

Área Científica **Viticultura e Enologia**

Código PTDC/AGR-ALI/109859/2009 **Início** 2011/03/01 **Termo** 2014/08/31

Título Avaliação molecular de estratégias aplicáveis ao controlo do urticado e enrolamento foliar da videira

Programa

FCT

Medida

Projetos de I&D em todos os Domínios Científicos

Instituição Líder Universidade do Algarve

Investigador Responsável INIAV José Eduardo Jorge Eiras Dias

Orçamento Total 145 537,00€

Orçamento INIAV 13 260,00€

Parceria

UAlg	Universidade do Algarve	Nacional
INIAV	Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.	Nacional

Equipa

José Eduardo Jorge Eiras Dias
João Do Sacramento Andrade Brazão
Margarida Thierstein Romão Duarte Teixeira Santos

Resumo

O vírus do urticado (GFLV) e os vírus do enrolamento foliar (GLRaV-1 e -3) são os principais agentes etiológicos envolvidos na degenerescência infecciosa (GID) e na doença do enrolamento foliar (GLD) da videira, as principais doenças virais desta cultura a nível mundial. A actual estratégia de controlo é preventiva, separando vírus e respetivos vetores, mas ambas as doenças continuam a progredir e a ameaçar a indústria.

FUNDAMENTO:

O desenvolvimento de resistência/protecção contra aqueles vírus, quer em porta-enxertos quer em variedades produtoras, continua a ser desafio fundamental, devido aos efeitos limitados das actuais medidas e ao aumento da exigência de práticas agrícolas sustentáveis e ambientalmente seguras.

A contribuição da investigação fundamental para a caracterização molecular dos vírus implicados tem sido procurada e aplicada. A evidência reunida sobre o GFLV levou já à produção de porta-enxertos transgénicos, exprimindo o gene da proteína da cápside (CP) viral ou anticorpos virais específicos. O teste destes avanços científicos em ensaios de campo, contudo, tem encontrado atrasos devido à rejeição por parte da opinião pública, impedindo a avaliação da estabilidade da resistência obtida. Uma aplicação menos controversa do trabalho molecular em GFLV tem sido a identificação e o teste bem sucedido de estirpes "mild" em protecção cruzada, quer em laboratório quer em campo.

No que diz respeito à GLD, e devido ao envolvimento de vários vírus, com diferentes estruturas genómicas, a investigação molecular tem ainda de identificar e caracterizar variantes genómicas de modo a poder dar uma contribuição semelhante à da GID. Existem actualmente 9 GLRaV reconhecidos, mas sequências genómicas completas divulgadas apenas para GLRaV-1, -2 e -3.

Recentemente obtivemos novas sequências da CP de GLRaV-1 e GLRaV-3, mostrando a existência de distintas variantes de CP para cada um dos vírus. Com base nesta informação, novos anticorpos foram obtidos e testados com sucesso em imuno ensaio in situ (ISIA). Torna-se claro que mais trabalho molecular é necessário para caracterizar completamente espécies e variantes virais envolvidas na GLD.

Dado o actual estado do conhecimento e da opinião pública, não é provável que o uso de plantas geneticamente modificadas venha a tornar-se uma solução generalizada, pelo que outras fontes terão de ser encontradas/desenvolvidas. Interações entre variantes genómicas virais ou estirpes necessitam de ser desvendadas de modo a identificar estirpes "mild", adequadas ao uso em protecção cruzada. Para compreender os mecanismos que permitem a protecção cruzada e torná-la uma estratégia eficiente e implementável, é necessário aprofundar a caracterização molecular dos agentes etiológicos envolvidos, bem como explorar interações vírus-hospedeiro e alterações na expressão genética do hospedeiro mediadas pelo patogénio.

OBJETIVOS;

De acordo com o trabalho e ferramentas que temos vindo a desenvolver, estes são os nossos objectivos:

1. Avaliar a incidência e detectar variantes virais presentes em videiras cultivadas em Portugal, sujeitas a condições de campo com e sem controlo fitossanitário, de modo a determinar a estabilidade e dinâmica de variabilidade viral em cada situação.
2. Caracterizar molecularmente os genomas de variantes moleculares encontradas para GFLV, GLRaV-1 e GLRaV-3, para permitir uma extensiva análise in silico, revelando aspectos da filogenia e evolução viral.
3. Estudar e dissecar as interações vírus-hospedeiro para GFLV, GLRaV-1e -3, identificando genes controlados por acção viral, de modo a obter uma análise funcional das variantes virais e do seu potencial para aplicação em protecção cruzada.

METODOLOGIA:

O material infetado será fornecido pela coleção ampelográfica nacional (CAN, estabelecida em 1988), usando informação de trabalho anterior (PTDC/AGR-AAM/65094/2006), e pelo MADRP. A caracterização molecular viral será feita de modo a obter sequências completas das variantes tipo envolvidas. Os resultados deste trabalho irão estabelecer a evidência molecular necessária para seleccionar material para a indexagem biológica seguinte. Cada grupo de variantes será caracterizado em termos de interações vírus-hospedeiro ao nível da expressão genética, após transferência para um indicador. O método "Suppression Subtractive Hybridization" (SSH) será usado para identificar genes com expressão diferencial mediada pelos vírus.

A informação obtida será usada para inferir graus de virulência e fornecer uma análise funcional das variantes virais e das interações vírus-hospedeiro.

IMPACTO:

Este estudo irá fornecer ferramentas moleculares adequadas para avaliação de resistência em variedades de videira, bem como uma base molecular para identificar variantes virais adequadas a protecção cruzada.

Com esta proposta pretendemos estabelecer a nossa equipa como uma referência de trabalho em virologia molecular de videira.