

## 18 Estabelecimento de protocolos para detecção molecular de vírus de morangos

Eluiza H. Thomas<sup>1</sup>; Osmar Nickel<sup>2</sup>; Thor Vinicius Martins Fajardo<sup>2</sup>; Ana Paula Muterle Varela<sup>3</sup>

O morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) é a espécie do grupo das pequenas frutas com maior área cultivada no Brasil, adaptando-se ao clima subtropical especialmente nas regiões Sudeste e Sul. As dificuldades na amplificação desses vírus por RT-PCR advêm da alta concentração de polissacarídeos, polifenóis e taninos associados com os tecidos de morangueiros. O desafio é desenvolver métodos moleculares confiáveis de detecção de vírus em morangos capazes de evitar a ação desses inibidores. O objetivo deste trabalho foi estabelecer métodos moleculares confiáveis de diagnóstico dos vírus *Strawberry crinkle virus* (SCV), *Strawberry mottle virus* (SmoV), *Strawberry mild yellow edge virus* (SMYEV) e *Strawberry vein banding virus* (SVBV) presentes no Brasil. A ocorrência isolada destes agentes é rara, comumente formam complexos virais que podem reduzir drasticamente a produção de frutos. Na indexagem biológica utilizaram-se as indicadoras UC5 (híbrido complexo de *F. vesca*, *F. chiloensis* e *F. virginiana*) e UC10 (*F. virginiana*). As cultivares comerciais analisadas foram Camarosa, Oso Grande, Tudla, Aromas e Verão. Observaram-se infecções virais na maioria das indexagens, apresentando com maior frequência sintomas de encrespamento, clorose marginal e mosqueado. A infecção viral foi confirmada por microscopia eletrônica (ME) na qual algumas cultivares apresentaram infecções mistas. A ME e a indexagem biológica não permitem identificar a espécie do vírus, sendo necessária a diagnose por métodos moleculares ou sorológicos. Foram testados protocolos de extração de RNA total com sílica, IC(imunocaptura)-RT-PCR, Elisa e Western blot. Para SVBV testou-se a extração de DNA com sílica (Thompson et al., 2003) e posterior remoção de polissacarídeos com NaCl e Métodos I e II de isolamento de DNA (Mahmoudpour, 2003). Foi amplificado um fragmento de SVBV de UC10 com remoção de polissacarídeos e pelo Método II, embora não de cultivares comerciais de *Fragaria*.

<sup>1</sup> Estudante de Ciências Biológicas, Unisinos. Estagiária da Embrapa Uva e Vinho, Caixa Postal 130, 95700-000 Bento Gonçalves, RS. Bolsista PIBIC/CNPq. eluizathomas@gmail.com

<sup>2</sup> Pesquisadores da Embrapa Uva e Vinho. nickel@cnpv.embrapa.br, thor@cnpv.embrapa.br

<sup>3</sup> Estudante de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, UERGS. Estagiária da Embrapa Uva e Vinho. Bolsista PIBIC/CNPq. anapaulamut@gmail.com