

DETECÇÃO DE FUNGOS ASSOCIADOS AO DECLÍNIO E MORTE DE VIDEIRAS NO RIO GRANDE DO SUL POR TÉCNICAS DE PCR

KELLY CORDOLINO ADÃO; FÁBIO ROSSI CAVALCANTI

Introdução: As podridões de tronco da videira 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 a “doença de Petri” causada pela associação da espécie *Phaeomoniella chlamydospora* com várias espécies de *Phaeoacremonium spp.*, e o ‘pé-preto’ causado pelas espécies de fungos dos gêneros *Cylindrocarpon spp.* e *Ilyocnetria spp.*. 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 clássicas, que também são mais lentas e imprecisas. **Objetivo:** Ajustar e desenvolver métodos de PCR para detecção de fungos causadores dessas podridões, isolados de amostras infectadas em vinhedos comerciais no Rio Grande do Sul. **Materiais e Métodos:** Para isso, realizou-se a extração de DNA total da biomassa fúngica dos isolados pelo método fenol: clorofórmio: álcool: isoamílico. Ensaios de detecção dos patógenos por iniciadores específicos foram desenvolvidos. O par de iniciadores específicos CylF e CylR foi aplicado para detecção específica dos agentes causais do ‘Pé-preto’ no DNA-molde dos isolados. Iniciadores específicos para identificação de *Phaeomoniella chlamydospora* (Pmo1 e Pmo2), *Phaeoacremonium spp* (Pal1N e Pal2) e *Cylindrocarpon/Ilyonectria* (CylF/CylR) também foram usados para detecção do DNA fúngico por PCR *Nested*, a partir de sequências-molde da região ITS1/2 obtidas com iniciadores ITS5 e ITS4. **Resultados:** Foi possível ajustar um programa de amplificação para identificação das espécies associadas ao ‘Pé-preto’ em PCR direta e otimizar um programa de segunda rodada de PCR *Nested* para detecção específica de cada espécie estudada. **Conclusão:** A detecção dos fungos de podridão de tronco da videira é de extrema importância para a garantia da qualidade fitossanitária do material propagativo de videira, impedindo a contaminação de novas áreas de produção.

Palavras-chave: Detecção molecular, *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phaeoacremonium spp*, *Cylindrocarpon spp*, *Ilyocnetria spp*.