

MARCADORES MOLECULARES NA IDENTIFICAÇÃO DE ISOLADOS DE *Trichoderma spp.*

Moisés Rodrigues Silva^{1*}; Eder Marques¹; Marcos Gomes da Cunha¹

¹Universidade Federal de Goiás, Núcleo de Pesquisa em Fitopatologia, Goiânia, GO, Brasil *E-mail do autor apresentador: moises.rodrigues@discente.ufg.br

Trichoderma é um fungo saprófito de solo com múltiplas funcionalidades. Ele tem sido estudado há mais de 50 anos e intensivamente empregado na agricultura na forma de biofungicida e bioinoculante, assim como na indústria biotecnológica e farmacêutica. A taxonomia deste fungo durante certo tempo foi baseada apenas em caracteres morfológicos, o que gerou equívocos na determinação de espécies, devido às semelhanças entre as formas anamórficas do gênero. Um marcador molecular pode ser entendido como qualquer fenótipo molecular resultante de um gene expresso ou de um segmento específico de DNA, que diferencia dois ou mais indivíduos. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi identificar ao nível de espécie oito isolados deste fungo (T1-T8), obtidos em estudos anteriores e oriundos de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), através do sequenciamento dos marcadores moleculares actina (act), calmodulina (cal), espaço interno transcrito do rDNA (ITS), RNA polimerase 2 (rpb2) e fator de alongação (tef1- α). Os fungos foram recuperados do armazenamento em glicerol a 10% em meio Batata- Dextrose-Ágar, em seguida, tais culturas tiveram seu DNA extraído através do método CTAB, que serviu de molde para a amplificação das regiões citadas anteriormente, por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Após a amplificação, os produtos da PCR foram enviados para sequenciamento na Macrogen Inc. As sequências obtidas foram analisadas no BioEdit, comparadas no GenBank e alinhadas no MEGA. O melhor modelo de substituição de nucleotídeos foi determinado usando o *Akaike Information Criterion*, implementado no MrModeltest. A inferência bayesiana empregou os métodos de integração de Monte Carlo via Cadeias de Markov. A análise filogenética de cada região e do conjunto de dados concatenado foi realizada no MrBayes no XSEDE do *CIPRES Science Gateway*. Não foi possível obter sequências de qualidade para os isolados T1 (act, cal e tef1- α), T3 (tef1- α) e T7 (rpb2). Com base nas análises filogenéticas, observou-se que os marcadores act e ITS individualmente não foram informativos, pois não permitiram o agrupamento dos nossos isolados com as sequências de referência empregadas. Por outro lado, os demais genes cal, rpb2 e tef1- α permitiram melhor distinção tanto individual quanto conjuntamente. A análise concatenada dos genes indicou que o isolado T1, para o qual se obteve apenas sequências de ITS e rpb2, pertence à *Trichoderma koningiopsis*, com probabilidade posterior (PP) igual a 1. Os demais isolados se agruparam com os taxa de referência para *T. afroharzianum*, esse clado também foi altamente suportado na análise (PP=1).

Palavras-chave: Agentes de controle biológico de doenças, Análises filogenéticas, Fungos antagonistas.

Agradecimentos: FAPEG