

MS-PCR FINGERPRINTING DE LEVEDURAS ISOLADAS DE BROMÉLIAS DO PARQUE DE ITAPUÁ - RS

Roberta Bárbara Mello de Brito¹, Melissa Fontes Landell², Marilene H. Vainstein³, Marisa da Costa³ e Patrícia Valente³ (orient.)

¹Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; ²Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, UFRGS; ³Departamento de Microbiologia, UFRGS; robertabmb@yahoo.com.br; patricia.valente@ufrgs.br.

A Mata Atlântica é um dos ecossistemas mais ricos do mundo em termos de biodiversidade, no qual existem inúmeras espécies que nunca foram catalogadas. O Parque de Itapuá é um reduto, na região metropolitana de Porto Alegre, onde este tipo de mata ainda é preservado. As bromélias são plantas tipicamente tropicais e abundantes em ambientes de Mata Atlântica e apesar da presença de leveduras associadas ao filoplano já ser conhecida, pouco se sabe a respeito de suas interações e seu potencial biológico. Um dos maiores problemas para a avaliação do papel das leveduras em estudos ecológicos é a dificuldade de conhecimento da sua diversidade, principalmente porque as técnicas de identificação convencionais não permitem uma identificação precisa. Algumas técnicas moleculares, como por exemplo, a de “microsatellite-primed PCR” (MS-PCR) possuem a vantagem de tornar a identificação mais simples e rápida. O objetivo deste presente trabalho é aplicar a técnica de MS-PCR fingerprinting com o oligonucleotídeo M13 a fim de diferenciar isolados de leveduras do filoplano de bromélias. O DNA utilizado foi extraído de 100 isolados de leveduras, previamente identificadas pela metodologia convencional, baseada em características fenotípicas (Barnett *et al.*, 2000), do filoplano de bromélias. As reações de PCR foram realizadas de acordo com Meyer *et al.* (1999), utilizando o nucleotídeo M13 (GAGGGTGGCGGTTCT). As leveduras foram agrupadas de acordo com o perfil genotípico através da técnica de MS-PCR. Os produtos do PCR foram separados em géis de agarose 1,8% com brometo de etídio, por 5 horas, à 60V, visualizados sobre U.V. e fotografados. Resultados preliminares demonstraram que o nucleotídeo M13 foi capaz de agrupar isolados de leveduras de bromélias de acordo com seu perfil genotípico. As leveduras que pertencem à mesma espécie possuem perfis genotípicos similares e os resultados obtidos com a genotipagem foram comparados aos obtidos com a identificação convencional. Alguns grupos de leveduras, fenotipicamente identificadas como pertencentes a certas espécies, tiveram variados perfis genotípicos, sugerindo que o sistema convencional de identificação foi errôneo. Representantes de cada perfil genotípico foram mandados para seqüenciamento da região D1/D2 do 26S rDNA com o objetivo de esclarecer suas posições taxonômicas. MS-PCR provou ser uma técnica eficiente na diferenciação de leveduras obtidas do filoplano de bromélias.

(Apoio: PROPESQ; PIBIC/CNPq/UFRGS)