

ENSAIO DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR PARA DETECÇÃO PRECOCE DA VASSOURA-DE-BRUXA EM THEOBROMA GRANDIFLORUM

I Simpósio de Microbiologia de Rondônia: Saúde, Ambiente e Inovação., 1ª edição, de 23/03/2021 a 25/03/2021
ISBN dos Anais: 978-65-86861-91-4

PRADO; LARYSSA DOS SANTOS ¹, RODRIGUES; THALYA DA SILVA ², SOUZA; NARCYA TRINDADE DE ³, SANTOS; JUSLEY SOUZA ⁴, CARVALHO; CLARICE MAIA ⁵, PETERS; LEILA PRISCILA ⁶

RESUMO

A vassoura-de-bruxa é uma doença causada pelo fitopatógeno *Moniliophthora perniciosa*, sendo responsável pela perda de inúmeras culturas, dentre elas o cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*), uma frutífera nativa da Região Amazônica. Essa espécie possui importância econômica e social principalmente para a região norte do Brasil, porém o seu cultivo está sendo muito afetado pela doença vassoura-de-bruxa. Desse modo, a detecção precoce do fitopatógeno é um dos pré-requisitos mais importantes para se ter um manejo bem-sucedido, uma vez que fornece bases sólidas para a prevenção e controle de doenças de plantas. Os testes de detecção baseados em PCR (reação em cadeia da polimerase) são mais sensíveis, confiáveis e rápidos, comparando-os aos métodos morfológicos e fenotípicos convencionais. Sendo assim, esta pesquisa teve como objetivo desenhar e testar *primers* específicos para *M. perniciosa* e detectar esse fitopatógeno precocemente em *T. grandiflorum*. O DNA foi extraído do basidioma de *M. perniciosa* e a região ITS foi amplificada via PCR e sequenciada pelo método de Sanger. A sequência consenso de *M. perniciosa* foi analisada quanto à homologia com outros patógenos fúngicos, que inclui *M. roleri*, *Crinipellis zonata*, *C. mauretana*, *C. setipes*, *C. scabella*, *C. brunnescens*, *Marasmius palmivorus*, *M. purpureostriatus*, *M. nigrobrunneus*, *M. lebeliae*, *M. graminum*, *Marasmiellus* sp., *M. palmivorus*, *Chaetocalathus* cf. *columellifer*, *C. liliputianus* e *Amyloflagellula inflata*, com sequências obtidas através do banco de dados NCBI, utilizando o algoritmo BLASTn. O alinhamento das sequências foi feito por meio do software BioEdit versão 7.2.5. Os *primers* foram projetados a partir das regiões conservadas para *M. perniciosa* e que não apresentavam similaridade com outras espécies estreitamente relacionadas, usando os softwares Primer3Plus e Primer-BLAST. O software PREMIER Biosoft foi usado para verificar as propriedades do oligonucleotídeo, como *hairpin*, *self dimer*, *cross dimer* e *GC clamp*. Três conjuntos de pares de *primers* (Mp01, Mp02 e Mp03) foram testados com o DNA de plantas saudáveis, doentes e com o DNA do micélio fúngico. Os resultados obtidos foram *amplicons* de aproximadamente 600 pb com os conjuntos de *primers* Mp02 e Mp03, utilizando o DNA gênomico de *M. perniciosa*. Entretanto, a detecção do fitopatógeno em plantas doentes foi obtida o utilizando o conjunto de *primers* Mp03, sendo possível detectar um *amplicon* de 180 pb. Além disso, não houve a amplificação em DNA de plantas saudáveis usando

¹ Universidade Federal do Acre, laryssaprado348@gmail.com

² Universidade Federal do Acre, thallyarodrigues@gmail.com

³ Universidade Federal do Acre, narcya.souza@gmail.com

⁴ Universidade Federal do Acre, jusley09@gmail.com

⁵ Universidade Federal do Acre, claricemaiaacarvalho@gmail.com

⁶ Universidade Federal do Acre, leilappeters@gmail.com

esse mesmo conjunto de primers. Com isso, os dados mostraram que o par de *primers* Mp03 é específico para *M. pernicioso* e futuramente poderá ser utilizado para detectar de forma precoce a doença vassoura-de-bruxa em *T. grandiflorum*.

PALAVRAS-CHAVE: Diagnose, ITS, Monilophthora pernicioso, PCR, Primer.

¹ Universidade Federal do Acre, laryssaprado348@gmail.com
² Universidade Federal do Acre, thallyarodrigues@gmail.com
³ Universidade Federal do Acre, narcya.souza@gmail.com
⁴ Universidade Federal do Acre, jusley09@gmail.com
⁵ Universidade Federal do Acre, claricemaiaacarvalho@gmail.com
⁶ Universidade Federal do Acre, leilappeters@gmail.com