



18 a 21 de novembro de 2014 Santos-SP

ISBN - 978-85-66836-07-3

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE ESPÉCIE DOS GÊNEROS DE *Bacillus* PROMISSORES, PARA O CONTROLE DO MAL-DO-PANAMÁ E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM MUDAS DE BANANEIRA.

BARBARA BIANCA SILVA LIMA¹; ROSEMARY VILAÇA²; EDUARDO MEDEIROS DE OLIVEIRA³; SANNA ROCHA NOBREGA⁴

¹Estudante de graduação em Agronomia, Universidade Federal de Roraima, e-mail: barbarabianca.lima@gmail.com

²Pesquisadora - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Roraima Biologia Molecular, e-mail: rosemary.vilaca.embrapa.br

³Estudante de graduação em Agronomia, Universidade Federal de Roraima, e-mail: eduardo.demolay@hotmail.com

⁴Ecóloga, estudante de doutorado, Rede Bionorte - Universidade Federal do Amazonas, e-mail: sanna_rocha@hotmail.com

Resumo: No sistema produtivo da bananeira, as doenças ocasionadas por pragas tem sido uma grande preocupação, considerada a expressiva perda na produção destas frutas. Neste contexto a identificação destes fitopatógenos torna-se uma ferramenta essencial no combate de pragas e fitossanidade, viabilizando o cultivo da bananeira, e, possibilitando o desenvolvimento de metodologias para a prevenção e combate às diversas pragas que atingem estas culturas. Alguns grupos de patógenos estão relacionados às doenças desta cultura, tais como fungos, bactérias e vírus. O *Fusariumoxysporum f. sp. Cubense* é o agente causal do Mal do Panamá. O controle biológico empregando rizobactérias na seleção de isolados tem demonstrado a capacidade de controlar doenças ocasionadas por fungos e nematóides em diversas culturas e produzido resultados com êxito no controle do Mal-do-Panamá. O objetivo deste trabalho é desenvolver metodologia de precisão para identificação molecular destes isolados de rizobactérias do gênero *Bacillus*, no laboratório de Biologia Molecular, da Embrapa Roraima (RR). Neste contexto serão aplicadas duas metodologias de alta precisão na identificação de microrganismos: (1) *A análise de rep-PCR*, que permite a amplificação de sequências definidas da molécula de DNA, e o *método de polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição, ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis)*. Na análise de diversidade de grupos de indivíduos com elevada afinidade genética, o fragmento amplificado deve incluir o espaço intergênico 16S-23S rDNA sendo a região intergênica que possui maior variabilidade tanto em sua composição de bases como no tamanho se comparadas as regiões gênicas 16S ou 23S. Bandas amplificadas no rep-PCR em gel de agarose geram



III Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos

18 a 21 de novembro de 2014 Santos-SP

ISBN - 978-85-66836-07-3

um perfil específico de cada estirpe bacteriana. Essa técnica molecular baseada nos elementos BOX-PCR é uma técnica rápida, de execução fácil e altamente discriminatória para espécies, produzindo resultados representativos nas análises baseadas na homologia DNA-DNA. As sequências obtidas em ambos os experimentos serão submetidas e analisadas pelo programa *BLAST*; (2) tecnologia *MALDI-TOF* (*Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight*) baseada na análise e detecção de um grande espectro de proteínas, capaz de discriminar espécies estreitamente relacionadas. O procedimento é muito rápido e os resultados são obtidos em minutos. Trata-se de uma ferramenta simples, rápida e altamente confiável, que substitui os métodos fenotípicos convencionais para a identificação bacteriana e fúngica na rotina do laboratório clínico, minimizando o tempo para a realização de diagnósticos fundamentais e otimizando a terapia antimicrobiana. Para ambos os experimentos serão utilizados como controles positivo para identificação os seguintes isolados: RZ-17 (*Paenibacillus lentimorbus*-17), RZ-24 (*P. lentimorbus*-24), RZ-1 (*Bacillus pumilus*-1), RZ-3 (*B. pumilus*-3), RZ-10 (*B. pumilus*-10), RZ-60 (*B. pumilus*-60), RZ-69 (*B. pumilus*-69), RZ-76 (*Bacillus pumilus*-76), RZ-34 (*B. subtilis*-34), and RZ-36 (*Bacillus* sp.-36).

Palavras-chave: Identificação molecular; Controle Biológico; Isolados de rizobactérias.