



ISBN 978-85-66836-16-5

SELEÇÃO *in silico* DE GENES E ENZIMAS PARA DIFERENCIAÇÃO DE *Colletotrichum gloeosporioides* SENSU LATO BASEADA EM PCR-RFLP¹ / *In silico* selection of genes and enzymes for differentiation of *Colletotrichum gloeosporioides* sensu lato based on PCR-RFLP. L. L. SILVA²; S. A. S. OLIVEIRA³. ²Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Rua Rui Barbosa 710 44380-00, Cruz das Almas, Brasil. leand_lopes@yahoo.com.br; ³Embrapa Mandioca e Fruticultura, Rua Embrapa s/n 44380-000, Cruz das Almas, Brasil. E-mail: leand_lopes@yahoo.com.br

O uso de ferramentas moleculares mostra-se extremamente útil como auxílio para a diferenciação de fungos fitopatogênicos. A existência de sequências de oligonucleotídeos específicos e o uso em conjunto com enzimas de restrição (RFLP) tem se tornado uma ferramenta eficiente no auxílio de identificação em diversas espécies de fungos. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar diferentes combinações de “regiões genômicas vs enzimas de restrição” quanto ao potencial de diferenciação de linhagens filogenéticas dentro do complexo *Colletotrichum gloeosporioides*. Para tanto, análises *in silico* foram conduzidas utilizando-se sequências dos genes da actina (ACT), calmodulina (CAL), quitina sintase (CHS-1), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), espaçador interno transcrito (ITS) e β -tubulina (TUB2) de espécimes-tipo pertencentes ao complexo *C. gloeosporioides* juntamente com 21 enzimas de restrição. Os padrões de bandas esperados (*in silico*) pela restrição das regiões de interesse utilizando diferentes enzimas foram utilizados para a construção de matrizes binárias, seguido de agrupamento dos isolados baseados na distância de Nei do método UPGMA. Paralelamente, árvores filogenéticas foram construídas para cada região genômica obtida dos espécimes-tipo, pelo método Neighbor Joining, utilizando-se o modelo Kimura dois parâmetros e bootstrap de 10.000 gerações. As regiões que possuíram sítios de clivagem para a maioria das enzimas foram CAL, ITS e TUB2. As enzimas de restrição AluI, BsuRI, HinfI, HhaI MspI e TaqI foram as que apresentaram melhor resultado. As regiões CAL, TUB2 e GAPDH apresentaram maior grau de polimorfismo, e por consequência, maior capacidade de separação dos haplótipos em relação ao esperado (com base nas árvores filogenéticas para cada um dos genes), em comparação com as regiões CHS-1, ACT e ITS. O gene da calmodulina (CAL) apresentou maior potencial para utilização uma vez que apresentou maior concordância entre a classificação esperada e a observada pela restrição *in silico* (PCR-RFLP) das sequências, possibilitando a separação de maior número de linhagens filogenéticas pertencentes ao complexo, sendo uma técnica promissora para a diferenciação de linhagens e direcionamento do sequenciamento multilocus.

Palavras-chave: *Colletotrichum* spp.; Complexo de espécies; DNA polimórfico; DNA fingerprint.

¹ Concessão: Embrapa Mandioca e Fruticultura, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e CAPES.