

EXPOFITO
20 a 25
Outubro 2013
OURO PRETO MG



CBfito Sustentável



CONGRESSO BRASILEIRO
46^o Fitopatologia
11^a Reunião Brasileira Controle Biológico

REALIZAÇÃO:



Universidade Federal de Viçosa
Centro de Ciências Agrárias
Departamento de Fitopatologia



Sociedade Brasileira
de Fitopatologia

Uso e potencial do MALDI-TOF na detecção de fitopatógenos. Cledir Santos¹, Marta F. Simões¹, José Aires Ventura², Nelson Lima¹

¹IBB-Institute for Biotechnology and Bioengineering, Centre of Biological Engineering, Micoteca da Universidade do Minho, University of Minho, Braga, Portugal

²Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural – INCAPER – Vitória - ES, Brazil; E-mail: cledir.santos@deb.uminho.pt

O manejo eficaz das epidemias de doenças em plantas depende da capacidade técnica e do conhecimento científico disponível para detectar o agente fitopatogênico e realizar um diagnóstico correto. A identificação precisa e a detecção precoce de patógenos é crucial no monitoramento e estabelecimento das estratégias de controle, bem como na detecção de patógenos quarentenários que podem colocar em risco a produção agrícola de uma região ou mesmo de um país. Os métodos convencionais para a identificação de fitopatógenos baseiam-se na interpretação dos sintomas visuais *in loco* e/ou no isolamento e concomitante crescimento em meios de cultura específicos. A precisão e a confiabilidade destes métodos são altamente dependentes da experiência técnica e do conhecimento científico do pesquisador responsável pelo diagnóstico. Os diagnósticos que requerem o isolamento e crescimento dos fitopatógenos em meio de cultura podem ser morosos, o que em muitos casos pode se tornar impraticável quando é necessário obter resultados em um curto espaço de tempo, como no caso de patógenos quarentenários. Além disso, em certos casos a identificação com base apenas nas características morfológicas dos agentes fitopatogênicos pode não ser alcançada, uma vez que estas características são insuficientes para a sua distinção e correta identificação. A espectrometria de massa, pela técnica de MALDI-TOF MS, tem sido usada como uma abordagem fenotípica para a identificação rápida de fitopatógenos em culturas puras e em plantas. Quando aplicada à identificação de fitopatógenos, esta técnica está fundamentada na análise das proteínas constituintes das células microbianas intactas, onde o espectro de massa dos biomarcadores celulares é gerado e interpretado como um *fingerprint* celular. Para tal, na análise de rotina, normalmente uma pequena quantidade da amostra do material biológico – cerca de 1 µg de biomassa – é transferida directamente da placa de cultura para a placa de MALDI-TOF e recoberta por uma matriz orgânica em solução aquosa e acidificada. A acidez desta solução é fundamental para uma extração óptima dos biomarcadores a serem analisados. Depois de evaporada a fase líquida, obtém-se um material cristalizado, necessário à ionização das moléculas. As amostras são, então, submetidas a um sistema de vácuo e irradiadas por um laser pulsado de nitrogénio a 337 nm. Esta irradiação conduz à ionização suave das moléculas, onde a matriz orgânica previne a fragmentação molecular. A nuvem de íons gerada durante a ionização é acelerada para dentro do tubo “TOF”, onde esses íons são separados de acordo com os seus tempos de voos individuais. O tempo de voo de cada íon ocorre em função da razão massa/carga (m/z) e os espectros finais são obtidos numa escala de 2 a 20 kDa. Finalmente, esses espectros são tratados numa bancos de dados contendo espectros teóricos e experimentais para as diferentes espécies de fungos. Na presente conferência serão apresentados os últimos avanços sobre a técnica de

MALDI-TOF MS aplicada à identificação de fitopatógenos em culturas puras e em plantas.