## Otimização de protocolo de extração de RNA viral em videira

## João Frederico Mangrich dos Passos<sup>1\*</sup>, Murilo Dalla Costa<sup>1</sup>, André Luiz Kulkamp de Souza<sup>2</sup>

¹Pesquisador EPAGRI/Estação Experimental de Lages (EEL) – Rua João José Godinho, s/nº, Morro do Posto,88.506-080, Lages, SC; ²Pesquisador da Epagri, Estação Exprimental de Videira - EEV, - Rua João Zardo, 1.660, 89.560-000, Videira, SC. joaopassos@epagri.sc.gov.br

Infecções virais estão disseminadas nos pomares de videira do Sul do Brasil e não existem medidas curativas para contornar esse problema. O uso de protocolos de indexação molecular é amplamente empregado para diferentes estudos de detecção da presença ou ausência de vírus em plantas em várias culturas de interesse agronômico. O objetivo do trabalho é otimizar um protocolo de extração de RNA viral para ser possível selecionar mudas de alta qualidade fitossanitária de cultivares de videira de interesse a Santa Catarina, isentas de vírus após aplicação de termoterapia e quimioterapia em culturas in vitro. Mudas enxertadas de videiras foram produzidas na Estação Experimental de Videira (EEV). Esse material fornecerá explantes para estabelecimento in vitro e culturas no laboratório de Biotecnologia da Estação Experimental de Lages (EEL). Para realização dos ensaios experimentais, materiais vegetais de videira serão coletados de plantas matrizes infectadas por vírus, previamente identificadas por indexação sorológica e/ou molecular. A eficiência das técnicas de limpeza viral foram avaliadas por indexação molecular. A extração de ácidos nucleicos totais se deu a partir de 100 mg de fragmentos de lenho maduro de videira triturados em nitrogênio líquido (NL), seguindo o protocolo de extração de ácido nucleico por CTAB, adaptado para plantas lenhosas. O delineamento experimental terá treze tratamentos, compostos pelas onze variedades de videira, mais dois controles, um sabidamente positivo e outro sabidamente negativo. O protocolo de extração de RNA viral com o uso de CTAB 2%, a partir de amostras de lenho de videiras, não apresentou amplificação em nenhuma das amostras testadas. O resultado mostrou que para a indexação molecular de viroses em videira faz-se necessário utilizar outro desenho de protocolo. Devido às amostras não terem apresentado amplificação com o protocolo usando CTAB 2%. Novas extrações serão feitas, utilizando sílica no processo de extração.

Palavras-chave: Vitis sp., diagnose, PCR.

**Apoio: FAPESC**