



NOTA CIENTÍFICA

ESTABELECIMENTO DE UMA COLEÇÃO NUCLEAR DE *Moniliophthora perniciosa*, FUNGO CAUSADOR DA VASSOURA DE BRUXA DO CACAUEIRO

***Tháisa Rodrigues da Silva*^{1,2}, *Rayanne França Pereira*^{1,3}, *Franco Jesus de Andrade*¹,
Karina Peres Gramacho^{1,3*}**

¹CEPLAC/CEPEC - Seção de Fitossanidade Laboratório de Fitopatologia Molecular- FITOMOL;

²Programa PIBIC-CNPQ/CEPLAC/MAPA - Universidade Federal do Sul da Bahia - UFSB, Itabuna, BA, Brasil,
taisars15@hotmail.com

³DCB- Universidade Estadual de Santa Cruz-UESC, Ilhéus, BA, Brasil.

*Autor para correspondência: gramachokp@hotmail.com

Coleções de cultura biológicas de referência e bancos de dados de sequência autenticados são vitais para o desenvolvimento de pesquisas, como, por exemplo, diagnóstico e melhoramento genético de resistência às doenças. A partir de uma metanálise, este estudo visou estabelecer uma coleção biológica nuclear referência de *Moniliophthora perniciosa*. Cento e cinquenta isolados de diferentes regiões, hospedeiros, e outras informações relativas às coletas foram autenticados por estudos fitopatológicos, ômicos e genéticos. O estabelecimento de uma coleção nuclear é fundamental à manutenção e preservação de isolados de referência do fungo, sendo essencial para avançar no entendimento da biologia e controle de *Moniliophthora perniciosa*.

Palavras-chave: Cacau, cupuaçu, coleção biológica, validação diagnóstica.

Establishing a core collection of *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of the Witches' Broom disease of cacao. Biological reference culture collections and authenticated sequence databases are vital for developing disease resistance diagnostics and genetic improvement. This work aimed to establish, using meta-analysis, a nuclear biological reference collection of *Moniliophthora perniciosa*. Phytopathological, omics, and genetic studies authenticated one hundred and fifty isolates from different regions, hosts, and group years. Establishing a nuclear collection not only fills research gaps but is also fundamental in the maintenance and preservation of reference isolates of the fungus, essential to advancing the understanding of the biology and control of *Moniliophthora perniciosa*.

Key words: Cacao, cupuaçu, culture collection, diagnostic validation.

Coleções biológicas de referência, incluindo micróbios vivos e preservados, coleções de cultura e bancos de dados de sequência autenticados são essenciais para o desenvolvimento e validação de ensaios diagnósticos robustos, bem como melhoramento genético para resistência a doenças (BOUNDY-MILLS et al. 2020). No entanto, a longo prazo, à medida que novos exemplares vão sendo incorporados, a preservação, curadoria, manutenção de registros e procedência de dados de coleções assumem um papel significativo. O estabelecimento de uma “coleção nuclear representativa” envolve a criação de uma coleção referenciada de um dado fitopatogênico, onde esse patógeno é armazenado, estudado e mantido para diversos propósitos, como pesquisa, conservação e uso em estudos de fitopatologia. Essas coleções são extremamente valiosas para pesquisadores e profissionais que trabalham no campo da fitopatologia, pois, dentre outros, permitem o acesso a uma ampla variedade de patógenos de plantas para fins de estudo, diagnóstico, desenvolvimento de métodos de controle e pesquisa genética. O objetivo deste trabalho foi estabelecer uma coleção biológica nuclear referência de *Moniliophthora perniciosa*.

O fungo *Moniliophthora perniciosa* Stahel (Singer), agente causal da Vassoura de Bruxa do Cacaueiro, é um fitopatogênico de grande importância econômica. Por muitas décadas, o Brasil se manteve entre os países com maior produção de amêndoas de cacau, estando os estados da Bahia e do Pará como os maiores produtores. Mas, devido a presença da doença, o país tem se mantido entre a quinta e sétima posição do ranking mundial. Além do cacaueiro e do cupuaçuzeiro, *M. perniciosa* tem sido encontrado em associação com várias espécies hospedeiras das famílias *Bixaceae*, *Bignoniaceae*, *Malpighiaceae* e *Solanaceae*. No caso dos hospedeiros solanáceos, os sintomas da doença aparecem em uma grande variedade de plantas incluindo tomate, pimenta, pimentão, berinjela ou jiló (PATROCINO, et al., 2016).

A Coleção de Culturas de *Moniliophthora perniciosa* João Louis Marcelino Pereira é uma das maiores e mais importantes coleções de *M. perniciosa*. Esta coleção abriga cerca de 4.000 exemplares de *M. perniciosa*, todos devidamente identificados, e oriundos de diferentes locais,

hospedeiros, e surtos epidêmicos da doença. Os isolados são mantidos em duplicata, preservados pelos métodos de água destilada esterilizada (método Castellani) e óleo mineral. Todos informatizados na plataforma AGROTECA (FITOMOL/CEPLAC). A coleção é um importante recurso genético, e um acervo de referência nas pesquisas sobre esse patógeno.

Para uma coleção de tal magnitude, é essencial a existência de uma *core collection* ou coleção nuclear, que é um subconjunto representativo de 0,5% a 1% da coleção total. Essa coleção nuclear é projetada para conter o menor número de repetições possíveis e a máxima diversidade genética da espécie em questão, bem como de seus parentes (FRANKEL, 1984). Em outras palavras, ela busca representar, com a maior fidelidade, a riqueza alélica presente em toda a coleção.

Em geral, as coleções microbianas vivas estão ameaçadas devido à falta de recursos de apoio e isso limita o avanço científico. Logo, uma coleção nuclear deve ser estabelecida visando facilitar a manutenção/conservação de seus isolados e fomentar, por parte dos fitopatologistas, o uso da variabilidade conservada, ou seja, facilitando o acesso às informações mais relevantes e específicas de determinado fungo com finalidades para pesquisas, melhoramento e resistência a doenças (OLIVEIRA, J. P et al, 2011). Com o propósito de elucidar os eventos biológicos que acontecem nas plantas infectadas bem como nas resistentes, programas de genômica funcional e estrutural do cacaueiro e do patógeno foram desenvolvidos por diferentes grupos de pesquisa, a nível nacional e internacional. Como resultados desses trabalhos, isolados do patógeno têm sido caracterizados com base em marcadores moleculares, testes de patogenicidade, estudos funcionais e, dentre outros, estudos genômicos.

A criação de uma coleção nuclear é, essencialmente, um exercício de amostragem que se baseia na representação das informações já apresentadas na coleção principal (Figura 1A). Existe uma abundante literatura disponível que descreve métodos teóricos e práticos para estabelecer uma coleção nuclear. No entanto, não existe uma abordagem universal que possa ser aplicada a todos os casos, uma vez que cada coleção tem suas especificidades. Neste estudo, empregou-se uma metodologia que envolve uma técnica de metanálise.



Figura 1- **(A)** Representação das informações já disponíveis na coleção JLMP; **(B)** Formação da coleção nuclear provenientes de dados fitopatológicos, morfológicos, ômicos, quantitativos e/ou moleculares, ou ainda outros dados na compreensão da biologia e evolução de *M. perniciosa*.

Com este fim, foi realizado um levantamento bibliográfico a partir de artigos e teses publicadas e não publicadas, principalmente do grupo de pesquisa do laboratório de Fitopatologia FITOMOL/UESC, utilizando isolados de *M. perniciosa* depositados na Micoteca João Louis Marcelimo Pereira (JLMP). Os vários estudos foram agrupados em um banco de dados único. E, como parte desse processo, as informações foram sistematizadas em planilha em Excel contendo informações fornecidas sobre a origem geográfica, tipo de estudos realizados, espécie-hospedeira, patótipos, dados genômicos, tecnologia de sequenciamento, dentre outros.

A coleção nuclear foi estabelecida com cento e cinquenta isolados provenientes de estudos fitopatológicos, morfológicos, ômicos, quantitativos e/ou moleculares, ou ainda outros dados que tenham identificado uma tendência a particularidades e lacunas na compreensão da biologia e evolução de *M. perniciosa* (Figura 1B). Portanto, estes isolados são considerados referência para, dentre outros estudos, o desenvolvimento e validação de ensaios diagnósticos robustos, bem como melhoramento genético para resistência a vassoura de bruxa e testes de

patogenicidade. Destaca-se ainda, que trata-se de uma coleção dinâmica e com o decorrer dos resultados dos estudos em andamento, a mesma poderá ser ampliada e/ou modificada, se necessário.

Literatura Citada

- BOUNDY-MILLS, K., MCCLUSKEY, K., ELIA, P., GLAESER, J. A., LINDNER, D. L., NOBLES, JR., D. R., NORMANLY, J., OCHOA-CORONA, F. M., SCOTT, J. A., WARD, T. J., WEBB, K. M., WEBSTER, K., and WERTZ, J. E. 2020. Preserving US microbe collections sparks future discoveries. *Journal of Applied Microbiology* 129(2):162-174.
- FRANKEL, O. H. 1984. Genetic perspectives of germoplasm conservation. In: Arber, W. K.; Limensee, K.; Peacock, W. J.; Starlinger, P. (eds). *Genetic Manipulation: impact on man and society*. Cambridge University Press, Cambridge. pp.161-170.
- OLIVEIRA, J. P. de; DEL PELOSO, M. J.; SILVA, H. T. da; FONSECA, J. R.; MELO, L. C.; SILVA, S. C. da; COSTA, J. G. C. da; 2011. Core

collection brasileira de *Phaseolus vulgaris* L. In: Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão, 10. 2011. Goiânia. Anais... Embrapa Arroz e Feijão, Goiânia, GO.

PATROCINIO, N. G. R.B.; CERESISNI, P. C.; L. I. S. GOMES; M. L. V. RESENDE; MIZUBUTI,

E.S.G.; GRAMACHO, K. P. 2016. Population structure and migration of the witches' broom pathogen *Moniliophthora perniciosa* from cacao and cultivated and wild solanaceous hosts in southeastern Brazil. Plant Pathology 66:900-911.

