

Otimização da detecção do DNA-REP da família *Nanoviridae* em coqueiro com atrofia da coroa do coqueiro (Optimization of DNA-REP detection of the *Nanoviridae* family in coconut palm with coconut crown atrophy)

Caterynne Melo Kauffmann¹; Alessandra de Jesus Boari²; Brenda Estefany Silva Gavinho¹; Paulo Manoel Pontes Lins³; Dulce Warwick⁴; Joana Maria Santos Ferreira⁴; Rosana Blawid⁵; Tatsuya Nagata⁶.
¹Universidade Federal Rural da Amazônia, UFRA, Belém, PA; ²Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA; ³Sococo S/A, Ananindeua, PA; ⁴Embrapa Tabuleiros dos Costeiros, Aracaju, SE; ⁵Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Recife, PE; ⁶Universidade Nacional de Brasília, DF. Email: caterynne.kauffmann@hotmail.com.

A produção de coco (*Cocos nucifera* L.) na região norte e nordeste é de fundamental importância econômica para o Brasil, sendo o quarto maior produtor do mundo. No entanto, a partir da técnica de sequenciamento de alto desempenho (*Next-Generation Sequencing-NGS*) foi detectado o DNA-REP de um vírus pertencente à família *Nanoviridae* em coqueiros do Estado do Pará. Assim, o objetivo desse trabalho foi desenvolver uma metodologia para detecção do vírus em plantios doentes do Pará e estados do Nordeste. Cinco pares primers desenhados a partir da sequência do DNA-REP foram testados contra cinquenta amostras provenientes dos estados do Pará, Pernambuco, Bahia e Paraíba com e sem sintoma de atrofia da coroa do coqueiro (ACC). Realizou-se a extração do DNA, e em seguida fez-se o PCR. Não houve amplificação de DNA provavelmente devido à baixa concentração do vírus que é restrito ao floema. Assim, inicialmente foi realizada a reação de *Rolling Circle Amplification* (RCA) com intuito de aumentar a concentração do DNA circular do vírus de acordo com as orientações do fabricante (GE Healthcare), seguido do PCR testando cinco pares de primers. Após a diluição do DNA (1:10) obtido por RCA, as cinquenta amostras foram novamente submetidas ao teste da PCR, seguindo a programação de desnaturação inicial por 5 min a 94 °C; 40 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 30 segundos a 60 °C, e 30 segundos a 72 °C; e extensão final por 5 minutos a 72 °C. Com isso, foi selecionado um par de primers para diagnose com uma banda de aproximadamente 1000 pb, que permitiu a detecção do vírus em todas amostras provenientes dos quatro estados, com exceção do controle sadio. O sequenciamento dos produtos do PCR confirmou a presença do DNA-REP do *Nanoviridae* em coqueiros do Estado do Pará, Pernambuco, Bahia, Paraíba com ACC.

Palavras-chave: ACC; seleção de primers; *Cocos nucifera*

Apoio: Sococo S/A