

Detecção de isolados do *Grapevine fanleaf virus* em videiras por meio de testes sorológico e molecular

Ícaro Da Ré¹; Thor Vinícius Martins Fajardo²; Osmar Nickel²

A degenerescência da videira, causada pelo *Grapevine fanleaf virus* (GFLV), ocorre na maioria dos países vitícolas, causando relevantes danos. No Brasil, a incidência desta doença é bem menor se comparada a outras viroses. O GFLV possui partícula isométrica de 30 nm e genoma viral composto por dois segmentos de ssRNA. A transmissão viral ocorre pelo material propagativo infectado e por nematoides. O objetivo do trabalho foi comparar a detecção de isolados do GFLV utilizando-se testes sorológico e molecular. Quatro isolados, mantidos em videiras quase assintomáticas em casa de vegetação, foram avaliados: RS (Bento Gonçalves-RS), RUP (Janaúba-MG), IAC (Jundiaí-SP) e Sel47 (Canoinhas-SC). Teste sorológico do tipo ELISA direto foi realizado utilizando-se antissoro comercial contra o GFLV e folhas novas de videira. A extração do RNA total foi realizada utilizando-se um kit comercial. Os reagentes e condições para a detecção do GFLV por RT-PCR em tempo real (RT-qPCR) foram previamente descritos (Trop. Plant Pathol. 38:158-165. 2013). O DNA amplificado (Sel47) foi sequenciado. Foi possível detectar por ELISA apenas os isolados RUP e IAC com os seguintes valores de absorbância a 405 nm: controles negativo (0,234) e positivo (0,977), Sel47 (0,221), RS (0,289), RUP (3,493) e IAC (2,394). Com RT-qPCR foi possível detectar todos os isolados com os seguintes Ct: controle positivo (27,4), Sel47 (32,5), RS (32,4), RUP (17,5) e IAC (17,0). Adicionalmente, 28 acessos de videira de uma coleção mantida na Embrapa Uva e Vinho foram indexados por RT-qPCR e 15 amostras (53,6%) estavam infectadas pelo GFLV. Do isolado Sel47, obteve-se uma sequência de 152 nucleotídeos (nt) no gene da proteína capsidial, CP, o que permitiu comprovar a especificidade das curvas observadas no teste RT-qPCR. Esta sequência apresentou as seguintes identidades de nt com os outros três isolados do GFLV, cujas sequências da CP estão disponíveis no GenBank: 99,3% (RS, EU038294), 98,7% (RUP, EU258680) e 96,7% (IAC, EU258681). Duas técnicas utilizadas apresentaram resultados diferentes na detecção do GFLV. Isto reforça a importância de se considerar variáveis como número de amostras a indexar; custo, sensibilidade, praticidade e confiabilidade do teste; requerimento de mão de obra; equipamentos utilizados; concentração e distribuição viral na planta e variabilidade genética do vírus na escolha do método de diagnose. Recomenda-se a indexação em duas ou mais épocas do ciclo de desenvolvimento da videira.

Palavras-chave: indexação, diagnose, *Vitis*

Apoio Financeiro: Projeto SEG Embrapa: 22.16.04.035.00.00

Registro no SISGEN: A9463AC

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

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