

Ciências Biológicas

**IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE FUNGOS
ENTOMOPATOGÊNICOS ASSOCIADOS AO CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ
(HYPOTHENEMUS HAMPEI)**

Alícia Maciel Rezende - 8º módulo de Ciências Biológicas (Bacharelado), UFLA

Jorge Teodoro de Souza - Coorientador, Professor do Departamento de Fitopatologia, UFLA.

Paulo Henrique Alves de Melo - Professor Visitante do IFMG, Piumhi.

Pedro Luiz Teixeira de Camargo - Professor Visitante do IFMG, Ouro Preto.

Carlos Godinho de Abreu - Pós-doutorando Laboratório de Ecologia Microbiana e Bioinformática, UFLA.

Victor Satler Pylro - Professor do Departamento de Biologia, UFLA. – victor.pylro@ufla.br. - Orientador(a)

Resumo

O setor cafeeiro, com destaque para o *Coffea arabica*, desempenha papel fundamental na economia mineira. Entre os principais entraves à produção e à qualidade está a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*), que causa danos à integridade dos frutos. O manejo integrado de pragas propõe o uso de agentes biológicos como estratégia de controle, onde o fungo entomopatogênico do gênero *Beauveria* é o mais estudado no controle biológico. Inicialmente, foram selecionados seis isolados fúngicos coletados dos frutos de café associados a microrganismos de uma fazenda no município de Piumhi, Minas Gerais, onde existe baixa incidência de broca-do-café em comparação com a região. Assim, o objetivo deste trabalho consistiu em (1) realizar a identificação morfológica por meio de microscopia de luz, e (2) realizar a extração de DNA dos isolados e a identificação molecular através da amplificação de marcadores moleculares e posterior sequenciamento pelo método de Sanger. Os fungos foram isolados de frutos desinfestados (álcool 70%, hipoclorito, água estéril), moídos (1 g) em água estéril. Seguidos de diluições 10^{-3} – 10^{-6} , onde foram semeados em meio BDA. O período de incubação durou 3 dias a 25 °C. As colônias em crescimento foram transferidas para novas placas para a obtenção das culturas puras. A caracterização morfológica dos isolados, realizada por microscopia de luz, indicou a presença de isolados com características compatíveis aos gêneros: (2) *Trichoderma*, (2) *Clonostachys*, (1) *Metarhizium* e (1) *Absidia*. Após semeadura em meio BDA, por 10 dias a 25,8 °C, foi realizada a extração de DNA dos isolados. O DNA genômico foi extraído e purificado utilizando o kit de extração CTAB (Brometo de Cetiltrimetilamônio), seguindo as instruções do fabricante. A quantificação e pureza do DNA foi analisada por espectrofotometria utilizando o equipamento Nanodrop One (Nanodrop Technologies, Wilmington, DE, EUA) (260/280 nm). O DNA foi purificado utilizando esferas metálicas MAGTIVIO®. A integridade do DNA foi confirmada por eletroforese em gel de agarose a 0,8% com tampão TAE 1X. A quantificação do DNA genômico dos isolados indicou boa pureza e qualidade. O próximo passo será a amplificação de diferentes regiões genômicas para o sequenciamento e identificação molecular a nível de espécie. Serão aplicados primers específicos: *tef1* (fator de alongação da RNA polimerase) a todos os isolados; em *Absidia* também ITS (espaçador transcrito do RNA ribossomal) e *Act1* (actina).

Palavras-Chave: microrganismos, controle biológico, extração.

Instituição de Fomento: FAPEMIG

Link do pitch: <https://youtu.be/Zc9vaQj6F1M?si=MhGE8j5IIRbHkl2s>