

16 Comprovação da época adequada para o diagnóstico e caracterização molecular do gene da proteína capsidial do *Grapevine leafroll-associated virus 1*

Jakeline Kathiele Poppe¹, Thor Vinícius Martins Fajardo², Marcelo Eiras³ e Osmar Nickel²

O enrolamento da folha é uma importante doença da videira, podendo ser causada por até nove espécies do vírus do enrolamento da folha da videira (GLRaV). O GLRaV-1 destaca-se pela incidência e pela transmissão por cochonilhas. O objetivo deste trabalho foi comprovar a época adequada para a realização do diagnóstico (ELISA e RT-PCR) e caracterizar molecularmente o gene da proteína capsidial (CP) do GLRaV-1. As amostras para o ELISA e a RT-PCR consistiram de nervuras de plantas infectadas, colhidas em dois estádios de desenvolvimento da videira: folhas jovens (início do ciclo vegetativo - setembro/outubro) e maduras (meio ao final do ciclo vegetativo - novembro/abril). A determinação do peso molecular (PM) da CP do GLRaV-1 foi realizada por *western blot* (WB). Nos testes sorológicos foi utilizado antissoro comercial contra GLRaV-1. A extração de RNA total foi realizada utilizando-se um kit comercial. Os oligonucleotídeos empregados na RT-PCR foram definidos com base na sequência de outro isolado de GLRaV-1 (AF195822 - GenBank). O isolado caracterizado (denominado PS) é de videira cv. Petit Syrah coletado em Petrolina. O DNA amplificado foi ligado a um "T-vector", clonado em *E. coli* e três clones foram sequenciados. As sequências de nucleotídeos (nt) foram alinhadas e comparadas com outras depositadas no GenBank. Foi possível detectar o GLRaV-1 por ELISA e RT-PCR em amostras de três cultivares apenas em folhas maduras (meio-final do ciclo vegetativo). O PM da CP do GLRaV-1 foi estimado em 39 kDa por WB e calculado em 35,18 kDa. A sequência completa de nt do gene da CP do GLRaV-1, isolado PS, com 969 nt e 322 aminoácidos deduzidos (aad), foi depositada no GenBank (GQ332536). O isolado PS apresentou maiores identidades de nt e aad com os isolados da África do Sul - EF103902 (94,5% e 96,1%) e da Austrália - AF195822 (90,8% e 93,4%), respectivamente. A otimização dos testes diagnósticos depende do conhecimento das características da amostra analisada e da variabilidade do patógeno.

¹ Graduanda UERGS, Bento Gonçalves, RS. Estagiária Embrapa Uva e Vinho. Bolsista de Iniciação Científica FAPERGS. kathipoppe@yahoo.com.br

² Pesquisadores Embrapa Uva e Vinho, Caixa Postal 130, 95700-000 Bento Gonçalves, RS. thor@cnpuv.embrapa.br, nickel@cnpuv.embrapa.br

³ Instituto Biológico, Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 1252, 04014-002 São Paulo, SP. eiras@biologico.sp.gov.br