

Resumen

La planta de uva *Vitis vinífera* es un cultivo de importancia económica a nivel mundial, solamente en el año 2019 Estados Unidos obtuvo una rentabilidad de 162 millones de dólares; sin embargo, las enfermedades de la vid representan el 30% de las pérdidas económicas. El diagnóstico estandarizado, preciso y oportuno de enfermedades de la vid es esencial para mantener las condiciones productivas y fitosanitarias adecuadas, es por ello que el control de calidad en el diagnóstico de fitopatógenos aislados a partir de ARN requiere el uso de genes endógenos como controles internos. Este estudio tiene como objetivo la evaluación de genes de mantenimiento como controles internos mediante la técnica RT – qPCR y la herramienta bioinformática EDNA – MiFi en tejido *Vitis* spp. sano y tejido *Vitis Vinífera* infectado con GRBaV.

La variabilidad de transcripción génica en diferentes organismos, tejidos y condiciones fisiológicas hacen necesaria la selección de genes con un perfil de expresión estable como controles internos. Se evaluaron genes de mantenimiento candidatos por medio de la RT – qPCR y se calcularon los valores de Ct con la herramienta RefFinder, clasificando a VvTCPB y VvAIG – 1 como los genes con un perfil de expresión más estable. La detección de los genes de mantenimiento seleccionados en la plataforma bioinformática EDNA – MiFi mediante el uso de sondas electrónicas permitió la detección positiva en concentraciones diluidas de hasta 10^{-6} de los genes VvTCPB_VvAIG – 1 en las muestras secuenciadas de tejido sano y tejido infectado con GRBaV.

Los hallazgos de la presente investigación permitieron la selección de dos genes de mantenimiento específicos de uva VvTCPB y VvAIG – 1 que pueden ser utilizados como controles internos en el diagnóstico de enfermedades virales como GRBaV aislados a partir de ARN.

Palabras Clave:

- **GENES DE MANTENIMIENTO**
- **CONTROLES INTERNOS**
- **GRBAV**
- **RT – qPCR.**
- **MINION OXFORD NANOPORE**

Abstract

The grape plant *Vitis vinifera* is an economically important crop worldwide, only in 2019 the United States obtained a effectiveness of 162 million dollars; however, grapevine diseases represent 30% of economic losses. Standardized, accurate and timely diagnosis of grapevine diseases is essential to maintain adequate productive and phytosanitary conditions, which is why quality control in the diagnosis of phytopathogens isolated from RNA requires the use of endogenous genes as internal controls. This study aims to evaluate maintenance genes as internal controls using RT - qPCR and the bioinformatics tool EDNA - MiFi in healthy *Vitis* spp. tissue and *Vitis vinifera* tissue infected with GRBaV.

The variability of gene transcription in different organisms, tissues and physiological conditions makes it necessary to select genes with a stable expression profile as internal controls. Candidate housekeeping genes were evaluated by RT - qPCR and Ct values were calculated with the RefFinder tool, ranking VvTCPB and VvAIG - 1 as the genes with the most stable expression profile. Detection of the selected housekeeping genes in the EDNA - MiFi bioinformatics platform using electronic probes allowed positive detection at dilute concentrations of up to 10^{-6} of VvTCPB_VvAIG - 1 genes in the sequenced samples of healthy tissue and GRBaV-infected tissue.

The findings of the present investigation allowed the selection of two grape-specific housekeeping genes VvTCPB and VvAIG - 1 that can be used as internal controls in the diagnosis of viral diseases such as GRBaV isolated from RNA.

Keywords:

- **HOUSEKEEPING GENES**
- **INTERNAL CONTROLS**
- **GRBAV**
- **RT – qPCR.**
- **MINION OXFORD NANOPORE**