

Implementação de diagnóstico por PCR convencional para *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense*, raça tropical 4

Edímille Vívian Batista Menezes Ramalho¹; Carlos Augusto D. Bragança²; Fernando Haddad³

¹Estudante de Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; ²Bolsista Pós-Doutorado CAPES/EMBRAPA; ³Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mails: viih_viih@hotmail.com, viih.bio@gmail.com, carlosadbraganca@gmail.com, fernando.haddad@embrapa.br

O mal-do-Panamá é uma das doenças mais destrutivas da cultura da banana, cujo agente causal é o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* (Foc), que apresenta alta persistência no solo na ausência do hospedeiro. 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 e fator desafiador para os programas de melhoramento que visam resistência à doença. Dentro da classificação por raças fisiológicas, a raça 4 foi dividida em subtropical e tropical para diferenciar populações que afetam Cavendish em condições subtropicais ou tropicais. A raça 4 tropical (R4T) foi descrita no início da década de 1990 na Ásia, e não ocorre no Brasil. Atualmente R4T é considerada a maior ameaça à bananicultura mundial. 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 é implementar o diagnóstico de R4T 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 R4T. O DNA de referência, cedido por instituição parceira, foi utilizado como padrão de amplificação para R4T para a validação do diagnóstico proposto nesta atividade. Além do DNA de referência foi utilizado 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 a raça 1 porém suscetível a raça 4. Após a extração do DNA dos isolados de Foc, segundo o protocolo de Zollan e Pukkila, realizou-se um ajuste de reação onde foram utilizados os *primers* específicos e condições de amplificação para a detecção de R4T. Foram realizados testes para ajuste de reação, onde se utilizou diferentes concentrações de reagentes e um gradiente de temperatura de anelamento dos *primers*, o que tornou possível implementar o diagnóstico molecular de R4T. A melhor temperatura de anelamento testada foi 58 °C, onde houve a amplificação somente da região de interesse e somente para o DNA padrão de R4T. Com estes testes fica evidente que o diagnóstico é exclusivo para R4T, podendo não detectar variantes do patógeno no Brasil que infecte materiais genéticos do grupo Cavendish.

Palavras-chave: Quarentena; Raça 4 Tropical; mal-do-panamá; raça 4