



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Uva e Vinho  
Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento*

# **9º Encontro de Iniciação Científica e 5º Encontro de pós-graduandos da Embrapa Uva e Vinho**

24 e 25 de novembro de 2011  
Embrapa Uva e Vinho  
Bento Gonçalves, RS

## **Resumos**

Editores

*César Luís Girardi  
Henrique Pessoa dos Santos  
Lucimara Rogéria Antonioli  
Luís Fernando Revers  
Marcos Botton*

Bento Gonçalves, RS  
2011

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Uva e Vinho**

Rua Livramento, 515  
95700-000 Bento Gonçalves, RS, Brasil  
Caixa Postal 130  
Fone: (0xx)54 3455-8000  
Fax: (0xx)54 3451-2792  
<http://www.cnpuv.embrapa.br>  
[sac@cnpuv.embrapa.br](mailto:sac@cnpuv.embrapa.br)

**Comitê de Publicações**

Presidente: Mauro Celso Zanus  
Secretária-Executiva: Sandra de Souza Sebben  
Membros: Alexandre Hoffmann, César Luís Girardi, Flávio Bello Fialho,  
Henrique Pessoa dos Santos, Kátia Midori Hiwatashi, Thor Vinícius Martins  
Fajardo e Viviane Zanella Bello Fialho

Produção gráfica da capa: Luciana Elena Mendonça Prado

**1ª edição**

1ª impressão (2011): 200 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,  
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Embrapa Uva e Vinho

---

Encontro de Iniciação Científica da Embrapa Uva e Vinho (9. : 2011 : Bento Gonçalves, RS).  
Resumos / 9º Encontro de Iniciação Científica da Embrapa Uva e Vinho e 5º Encontro de  
Pós-graduandos da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS, 24 a 25 de novembro de 2011 ;  
editores-técnicos, César Luis Girardi ... [et al.] – Bento Gonçalves : Embrapa Uva e Vinho, 2011.  
50 p.

Editores técnicos: César Luis Girardi, Henrique Pessoa dos Santos, Lucimara Rogéria  
Antonioli, Luís Fernando Revers e Marcos Botton.

1. Pesquisa. 2. Embrapa Uva e Vinho. 3. Iniciação científica. 4. Ensino superior. 5. Agricultura.  
I. Girardi, César Luis, ed. II. Encontro de pós-graduandos da Embrapa Uva e Vinho (5. : 2011 :  
Bento Gonçalves, RS). IV. Título.

CDD 630.72 (21. ed.)

---

©Embrapa 2011

### **Deteção por RT-PCR em Tempo Real e caracterização molecular do Grapevine virus D e Grapevine leafroll-associated virus 5 em videira**

Carla Rosa Dubiela<sup>1</sup>, Thor Vinícius Martins Fajardo<sup>2</sup>, Marcelo Eiras<sup>3</sup>, Luis Fernando Revers<sup>2</sup>, Eliezer Rodrigues de Souto<sup>4</sup>, Osmar Nickel<sup>2</sup>

O *Grapevine virus D* (GVD), *Betaflexiviridae*, *Vitivirus*, está associado a videiras com sintomas do complexo do lenho rugoso e o *Grapevine leafroll-associated virus 5* (GLRaV-5), *Closteroviridae*, *Ampelovirus*, é uma das espécies virais associadas ao complexo do enrolamento da folha da videira. Estes vírus podem ser transmitidos por cochonilhas vetoras e pela enxertia. A PCR em Tempo Real, utilizando sondas específicas marcadas com fluoróforos (*TaqMan*), apresenta algumas vantagens sobre a PCR convencional para o diagnóstico viral. O objetivo deste trabalho foi verificar a ocorrência destes dois vírus em videiras por meio de RT-PCR em Tempo Real, além de caracterizar molecularmente três dos isolados obtidos. Os oligonucleotídeos, as sondas marcadas com FAM / TAMRA e as reações de RT-PCR em Tempo Real foram empregados conforme descrito na literatura para o GVD (J.V.Methods 154:69-75.2008) e GLRaV-5 (J.V.Methods 141:22-29.2007). RNAs totais de videira sadia e com sintomas de infecção viral foram utilizados em ensaios do tipo presença/ausência, empregando-se o *TaqMan Master Mix One-Step RT-PCR kit* (AB). Amostras infectadas também foram amplificadas por RT-PCR convencional com os oligonucleotídeos HSP-26F/HSP188R para GLRaV-5 (ref. anterior) e GVD-v/GVD-c (desenhados com base no acesso Y07764 do GenBank) para GVD. Os fragmentos de DNA amplificados foram ligados em *pGEM-T Easy vector*, clonados em *E. coli* e sequenciados. Foram avaliados 37 acessos de videira, mantidos em casa de vegetação, provenientes de campo experimental e de mudas importadas. Foi possível detectar estes vírus em 20 (GVD) e 7 (GLRaV-5) amostras. A sequência de nucleotídeos do fragmento de DNA de 852 pb, correspondente as ORFs da proteína capsidial e da *RNA binding protein* do GVD (2 isolados das cvs. Dolcetto e Garganega), apresentou 91% de identidade de nt com o isolado italiano (Y07764). O fragmento de DNA de 162 pb, na ORF HSP70 do GLRaV-5, proveniente da cv. Cardinal, apresentou 97,5% de identidade de nt com o isolado francês Y217 (NC\_016081). A presença do GVD ainda não havia sido relatada no Brasil e o GLRaV-5 havia sido detectado, apenas por meio de sorologia, no Estado de São Paulo. A técnica empregada aporta sensibilidade e especificidade ao diagnóstico viral, sendo uma importante ferramenta na indexação de material propagativo de videira. A caracterização molecular destes isolados também contribui neste sentido.

<sup>1</sup>Mestranda, Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Universidade Estadual de Maringá. Maringá, PR, Brasil. Estagiária Embrapa Uva e Vinho. Bolsista da CAPES. carladubiela@cnpuv.embrapa.br

<sup>2</sup>Pesquisador, Embrapa Uva e Vinho, CP 130, 95700-000, Bento Gonçalves, RS, Brasil. thor@cnpuv.embrapa.br; luis@cnpuv.embrapa.br; nickel@cnpuv.embrapa.br

<sup>3</sup>Pesquisador, Instituto Biológico, Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 1252, 04014-002, São Paulo, SP, Brasil. eiras@biologico.sp.gov.br

<sup>4</sup>Professor, Universidade Estadual de Maringá. Maringá, PR, Brasil. ersouto@uem.br