

Caracterização de isolados monospóricos e polispóricos de *B. sorokiniana* por REP-PCR

Iwanczuk, K.¹, Van Der Sand S.T. ^{1,2}

¹ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

² Orientador



XXV SIC
Salão Iniciação Científica

CB - Ciências Biológicas

INTRODUÇÃO

Bipolaris sorokiniana é um fungo filamentosso responsável pela morte de plântulas de trigo e outras gramíneas, ocasionando diferentes moléstias de acordo com o órgão da planta afetado.

O fitopatógeno pode sobreviver em resíduos culturais que somado a condições ambientais favoráveis, podem proporcionar a multiplicação do fungo e o desenvolvimento da doença. No Brasil, grandes perdas econômicas ocorrem na cultura do trigo pela presença do fungo.

OBJETIVO

O presente estudo teve por objetivo investigar a diversidade genética de isolados de *B. sorokiniana* utilizando a técnica de REP-PCR.

METODOLOGIA

Para realização do trabalho foram utilizados 32 isolados monospóricos e 16 polispóricos de *B. sorokiniana* oriundos de semente de trigo do Brasil e de outros países. A extração de DNA genômico seguiu protocolo descrito por Ashktorab et al. (1992).

Os primers REP 1R e REP 2 (Redondo et al. 2009) foram utilizados para amplificar o DNA dos isolados monospóricos e polispóricos.

As reações de PCR foram realizadas em um volume de 25µL contendo tampão 1x, 4 mM de MgCl₂, 0,02mM dNTP, 1,2 µM REP1R, 1,2 µM REP2R, 100ng de DNA e 2U *Taq polymerase*. As condições da reação foram: 94°C por 5 minutos, 94°C por 1 minuto, 40°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto e 30 segundos e 72° por 5 minutos. Os produtos foram submetidos a corrida em gel de agarose 1,5%, 60mA/4 horas. Posteriormente analisados utilizando o programa Gel-Pro Analyser e a matriz no programa PAST (Paleontological statistics software package).

RESULTADOS

Com os resultados das ampliações obtidos até o momento observou-se diversidade genômica entre os isolados de mesma origem polispórica, apresentando padrões intraespecíficos distintos (Fig. 1).

O fragmento 536pb foi observado em 45 dos isolados.

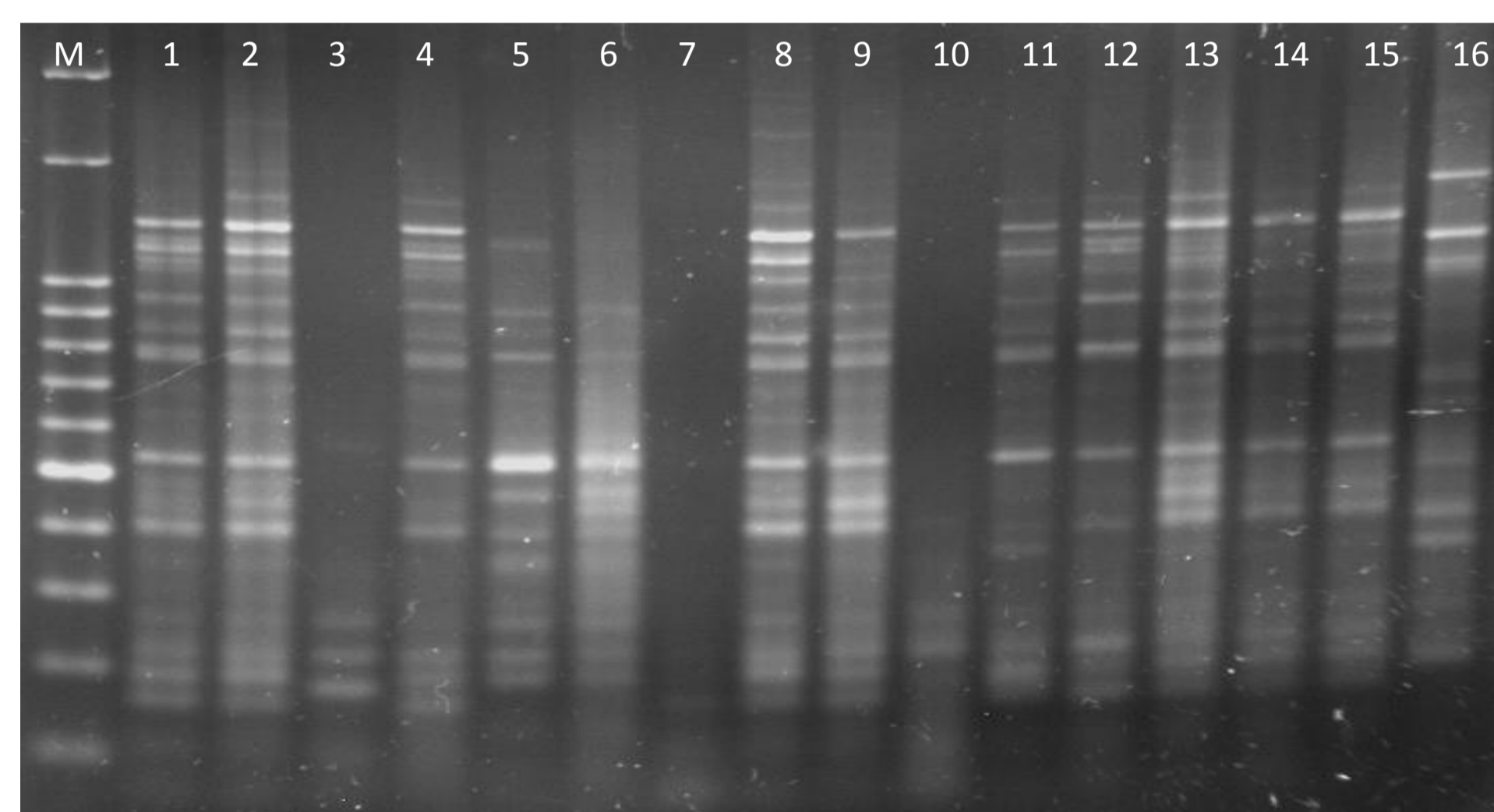


Figura 1. Gel de agarose 1,5 % , 1. ladder 100pb; 2. 98010B; 3.98012A; 4. 98012C; 5. 98013A; 6.98017P; 98017B; 7.98031B; 8. 98032C ; 9.98034P; 10.98034A; 11.98041P; 12.98041B; 13.BS18M2P; 14.BS18M2A ; 15. BS18M2C; 16. NRRLP;

Embora a técnica da REP-PCR tenha sido desenvolvida com base em sequências repetitivas de procaríotos, a técnica se mostrou eficiente também na diversidade de fungos filamentosos. Por analisar o genoma completo dos microrganismos, a REP-PCR apresenta uma avaliação mais ampla em relação a algumas técnicas que restringem a análise de fragmentos específicos do DNA.

PERSPECTIVAS

Identificar um ou mais fragmentos monomórficos e sequenciá-los para que os mesmos sejam utilizados como marcadores genéticos.

REFERÊNCIAS

¹ASHKTORAB, H.; COHEN, R.J. Facile isolation of genomic DNA from filamentous fungi. *Biores Technol*, 13, 198-200, 1992.

²Redondo C, Cubero J, Melgarejo P. Characterization of *Penicillium* species by ribosomal DNA sequencing and BOX, ERIC and REP-PCR analysis, 168(1):11-22, 2009



MODALIDADE
DE BOLSA

