

## Implementação de diagnóstico por PCR para *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (raça 4)

João Nilton Barreto Andrade<sup>1</sup>, Shirley Nascimento Costa<sup>2</sup>, Saulo Alves Santos Oliveira<sup>3</sup>, Edson Perito Amorim<sup>3</sup>, Fernando Haddad<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Estudante de Biomedicina da Faculdade Maria Milza, bolsista IC-CNPq; <sup>2</sup>Estudante de Mestrado em Microbiologia da Universidade Federal do Recôncavo Baiano; <sup>3</sup>Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura; E-mails: joaoandrade90@hotmail.com; shirleykosta@bol.com.br, saulo.oliveira@embrapa.br, edson.amorim@embrapa.br, fernando.haddad@embrapa.br

O mal-do-panamá é um dos principais problemas fitossanitários da bananeira, causado pelo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. A única alternativa eficiente para o controle da doença tem sido a utilização de variedades resistentes, o que nem sempre é possível. O surgimento de novas raças é preocupação constante. Dentro da classificação por raças fisiológicas, a raça 4 foi dividida em subtropical e tropical para diferenciar populações que afetam a variedade 'Cavendish' em condições subtropicais ou tropicais. A raça 4 tropical (RT4) foi descrita no início da década de 1990 no Sul da Ásia, e não ocorre no Brasil. Atualmente a RT4 é considerada a maior ameaça à bananicultura mundial, pois estima-se que mais de 80% das bananas cultivadas sejam suscetíveis a esta raça. Com o exposto, o monitoramento da ocorrência e/ou introdução desta raça no Brasil é de suma importância para a sustentabilidade da cultura. Sendo assim, é necessário a existência de laboratórios capacitados, técnica e metodologicamente, aptos a realizar o diagnóstico dos diferentes patógenos de importância econômica e quarentenária. Com isto, o objetivo deste trabalho foi implementar o diagnóstico molecular de TR4 no laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Para tanto, foram utilizados *primers* específicos e condições de amplificação descritos por Dita et. al. (2010) para a detecção de TR4. O DNA de referência, cedido por instituição parceira, foi utilizado como padrão de amplificação para TR4 para a validação do diagnóstico proposto nesta atividade. Além do DNA de TR4, foram utilizados para otimização da técnica DNAs de raça 1 do Brasil e de isolados coletados em diferentes regiões e variedades, inclusive isolados vindo da cultivar 'Nanicão', resistente à raça 1 porém suscetível à raça 4. Seguindo a metodologia desenvolvida para a detecção de TR4, houve a amplificação da região de interesse para o DNA padrão de TR4; porém, observou-se que também houve a amplificação inespecífica para as amostras de DNA dos outros isolados. Para otimizar a técnica para as condições do laboratório foram realizadas reações com diferentes temperaturas de anelamento. As temperaturas testadas foram: 61, 62, 63 e 64 °C. A melhor temperatura de anelamento testada foi 62 °C, onde houve a amplificação somente da região de interesse e somente para o DNA padrão de TR4. As condições da reação para detecção de TR4 foram ajustadas, ficando a temperatura de anelamento a 62 °C. Quando necessário, o laboratório de fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura está apto para realizar o diagnóstico de TR4 pela técnica de PCR.

**Palavras-chaves:** mal-do-Panamá; quarentena; diagnose molecular de fitopatógenos