

E. Ciências Agrárias - 1. Agronomia - 3. Fitossanidade

OTIMIZAÇÃO PARA EXTRAÇÃO DE DNA EM *Amphobotrys ricini*

Ademilde Silva dos Reis ¹

Angelo Gallotti Prazeres ²

Simone Alves Silva ³

Ricardo Franco Cunha Moreira ³

Ana Cristina Fermino Soares ⁴

Antonio Alberto Rocha Oliveira ⁵

1. Graduada em Agronomia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.
2. Doutorando em Ciências Agrárias da UFRB, Cruz das Almas. Professor do IFBaiano.
3. Professores Adjunto, CCABB / NBIO, Cruz das Almas / BA.
4. Professora Titular, CCABB, Cruz das Almas / BA.
5. Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, BA.

INTRODUÇÃO:

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) apesar de ser uma planta rústica, é bastante acometida por vários microrganismos, como: fungos, vírus e bactérias, responsáveis por prejuízos de grande expressão econômica, caso as condições climáticas sejam favoráveis ao seu desenvolvimento (SANTOS et al., 2001). O mofo-cinzento, causado pelo fungo *Amphobotrys ricini* (Buchw.) Hennebert, atua como uma das patologias mais importantes, causando grandes prejuízos à produção, destruindo inflorescências e racemos, e assim reduzindo a produção de óleo pela diminuição dos frutos colhidos (LIMA et al., 2001). A utilização de genótipos de mamoneira resistentes ao mofo cinzento tem sido a maneira mais efetiva no controle desta fitomoléstia. O melhoramento genético da mamoneira vem avaliando, através da incidência e severidade desta doença em cachos, as diferentes reações dos genótipos desta oleaginosa à infecção por *A. ricini*, no Brasil. A fim de viabilizar a extração do DNA total do *A. ricini*, este trabalho objetivou testar e ajustar dois protocolos para extração de DNA (ZOLAN & PUKILLA, 1986; WEISING, 1995), o que favorecerá a caracterização molecular das cepas do referido patógeno.

METODOLOGIA:

Cinco isolados de *A. ricini*, sendo dois (CMM-1214 e CMM-1215) cedidos pela Universidade Federal Rural de Pernambuco e três (ANG-1, RON-14 e MIR-10) do Banco de Germoplasma de Mamoneira do NBIO do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, foram isolados de cachos de mamoneira com sintomas do mofo-cinzento. Obteve-se a cultura monospórica de cada isolado, foi coletado o micélio dos mesmos e extraído o DNA genômico segundo os protocolos descritos por Zolan & Pukilla e Weising, que diferiram entre si nos tampões de extração empregados em algumas etapas e utilização da RNase (10mg/ml). Os resultados dos géis de eletroforese sofreram transformação para dados binários. O programa Darwin (Ver. 5.0) foi utilizado para executar a análise combinada dos dados e avaliar o polimorfismo genético de cada locus e através do critério de agrupamento UPGMA, foi gerado um dendrograma, para visualizar a estrutura genética das populações do patógeno.

RESULTADOS:

Os quatro oligonucleotídeos utilizados na análise exibiram polimorfismos, sendo desta maneira recomendados para serem utilizados em futuros trabalhos com o *A. ricini*. A análise de agrupamento feita com os isolados de *A. ricini* com base em suas frequências fenotípicas possibilitou

constatar a proximidade entre os isolados MIR-10, CMM-1214 e CMM-1215 e seu distanciamento do isolado RON-14, segundo o protocolo de Weising. Para os protocolos testados, ambos foram satisfatórios para exibir o polimorfismo genético dos isolados, com exceção do isolado ANG-1, que em função da pouca quantidade de DNA genômico não foi evidenciado pelo protocolo de Weising. O protocolo de Zolan & Pukilla conseguiu maior rendimento de amostra extraída, enquanto que Weising além de apresentar padrão de pureza satisfatório para as amostras, não requer uso de clorofórmio e RNase.

CONCLUSÃO:

Em função de apresentarem um bom padrão de pureza associado a um rendimento satisfatório para as amostras avaliadas, os dois protocolos poderão ser utilizados para avaliar as populações do *A. ricni*.

Palavras-chave: Fitossanidade, Melhoramento Genético, Resistência.