

Caracterização de fitopatógenos do cacau (*Ceratocystis cacaofunesta* e *Phytophthora palmivora*) por MALDI-TOF/MS

Flamys L. N. Silva^{1*} (PQ), Fábio N. dos Santos¹(PG), Kátia R. A. Belaz¹(PQ), Alessandra Tata¹(PQ), Dilze M. A. Magalhães²(PQ), Marcos N. Eberlin¹(PQ)
flsilva@iqm.unicamp.br

¹ Laboratório ThoMSon de Espectrometria de Massas, IQ-UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brasil.

² Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira/Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), Ilhéus, Bahia, Brasil.

Palavras Chave: cacau, fungos, MALDI-TOF/MS

Introdução

Ceratocystis cacaofunesta é um fitopatógeno do cacau (*Theobroma cacao* L.) responsável pela doença conhecida como murcha de *Ceratocystis* que é caracterizada pelo murchamento e a morte da planta. Já o *Phytophthora palmivora* é um patógeno causador de muitas doenças em uma variedade de plantas tropicais. A caracterização destes fitopatógenos e sua identificação nas lavouras cacaueiras do Brasil são fundamentais para a seleção do método de controle adequado a fim de evitar a morte das plantas e as perdas de produção de cacau. Na microbiologia clínica a caracterização segura e inequívoca de microorganismos é realizada através dos perfis de proteínas ribossomais característico obtido por MALDI-TOF/MS.¹ Nesse trabalho, o objetivo foi caracterizar os fitopatógenos *C. cacaofunesta* e *P. palmivora* através do perfil lipídico característico obtido por MALDI-TOF/MS. Amostras de seis isolados de *C. cacaofunesta* (Cc195, Cc20, Cc38, Cc91, Cc97 e Cc141) e quatro de *P. palmivora* (Pp 2133, Pp2289, Pp2416, e Pp2415) foram cedidas pelo CEPEC. O método de extração dos lipídios foi o Bligh-Dyer² modificado (clorofórmio/metanol) (2:1) com ultrassom por 5 min. A fase inferior foi coletada e 1µL foi adicionado na placa de MALDI seguida pela adição da matriz (DHB). As análises foram realizadas no espectrômetro de massas Bruker Autoflex III MALDI-TOF/TOF com software Biotyper 3.0 (Bruker Daltonics).

Resultados e Discussão

Os espectros obtidos mostraram íons mais intensos na região característica dos fosfolipídios¹ (m/z 700-1200) sendo os principais íons m/z 709,551; m/z 737,575; m/z 768,535; m/z 782,835; m/z 850,513; m/z 882,537; m/z 896,548; m/z 1020,671; m/z 1051,597; m/z 1165,646. Foram analisadas 8 réplicas de cada um dos isolados. Os espectros obtidos mostraram similaridade nos íons detectados. Os 32 espectros dos isolados (Cc38, Cc91, Cc97 e Cc141) foram utilizados para obtenção de um espectro médio da espécie *C. cacaofunesta* e os isolados Cc20 e Cc195 foram utilizados com cepas “desconhecidas” para validar o banco de dados. As amostras “desconhecidas” tiveram a sua espécie confirmada no Biotyper 3.0 através dos seus espectros com os da biblioteca mostrando que é 37ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

possível caracterizar e identificar as espécies *C. cacaofunesta* e *P. palmivora* a partir do perfil lipídico por MALDI-TOF/MS com segurança.

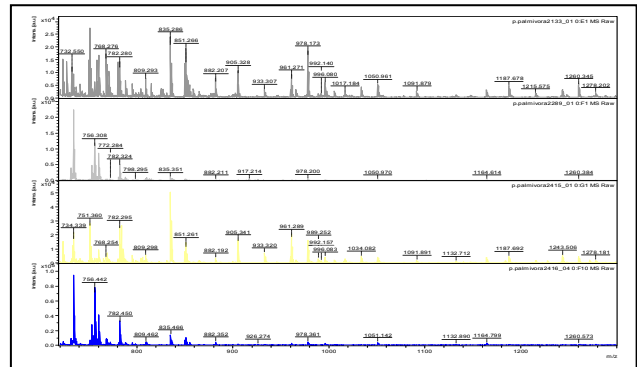


Figura 1. Espectro de massas do *P. palmivora* por MALDI-TOF/MS.

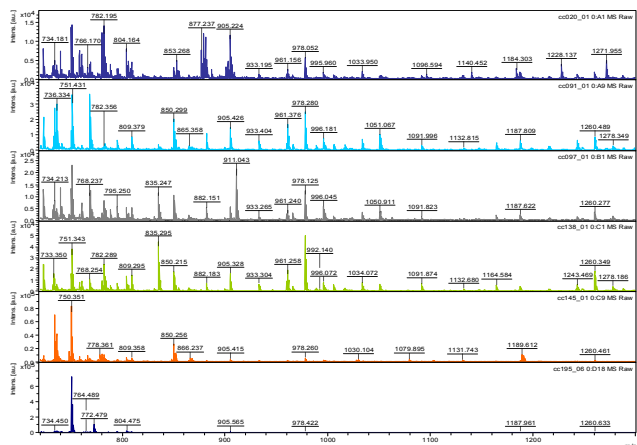


Figura 2. Espectro de massas do *Ceratocystes* por MALDI-TOF/MS.

Conclusões

A técnica MALDI-TOF/MS permitiu a caracterização do perfil lipídico de duas espécies de fungos do cacau (*C. cacaofunesta* e *P. palmivora*). Uma biblioteca foi construída a partir dos dados obtidos.

Agradecimentos

CNPq, CEPEC e laboratório THOMSON.

¹ Schiller J.; R.; Sub, R.; Arnhold, J.; Fuchs, B.; Lebig, J.; Muller, M.; Petkovic, M.; Spalteholz, H.; Zschornig, O.; Arnold, K. Matrix-assisted laser desorption and ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry in lipid and phospholipid research.

² Bligh Eg, D. W. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can J Biochem Physiol. 1959 Aug; 37 (8): 911-7. PubMed PMID.