

## **Detecção e identificação molecular de fungos causadores de podridões do tronco da videira por técnicas de PCR**

Kelly Cordolino<sup>1</sup>, Fábio Rossi Cavalcanti<sup>1</sup>, Marcus André<sup>1</sup>, Amanda de Souza<sup>1</sup>,  
Luis Carlos Diel Rupp<sup>1\*</sup>  
\*Orientador

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) -  
*Campus Bento Gonçalves. Bento Gonçalves, RS*

As doenças de tronco representam um problema ao setor vitivinícola mundial, em decorrência dos prejuízos gerados pelo declínio e morte de plantas causados por fungos fitopatogênicos. Dentre elas, destaca-se o “chocolate” (black goo), a “doença de Petri” e as podridões descendentes. Muitas vezes, os agentes causadores dessas podridões do tronco da videira estão presentes na mesma amostra de tecido vegetal, dificultando a identificação dos mesmos por metodologias de diagnose clássica, que também são mais lentas e imprecisas. O objetivo deste trabalho foi ajustar e desenvolver métodos de PCR para identificação acurada de fungos causadores dessas podridões, isolados de amostras infectadas em vinhedos comerciais no Rio Grande do Sul. Para isso foram utilizados iniciadores específicos (ITS 1 e ITS4) para amplificação da região do espaçador transcrito interno (ITS1/2) do DNA ribossomal desses fungos. Com os produtos de PCR obtidos do DNA extraído dos isolados, amostras foram enviadas para sequenciamento e confirmação de sua identidade, através da ferramenta BLASTN, disponível online no portal da NCBI. Paralelamente, métodos de detecção dos patógenos por iniciadores específicos foram desenvolvidos. Para detecção específica do DNA do patógeno por PCR foram utilizados os iniciadores específicos Pac1f/2r, Pmo1f/2r, BoitsA/BoitsB para detecção de, respectivamente, *Phaeoacremonium* spp., *Phaeomoniella chlamydospora* e fungos da família *Botryosphaeriaceae*. Um iniciador antisense, FAMNPB, foi desenhado para detecção da espécie *Neofusicoccum parvum* conjunto ao primer senso NPRCA. Foi possível ajustar a metodologia para amplificação da região do ITS1/2 estudada para identificação de isolados, bem como para detecção do DNA fúngico por tais iniciadores específicos, em reação direta, os quais mostraram-se específicos para os isolados fitopatogênicos obtidos no RS. O uso de técnicas de PCR representa um avanço para diagnose dessas doenças em tecidos vegetais com poucos sintomas ou contaminados por mais de um fungo. O aumento da sensibilidade para checagem dessas doenças contribui para a obtenção de material propagativo de videira com qualidade fitossanitária superior.

**Palavras-chave:** Doença de Petri. Podridões descendentes. *Phaeoacremonium* spp. *Phaeomoniella chlamydospora*. *Botryosphaeriaceae*.