



CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *PLASMOPARA VITICOLA* NA SERRA GAÚCHA.

Keoma da Silva (PIBIC/CNPq), Zacaria, J., Carrau-Bonomi, J.L., Delamare, A.P.L., Sergio Echeverrigaray Laguna (Orientador(a))

Plasmopora viticola é um patógeno obrigatório e biotrófico conhecido como agente causal do míldio da videira ou “downy mildew”. O míldio da videira é uma doença devastadora que resulta em importantes perdas econômicas e danos ambientais em decorrência da repetida aplicação de fungicidas para seu controle. O objetivo do presente trabalho é contribuir para a caracterização genética de populações de *P. viticola* no sul do Brasil, tanto em *V. vinifera* como em *V. labrusca*. Para tanto, foram coletadas 28 amostras de folhas de *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca* com sinais de míldio da videira, em vinhedos da região da serra gaúcha. Inicialmente, foram avaliados vários protocolos de extração de DNA fúngico das amostras, selecionando-se o método EBCTAB. Este protocolo foi aplicado para as amostras coletadas oriundas dos vinhedos. Para avaliação de diversidade por RFLP-PCR foram escolhidos primers correspondentes à sequência cromossômica ITS5-5,8S e das sequências mitocondriais NADH e COX2, desenhados para *Phytophthora* e previamente utilizados em *Plasmopara*. Visando confirmar a especificidade dos primers e escolher enzimas adequadas à avaliação de variabilidade, foi realizada análise bioinformática através do programa PrimerBlast (NCBI) e BioEdit, respectivamente. Considerando o tipo de amostra utilizada, as comparações foram realizadas especificamente para sequências depositadas de *Plasmopara sp.*, *Phytophthora sp* e *Vitis sp*. Os resultados mostraram que os primers COX, NADH e ITS são específicos para oomicetos não amplificando sequências correspondentes em *Vitis*. Por outro lado, apenas a clivagem dos fragmentos COX com *HaeIII* e *Hinfl* e NADH com *HaeIII* permitem a separação dos gêneros *Plasmopara* e *Phytophthora*. Cortes do amplicon NADH com *Mbol* e *TaqI*, permite ainda a separação das quatro espécies de *Plasmopara* depositadas no GeneBank. No caso dos primers ITS, a análise mostrou pequena diferença no tamanho dos amplicons e separação de *Plasmopara* e *Phytophthora* através de cortes com *Hinfl*. Dados experimentais mostraram que os primers COX, NADH e ITS permitem a amplificação específica de oomicetos, gerando amplicons de 450 a 500pb, 800 a 900pb e 500pb, respectivamente. Não foram obtidos amplicons em amostras de videira sadia para nenhum dos pares de primers avaliados. O presente projeto está na fase das clivagens com as enzimas, padronização dos métodos e coleta de amostras para aumentar a representatividade do levantamento.

Palavras-chave: plasmopara, míldio, videiras.

Apoio: UCS, CNPq.