

Resumen

La uva (*Vitis* spp.) es uno de los cultivos más importantes en Estados Unidos (USA) y a nivel mundial. En los últimos años los virus *Grapevine Leafroll-associated virus* (GLRaV) y *Grapevine Red Blotch associated virus* (GRBaV) han generado pérdidas económicas en los cultivos de uva. Estos son de difícil diagnóstico debido a las dificultades en la extracción de ARN total de las plantas perennes leñosas. Por esta razón, la presente investigación tuvo como objetivo diagnosticar la presencia de los virus GLRaV y GRBaV a partir de ARN total de muestras de hojas de uva.

Se empleó una variación al Mini Kit RNeasy Plant de Qiagen, Target-specific high-throughput sequencing para la elaboración de ADN complementario de doble cadena (ADNc-dc). Asimismo, se realizó reacciones en cadena cuantitativa de la polimera en tiempo real (q-PCR) y secuenciación con MinION-Oxford Nanopore technologies (ONT). Las secuencias resultantes se analizaron por medio de E-probe Diagnostic Nucleic acid Analysis (EDNA) y en el programa Minimap 2.

Como resultado se obtuvo que las pruebas de diagnóstico de secuenciación de alto rendimiento (HTS) y EDNA tuvieron una baja sensibilidad de diagnóstico (DSe) y alta especificidad de diagnóstico (DSp) para GLRaV. Mientras que el GRBaV presentó una DSe moderada y DSp es alta. La prueba diagnóstica de HTS depende de la evaluación del virus teniendo que suma de DSe y DSp es mayor a 100% en algunos casos de GLRaV-4(cepa 4), GLRaV-4(cepa 6) y GRBaV, lo que indica que presenta precisión de diagnóstico.

Palabras Claves

- **TS-OLIGNUCLEOTIDOS**
- **SECUENCIACIÓN CON NANOPOROS**
- **MINION**
- **EDNA**
- **qPCR**

Abstract

Grape (*Vitis* spp.) is one of the most important crops in the United States and worldwide. In recent years, *Grapevine Leafroll-associated viruses* (GLRaV) and *Grapevine Red Blotch-associated virus* (GRBaV) have caused economic losses in grape crops. These viruses are difficult to diagnose due to difficulties in the extraction of total RNA from woody perennial plants. For this reason, the present investigation aimed to diagnose the presence of GLRaV and GRBaV viruses from the total RNA of grape leaf samples. A variation of Qiagen's RNeasy Plant Mini Kit, Target-specific high-throughput sequencing for the preparation of double-stranded complementary DNA (cDNA-dscDNA), was used. Also, real-time quantitative polymerase chain reaction (Q-PCR) and sequencing with MinION-Oxford Nanopore technologies (ONT) were performed. The resulting sequences were analyzed by E-probe Diagnostic Nucleic acid Analysis (EDNA) and Minimap 2 software.

As a result, high-throughput sequencing (HTS) and EDNA diagnostic tests had low diagnostic sensitivity (DSe) and high diagnostic specificity (DSp) for GLRaV. While GRBaV presented a moderate DSe and high DSp.

The diagnostic test for HTS depends on the evaluation of the virus and the sum of DSe and DSp is greater than 100% in some cases of GLRaV-4 (strain 4), GLRaV-4 (strain 6) and GRBaV, which indicates that it presents diagnostic accuracy.

Keywords

- **TS-OLIGNUCLEOTIDE**
- **NANOPORE SEQUENCING**
- **MinION**
- **EDNA**
- **q-PCR**