

## IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE *Aspergillus* DA COLEÇÃO DE CULTURAS DPUA

SILVA, Taciana de Amorim<sup>1</sup>; VIEIRA, Luiz Felipe da Silva<sup>2</sup>; SEIXAS, Walter Botelho<sup>3</sup>; TEIXEIRA, Maria Francisca Simas<sup>4</sup>; PEREIRA, José Odair<sup>5</sup>.

### RESUMO

**Introdução:** A região ITS é constituída por uma sequência de DNA ribossomal não funcional com alto grau de variabilidade interespecífica. Essa sequência foi considerada região padrão para identificação de espécies de fungos. **Objetivo:** verificar a eficiência de sequências de DNA ribossomal na identificação de linhagens de *Aspergillus*. **Material e métodos:** Vinte linhagens de *Aspergillus* do acevo da Coleção de Culturas DPUA da UFAM foram utilizadas nesta pesquisa. Os fungos foram cultivados em meio Sabouraud por 72h a 25 °C, sob agitação de 170rpm. Em seguida a biomassa foi separada dos resíduos metabólicos por meio de filtração à vácuo e congelada a -20°C. Aproximadamente 200mg do micélio foi utilizado para extração do DNA pelo método CTAB modificado. A região ITS2 e partes da 5,8S e 28S do rDNA foram amplificadas por PCR utilizando os iniciadores ITS-3 (5'-GCATCGATGAAGAACGCAGC-3') e UNI-R (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACG-3'). A reação de amplificação foi realizada em termociclador *Eppendorf Master Cycle*, os produtos da PCR foram purificados com PEG para reação de sequenciamento com o kit *BigDye® Terminator v 3.1*. As sequências foram obtidas no sequenciador 3500 ABI *Applied Biosystem* e editadas no programa Clustal W. A identificação das espécies de *Aspergillus* foi realizada no NCBI utilizando a ferramenta BLASTn. **Resultados:** As sequências de rDNA das 20 linhagens de *Aspergillus* obtidas na pesquisa apresentaram tamanho variando de 846-861pb e similaridade de 99 a 100% com as sequências depositada no Genbank. O BLASTn das sequências confirmou que 100% são do gênero *Aspergillus*. O marcador molecular utilizado identificou corretamente os *Aspergillus* dos subgrupos flavus (12 linhagens) e niger (8 linhagens). Entretanto apenas três linhagens foram identificadas adequadamente a nível de espécie [*A. niger* (2) e *A. oryzae* (1)] quando comparados com a classificação morfológica realizada anteriormente. **Conclusão:** As sequências de rDNA utilizadas nessa pesquisa não foram eficientes para identificação a nível de espécie de *Aspergillus*, apresentando divergência quando o resultado da identificação molecular foi comparado com a identificação morfológica. Entretanto o marcador molecular utilizado foi suficiente para identificar o gênero e diferenciar as linhagens de *Aspergillus* entre os subgrupos niger e flavus.

**Palavras-chave:** identificação; fungos; RNA ribossomal; sequenciamento

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. tacionadeamorim@gmail.com

<sup>2</sup> Universidade Federal do Amazonas, Manaus. luizvieira90@hotmail.com

<sup>3</sup> Secretaria de Estado de Educação e Qualidade de Ensino do Amazonas, Manaus. wt.b.seixas@gmail.com

<sup>4</sup> Universidade Federal do Amazonas, Manaus. mteixeira@ufam.edu.br

<sup>5</sup> Universidade Federal do Amazonas, Manaus. jodair@ufam.edu.br