



SELEÇÃO DE GENES DE REFERÊNCIA PARA ESTUDOS DE EXPRESSÃO GÊNICA POR RT-qPCR NO PATOSSISTEMA MPC/PHYLLOSTICTA CITRICARPA.

Thiago Antônio de Lima¹; Carolina Munari Rodrigues²; Marcos Antônio Machado³;
Marco Aurélio Takita⁴

Nº 17141

RESUMO – A Mancha preta dos citros, causada pelo fungo *Phyllosticta citricarpa*, é uma das principais doenças no cenário citrícola. Apesar da sua importância, estudos sobre a modulação da expressão gênica na interação patógeno-hospedeiro são escassos. O PCR quantitativo em tempo real é uma importante ferramenta para esse tipo de estudo. Contudo, a acurácia dessa técnica depende do uso apropriado de genes de referência. O objetivo do trabalho foi avaliar a estabilidade de genes de referência, os quais já apresentaram expressão constitutiva em citros sob diversos estresses. Os genes avaliados foram: *FBOX*; *SAND*; *GAPC2*; *ACT2*; *UPL7*; *PTB1*; *TUB*; *EF1 α* , analisados em diferentes estágios de infecção do fungo em *Citrus sinensis* (L.) Osb. A estabilidade desses genes foi determinada de acordo com o algoritmo *geNorm*, qual determina o fator de estabilidade do gene normalizador (*M*). Nossos resultados mostraram que todos os genes apresentaram estabilidade nas condições avaliadas, porém o mais instável foi *SAND* e os melhores candidatos foram *EF1K* e *GAPC*, sendo então considerados os genes mais indicados para a normalização em avaliações da expressão gênica de citros desafiados com *P. citricarpa*. Outra avaliação foi a análise de variação aos pares de todos os genes candidatos. Essa análise é de extrema importância para verificar a quantidade de genes de referência necessários para a análise ser confiável. Nossos resultados demonstraram que dois genes normalizadores mais estáveis são suficientes para normalizar os dados de expressão, visto que o valor $V2/3$ ficou abaixo de 0.15,



11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017
02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-141-7

não havendo a necessidade de inclusão de um terceiro gene normalizador.

Palavras-chaves: *Expressão gênica, micologia, fungo patogênico.*

Apoio Financeiro: PIBIC/CNPq (115539/2016-6); Fapesp (2014/19375-7).

- 1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biológicas, FHO Uniararas, Araras-SP; thiagoalb13@hotmail.com
2 Colaborador, Bolsista pós-doutorado Fapesp: Instituto Agrônomo de Campinas/IAC, Cordeirópolis-SP.
3 Colaborador, Pesquisador do Instituto Agrônomo de Campinas/IAC, Cordeirópolis-SP.
4 Orientador: Pesquisador do Instituto Agrônomo de Campinas/IAC, Cordeirópolis-SP; takita@ccsm.br.

SELECTION OF REFERENCE GENES FOR STUDIES OF GENE
EXPRESSION BY RT-qPCR IN THE PATHOSYSTEM MPC / *PHYLLOSTICTA*
CITRICARPA.

Thiago Antônio **de Lima**¹; Carolina Munari **Rodrigues**²; Marcos Antônio **Machado**³;
Marco Aurélio **Takita**⁴



Nº 17141

*The black spot of citrus, caused by the fungus *Phyllosticta citricarpa*, is one of the main diseases in the citrus scenario. Despite their importance, studies on the modulation of gene expression in pathogen-host interaction are scarce. Real-time quantitative PCR is an important tool for this type of study. However, the accuracy of this technique depends on the appropriate use of reference genes. The objective of this work was to evaluate the stability of reference genes, which already presented constitutive expression in citrus under different stresses. The evaluated genes were: *FBOX*; *SAND*; *GAPC2*; *ACT2*; *UPL7*; *PTB1*; *TUB*; *EF1 α* , analyzed in different stages of fungus infection in *Citrus sinensis* (L.) Osb. The stability of these genes was determined according to the *geNorm* algorithm, which determines the stability factor of the normalizing gene (*M*). Our results showed that all genes presented stability under the conditions evaluated, but the most unstable was *SAND* and the best candidates were *EF1K* and *GAPC*, being considered the most indicated genes for the normalization in evaluations of the gene expression of citrus challenged with *P. citricarpa*. Another evaluation was the peer-to-peer analysis of all candidate genes. This analysis is extremely important to verify the amount of reference genes required for the analysis to be reliable. Our results demonstrated that two more stable normalizing genes are sufficient to normalize the expression data, since the *V2/3* value was below 0.15 and there was no need to include a third normalizing gene.*

Keywords: Gene expression, mycology, pathogenic fungus.



11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017
02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-141-7