (GenBank EU053125), das cvs. Concord e Isabel, apresentou maior identidade de nucleotídeos (94%) com o isolado italiano H4 de GLRaV-2 (AY697863); enquanto o segundo isolado caracterizado (EU053126), da cv. Isabel, apresentou maior identidade (98%) com os isolados italianos Rei (DQ314604) e Y14131 e o norte-americano Pinot Noir (AF039204). O aprofundamento do conhecimento da variabilidade do GLRaV-2 permitirá incrementar sua detecção. Utilizando-se sondas moleculares foi possível detectar todas as amostras infectadas, confirmando os resultados da RT-PCR.

¹ Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, UFRPE, Recife, PE. Embrapa Uva e Vinho, Caixa Postal 130, 95700-000 Bento Gonçalves, RS. Bolsista do CNPq. radaelli@cnpuv.embrapa.br

² Estudante de graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, UERGS. Estagiária da Embrapa Uva e Vinho. Bolsista do CNPq. anapaulamut@gmail.com

³ Pesquisadores da Embrapa Uva e Vinho. thor@cnpuv.embrapa.br; kuhn@cnpuv.embrapa.br; nickel@cnpuv.embrapa.br

⁴ CPDSV, Instituto Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, 04014-002 São Paulo, SP.