

Emprego do método RAPD na análise de diversidade genética em linhagens de fungos causadores de podridões do tronco da videira

Ícaro Da Ré⁽¹⁾ e Fabio Rossi Cavalcanti⁽²⁾

⁽¹⁾ Bolsista, Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS. ⁽²⁾ Pesquisador, Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS.

Resumo – Uma abordagem para investigar a variabilidade genética em diferentes espécies de fungos causadores de podridão do tronco da videira isolados no Rio Grande do Sul foi experimentada por sua facilidade e praticidade: o RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). O RAPD auxilia na identificação e caracterização da diversidade genética em linhagens de fitopatógenos. Para isso, uma coleção de trabalho com diferentes espécies foi selecionada a partir da confirmação de seus produtos de PCR, sequenciamento e BLASTn. Conforme disponibilidade, foram utilizadas diferentes linhagens do mesmo fungo na condução do presente estudo. Os ensaios abordaram *Phaeoconiella chlamydospora* e *Phaeoacremonium* (causadores da doença de Petri e chocolate), *Fusarium oxysporum* f.sp. *herbemontis* (fusariose), *Neofusicoccum parvum* e *Botryosphaeria dothidea* (podridões descendentes), *Ilyonectria* spp. e *Cylindrocarpon* sp. (causadores do pé-preto). Um microlitro do DNA fúngico foi adicionado em mistura reacional utilizando Taq DNA-polimerase e submetida à configurações de reação específicas para os iniciadores aleatórios (GAC)₅, (GTG)₅ e M13, em primeira abordagem. Para cada iniciador, obteve-se um padrão de bandas característico que, por sua vez, foi convertido em uma matriz binária (x,y) de dados, com o eixo x indicando presença (1) ou ausência (0) de banda, e o eixo y indicando a massa molecular comparativa. Com os dados obtidos, foram então calculadas matrizes de distância e similaridade usando o índice de Jaccard (1901). Dendrogramas foram reconstruídos com o método de agrupamento hierárquico UPGMA. Um script desenvolvido em R agregou as análises fornecidas pelos pacotes ade4, ape, parallelDist e phangorn. Pelo RAPD, foi possível produzir agrupamentos interespecie discriminando os grupos de fitopatógenos estudados. A abordagem também demonstrou potencial diferenciação de linhagens intraespecíficas em fungos causadores de podridões de tronco da videira.

Termos para indexação: *Vitis* spp., marcador molecular, dendrograma.