

CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE *Puccinia polysora* ATRAVÉS DE MARCADORES MOLECULARES RAPD.

Claudia Cristina Ferreira dos Santos⁽¹⁾ & Carlos Roberto Casela⁽²⁾. ⁽¹⁾ Bolsista CNPq/RHAE - Embrapa/Milho e Sorgo, NBA/Lab. Biol. Molecular, Rod. MG 424, Km 65, CP 151, 35701-970, Sete Lagoas-MG, ⁽²⁾ Pesquisador Embrapa Milho e Sorgo.

Palavras-chave: *Zea mays*, ferrugem do milho, variabilidade genética

No Brasil, a ferrugem polysora, causada por *Puccinia polysora* Underw., constitui um sério problema para a cultura do milho, principalmente em plantios tardios nos estados de Goiás, Mato Grosso e Minas Gerais. Nos últimos anos, a doença tem sido observada também com alta severidade nos estados de São Paulo e Paraná. Os poucos trabalhos realizados até o momento demonstram que *P. polysora* é um patógeno de alta variabilidade (Ullstrup, 1965; Robert, 1962; Yeh, 1986). Estudos recentes conduzidos pela Embrapa Milho e Sorgo, indicam a existência de raças de *P. polysora* nas condições brasileiras (Casela et al., 1996). O uso de cultivares resistentes é considerado a medida mais eficiente para o controle da ferrugem polysora. Entretanto, a variabilidade genética representa uma dificuldade aos trabalhos de desenvolvimento de cultivares resistentes a esse patógeno. Informações sobre a variabilidade presente e potencial e sobre os mecanismos através dos quais essa variabilidade é gerada e mantida na população poderão permitir a antecipação de mudanças na população do hospedeiro que são mais difíceis de serem superadas pelo patógeno, permitindo a obtenção de uma resistência de maiores durabilidade e estabilidade. O presente trabalho objetivou caracterizar isolados de *Puccinia polysora* através de marcadores moleculares tipo RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Foram utilizados seis isolados monopustulares de *P. polysora*, obtidos em diferentes áreas de ocorrência da doença e selecionados levando-se em consideração dois parâmetros: reação de virulência observada em um grupo de dez cultivares de milho (BR112, CMS52, CMS17, CMS50, BR106, CMS33, BR201, BR001, CMS16 e BR3123) e representatividade em cada local amostrado (Casela et al., 1996). O isolado 02.95 foi obtido em Santa Helena (GO), os isolados 12.95 e 13.95 em Sete Lagoas (MG) e os isolados 17.95, 20.95 e 21.95 foram provenientes de Capinópolis (MG). A extração do DNA dos isolados monospóricos de *P. polysora* foi realizada com base na metodologia descrita por Roeder & Broda (1987), com algumas modificações. A quantificação do DNA foi realizada em espectrofotômetro a 260 nm e sua pureza estimada pela razão A_{260}/A_{280} . A qualidade do DNA extraído foi também analisada eletroforéticamente em gel de agarose a 0,8%. As reações de amplificação foram realizadas em um volume de 25 µl, cada reação contendo 10 mM de Tris-HCl pH 8,6, 50 mM de KCl, 2 mM de MgCl₂, 0,01% de gelatina, 100 µM de cada um dos deoxirribonucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP e dTTP), 0,16 µM de um oligonucleotídeo iniciador (“primer”), 01 unidade da enzima Taq DNA polimerase e 50 ng de DNA. As reações foram efetuadas em um termociclador PTC - 100 da MJ Research Inc., utilizando-se um programa com 40 ciclos sucessivos. Os iniciadores utilizados foram decanucleotídeos produzidos pela “Operon Technologies”. Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,0% imerso em tampão TAE (Tris-Acetato 0,04 M e EDTA 0,001 M), a 50 volts, por aproximadamente três horas. Após a separação eletroforética, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta, com câmera polaróide. Foram obtidas 18 bandas distintas e polimórficas geradas a partir dos iniciadores analisados. Os dados foram submetidos à análise de “cluster” através do método “Unweighted Pair-Group Average” (Figura 1). Observaram-se semelhanças entre os isolados provenientes de regiões geográficas diferentes; o

número de isolados analisados e de marcadores utilizados é, entretanto, pequeno para se sugerir a existência de fluxo de genes entre essas regiões, a exemplo do demonstrado por Linde (1990), em estudo populacional de *Uromyces appendiculatus*. Por outro lado, observaram-se diferenças entre os isolados provenientes de um mesmo local, o que pôde ser constatado para Sete Lagoas e Capinópolis. Estudos mais detalhados, envolvendo um maior número de isolados de *P. polysora*, estão sendo realizados e os resultados serão publicados em futuro próximo.

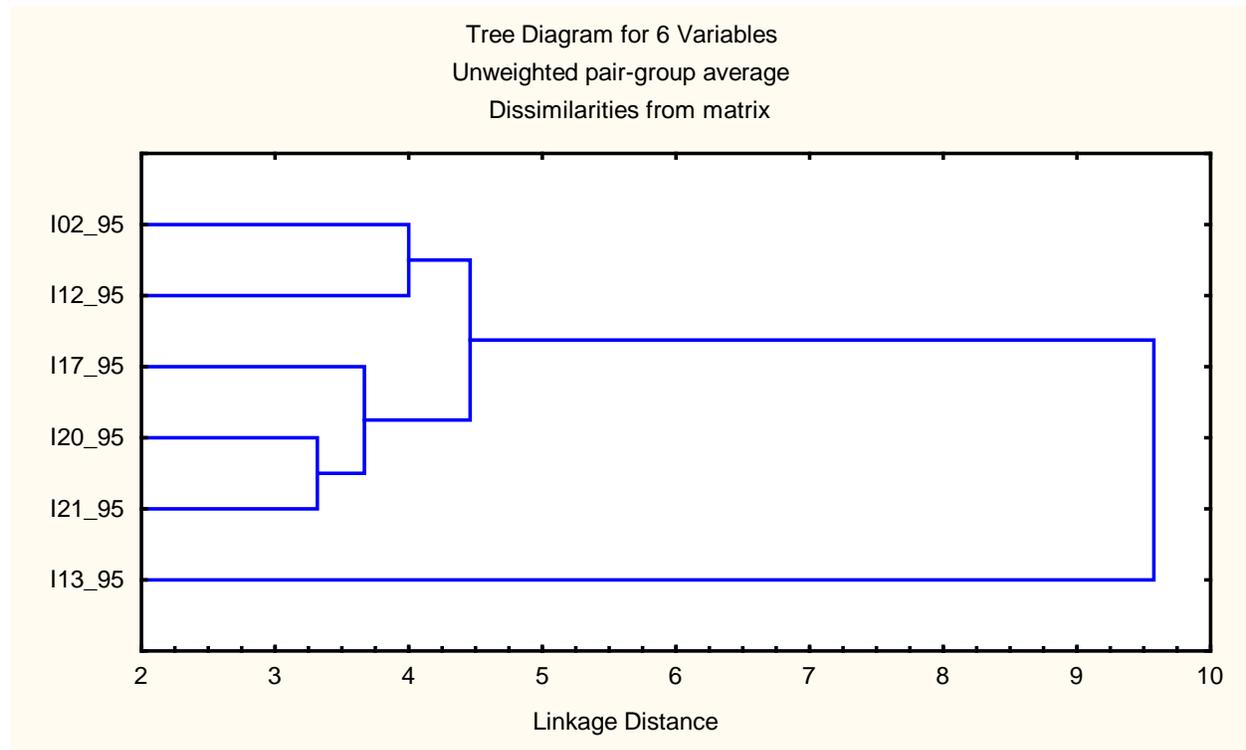


Figura 1: Agrupamento de isolados de *Puccinia polysora* segundo o método Unweighted pair-group average. Sete Lagoas, MG. 1998.

Bibliografia

- Casela, C.R.; Silva, A.E.; Guimarães, F.B. Variabilidade em isolados de *Puccinia polysora*, agente causal da ferrugem do milho. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MILHO E SORGO, XXI, Londrina, 1996. **Anais**. Londrina, PR, 1996. p. 326.
- Linde, D.C.; Groth, J.V.; Roelfs, A.P. Comparison of isoenzyme and virulence diversity patterns in the bean rust fungus *Uromyces appendiculatus*. **Phytopathology**, 80:141-7. 1990.
- Robert, A.L. Host ranges and races of the corn rusts. **Phytopathology**, 52:1010-1012. 1962.
- Roeder, V. & Broda, P. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. **L. Appl. Microb.**, 1:17-20. 1987.
- Ulstrup, S.J. Inheritance and linkage of a gene determining resistance in maize to an american race of *Puccinia polysora*. **Phytopathology**, 55:425-428. 1965.
- Yeh, C.C. Studies on rusts of maize. **Journal of Agricultural Research of China**, 35:81-93. 1986.

Seção temática:III