



## VIROLOGIA

340

### ***Grapevine fleck virus*: Detecção via RT-PCR em tempo real e caracterização molecular do gene da proteína capsidial**

(*Grapevine fleck virus*: Real time RT-PCR detection and molecular characterization of the CP gene)

**Fajardo, T.V.M.<sup>1</sup>; Dubiela, C.R.<sup>1,2</sup>; Eiras, M.<sup>3</sup>; Souto, E.R.<sup>2</sup>; Nickel, O.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS; <sup>2</sup>UEM, Maringá, PR; <sup>3</sup>Instituto Biológico, São Paulo, SP.  
E-mail: [thor@cnpuv.embrapa.br](mailto:thor@cnpuv.embrapa.br)

A mancha das nervuras da videira, induzida pelo *Grapevine fleck virus*, GFkV (*Maculavirus*, *Tymoviridae*), apresenta alta incidência, sendo latente em praticamente todas as cultivares comerciais de copa e porta-enxertos. As cvs. ‘Rupestris du Lot’ e ‘Kober 5BB’ exibem sintomas de manchas translúcidas nas nervuras das folhas novas. O objetivo deste trabalho foi detectar o GFkV por RT-PCR em Tempo Real (TaqMan) e caracterizar o gene da proteína capsidial (CP) de um isolado denominado BF. O RNA total foi extraído da videira cv. ‘Rupestris du Lot’, com clareamento de nervuras, após enxertia com a cv. ‘Benefuji’. Na RT-PCR foram utilizados oligonucleotídeos específicos [Fk-6349 (v) e Fk-7067 (c)], desenhados com base no acesso NC\_003347 (*GenBank*), sendo o fragmento de DNA amplificado (719 pb) clonado, e três clones foram sequenciados. Na RT-PCR em Tempo Real, os oligonucleotídeos e as sondas foram desenhados conforme Osman et al. (*J. Virol. Methods* 149: 292-299. 2008) e as reações conduzidas segundo Osman et al. (*J. Virol. Meth.* 141: 22-29. 2007), utilizando-se o kit “*TaqMan Master Mix One-Step RT-PCR*”. As sequências amplificadas contêm o gene completo da CP, com 693 nucleotídeos (nt) e 230 aminoácidos deduzidos (aad) (acesso JN022610). As sequências de nt e aad do isolado de GFkV caracterizado apresentaram maiores identidades, 96,1% e 98,7%, respectivamente, com o isolado italiano MT48 (NC\_003347). Foi possível detectar de maneira específica o GFkV em amostras infectadas de videiras, utilizando-se sondas marcadas com 5’ FAM/3’ TAMRA. A caracterização de isolados virais contribui para aumentar a especificidade do diagnóstico viral.

Hospedeiro: *Vitis* spp., videira

Patógeno: *Grapevine fleck virus* (GFkV)

Doença: Mancha das nervuras da videira

Área: Virologia