



Utilização de controles positivos sintéticos na detecção molecular de pragas quarentenárias ausentes e exóticas

Graziela da Silva Barbosa¹, Ana Leticia Rocha Monteiro¹, Laianny Morais Maia¹, Paulo Henrique da Silva¹, Zacarias Ribeiro Júnior¹

¹Syngenta Seeds, Uberlândia, MG, Brasil

E-mail: graziela.barbosa@syngenta.com

Diante da necessidade de interceptação, detecção de pragas quarentenárias ausentes (PQAs) e de pragas exóticas, as Estações Quarentenárias utilizam-se de inúmeras ferramentas, dentre elas as moleculares, que são mais sensíveis, rápidas e eficientes. Contudo, tem-se como fator limitante a ausência de controles positivos para a diagnose de PQAs e exóticas. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a utilização de genes sintéticos como controles positivos para a detecção de pragas quarentenárias ausentes e exóticas por meio da Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR). A metodologia utilizada para a obtenção dos controles positivos para a detecção de vírus e bactéria foi através da síntese de fragmentos de fita dupla de DNA (gBlocks™). Os controles foram desenhados com base nas sequências dos oligonucleotídeos *forward* e *reverse* já disponíveis na literatura, empregando-se a ferramenta Blastn. Para isso, utilizou-se como referências, sequências genômicas de cada uma das espécies de vírus e de bactéria depositadas no GenBank, no qual apresentaram maior porcentagem de identidade. Foram sintetizados genes sintéticos para a detecção dos seguintes vírus e bactéria em sementes:

Barley stripe mosaic virus (BSMV), *High Plains Wheat mosaic virus* (HPWMOV), *Pepino mosaic virus* (PepMV), *Tobacco rattle virus* (TRV) e *Burkholderia glumae* (Bg). A partir da reação de qPCR, utilizando-se de oligonucleotídeos específicos para cada praga, foi possível detectar a fluorescência, empregando diluições seriadas do controle positivo a partir de 1 ng/μL. À vista disso, verificou-se que o emprego de genes sintéticos como controles positivos foi eficiente, além de suprimir o risco eventual de introdução de novas pragas quarentenárias ausentes e/ou exóticas no país, ao excluir o uso de tecidos infectados para a referida finalidade.

Palavras-chave: Bactéria quarentenária, Defesa fitossanitária, Genes sintéticos, qPCR, Vírus quarentenários.