

Cultivo e extração de DNA de isolados do agente etiológico da brusone do arroz

Aryanny Irene Domingos de Oliveira¹, Tiago Silva Oliveira², Fernanda Oliveira Magalhães³, Livia Teixeira Duarte Brandão⁴, Marta Cristina Corsi de Filippi⁵, Maria Monica Domingues Franco Cintra⁶, Lucia Vieira Hoffmann⁷

A brusone, causada pelo fungo *Pyricularia oryzae*, estado anamorfo de *Magnaporthe oryzae*, é considerada a doença mais importante que afeta a cultura de arroz (*Oryza sativa* L.), atacando as folhas, os nós dos colmos e diferentes partes da panícula, diminuindo a produtividade e podendo ocasionar perda completa da colheita. É a partir do conhecimento da estrutura genética do patógeno e da interação das diversas raças com as cultivares que pesquisas em brusone do arroz podem identificar novos genes de resistência e fazer sua incorporação em cultivares em uso. Assim, o objetivo do presente trabalho é avaliar a quantificação de DNA, a partir da extração do patógeno e, posteriormente, realizar o sequenciamento de genes de avirulência. Quatorze isolados foram selecionados de três diferentes Estados brasileiros, sendo tanto de terras altas (8731 (GO), 10938 (MT), 10940 (MT), 10925 (MT), 10953 (MT), 10956 (MT), 10960 (GO), 10962 (MT), 11048 (GO)) quanto irrigados (10007 (TO), 10726 (TO), 10794 (SC), 10846 (TO), 10885 (SC)). A extração de DNA foi realizada após quatorze dias do crescimento da repicagem para placas de Petri contendo meio BDA com tetraciclina, utilizando o protocolo modificado de Dellaporte (1983), com duas repetições de nove isolados, 10953, 10885, 10940, 10925, 10794, 10960, 10938, 10962, 10726, e apenas uma para o isolado 10956. Em seguida, realizou-se a quantificação, aplicando 2 µL de DNA estoque no Nanodrop 2000, e para a verificação da pureza das amostras, o valor da absorbância do DNA foi dividido pelo valor da absorbância de proteínas. Os isolados irrigados apresentaram valores de 1,56 a 2,06, enquanto os de terras altas foram de 1,86 a 2,33, com exceção do isolado 10956 que apresentou valor de 3,89. A pureza dos DNAs extraídos foi boa e observada pela relação entre absorbância a 260nm/280nm, $\geq 1,8$ e $\leq 2,20$, verificou-se que tanto os irrigados quanto os de terras altas apresentaram, em sua maioria, resultados satisfatórios, apontando apenas um dos isolados (10885) menor que o valor 1,8, e um isolado (10956) maior que o valor 2,20, o que pode ser um indicativo, respectivamente, de compostos orgânicos, como o fenol, e o RNA. Todos os isolados, mediante a extração, serão amplificados por PCR para o sequenciamento de genes de avirulência do patógeno.

¹ Graduanda em Ciências Biológicas, Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí, estagiária da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, aryannybioifurutai@gmail.com

² Biólogo, mestre em Genética e Biologia Molecular, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, SP, tsoliveira@gmail.com

³ Química, especialista em Tratamento de Resíduos, Universidade Federal de Goiás, analista da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, fernanda.magalhae@gmail.com

⁴ Mestre em Ciências Farmacêuticas, analista da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, livia.duarte@embrapa.br

⁵ Engenheira-agrônoma, Ph.D. em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, cristina.filippi@embrapa.br

⁶ Engenheira-agrônoma, mestre em Melhoramento Vegetal, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, maria.cintra@embrapa.br

⁷ Engenheira-agrônoma, doutora em Microbiologia Agrícola, pesquisadora da Embrapa Algodão, Campina Grande, PB, lucia.hoffmann@embrapa.br