



<b>Evento</b>	XXI FEIRA DE INICIAÇÃO À INOVAÇÃO E AO DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO – FINOVA/2012
<b>Ano</b>	2012
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Desenvolvimento de um método específico, simples e rápido para a detecção de um fungo micotoxigênico
<b>Autor</b>	RICARDO WILDT RAMBOR
<b>Orientador</b>	MARCELO GRAVINA DE MORAES

# Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Agronomia

Departamento de Fitossanidade - Laboratório de fitopatologia molecular

## **Desenvolvimento de um método específico, simples e rápido para a detecção de um fungo micotoxigênico**

Autor: Ricardo Wildt Rambor

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Gravina de Moraes

Micotoxinas são substâncias químicas que resultam da atividade metabólica de alguns fungos, que podem se desenvolver em partes das plantas como os grãos, inclusive durante a armazenagem, e nos alimentos processados a partir desses. Caso sejam ingeridas ou inaladas em determinados níveis, as micotoxinas podem ser tóxicas aos seres humanos e aos animais, causando sintomas como vômitos, hemorragias, recusa de alimento, interferência no sistema imunológico, redução de peso, redução de produção (ovos e leite), infertilidade e em doses muito elevadas a morte. Não existe um padrão internacional de legislação para regular os níveis aceitáveis de micotoxinas. No Brasil a regulamentação ocorre apenas para algumas micotoxinas. O presente trabalho consiste na elaboração de um método eficiente e rápido para a detecção de micotoxinas produzidas por *Fusarium verticillioides* em contato com o grão de milho.

Para a detecção dos genes codificantes de enzimas-chave na produção das fumonisinas, grupo de micotoxinas produzidas por fungos do gênero *Fusarium*, foi usada técnica de PCR em tempo real, que permite a amplificação e quantificação de sequências de DNA. O crescimento do fungo puro foi realizado em meio de cultura BDA-ágar. Primeiramente foram feitas análises de esporos puros do fungo, para confirmar a eficiência do método, com uma série de diluições decimais a partir de uma suspensão de esporos com concentração de  $10^6$  esporos por mililitro, a quantificação do número de esporos foi feita através da câmara de Neubauer. Após a detecção do fungo em seu estado puro, ele foi inoculado, posto em contato com grãos de milho. Para efetuar a análise do fungo no grão, os esporos presentes foram removidos e misturados em 1 mililitro de água destilada autoclavada, para então se efetuar a extração do DNA e subsequente amplificação por PCR em tempo real.

Na amostra com esporos puros em que foi realizada uma série de diluições com quantidades conhecidas de esporos, o PCR em tempo real amplificou a sequência de DNA a partir da quantidade de  $10^2$  esporos por mililitro, apresentando uma correlação entre concentração de esporos e o ciclo limiar (**Ct**). As amostras analisadas com esporos do fungo crescido no grão de milho apresentaram valores de **Ct** equivalentes aos da amostra quantificada, evidenciando quantidades entre  $10^6$  e  $10^2$  esporos por mililitro. Com as análises obtidas a detecção de micotoxinas produzidas por *Fusarium verticillioides* no grão de milho através da técnica de PCR em tempo real se mostrou possível.

No vídeo documentário será apresentado um breve histórico sobre o fungo *Fusarium verticillioides* e as consequências causadas pela ingestão de micotoxinas. O procedimento realizado para a detecção de micotoxinas através do PCR em tempo real será demonstrado, incluindo o passo a passo, desde a captação de esporos até a execução do PCR em tempo real.