

## Análise da estrutura genética de populações de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* e *Xanthomonas fuscans* subsp. *fuscans* através de marcadores rep-PCR

Bruna Alícia Rafael de Paiva<sup>1</sup>, Tereza Cristina de Oliveira Borba<sup>2</sup>, Leila Garcês de Araújo<sup>3</sup>, Adriane Wendland<sup>4</sup>

O crestamento bacteriano comum, causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap) e *Xanthomonas fuscans* subsp. *fuscans* (Xff), é uma das doenças de etiologia bacteriana mais importantes do feijoeiro. Este patógeno provoca grandes perdas na produção, principalmente na safra das "águas", quando as condições ambientais são favoráveis ao desenvolvimento da doença e à disseminação do patógeno. Dentro das estratégias do manejo integrado de doenças, a resistência genética é a principal medida de controle, e para a obtenção de cultivares com resistência duradoura e de amplo espectro é necessário o conhecimento da diversidade genética do patógeno. Uma técnica muito utilizada nos estudos de diversidade genética refere-se à análise de regiões repetitivas por meio de amplificação por rep-PCR, através do uso de três famílias de sequências repetitivas, REP, ERIC e o elemento BOX. Com base nestas informações, o presente trabalho teve como objetivos, estudar a diversidade e estrutura genética entre e dentro das populações amostradas e relacionar a diversidade genética do patógeno com sua distribuição geográfica. Para isto, foi estabelecida uma coleção de 22 isolados de Xap, 20 isolados de Xff, e quatro isolados de *Xanthomonas* não patogênicas ao feijoeiro, oriundos dos estados de São Paulo, Goiás, Paraná e Rio Grande do Sul. Os iniciadores ERIC, BOX e REP foram utilizados separadamente para amplificação do DNA dos isolados. A reação foi realizada com auxílio do Kit de PCR multiplex (QIAGEN®) em um volume final de 10 µL. No produto amplificado foi adicionado corante azul de bromofenol e SYBR gold e procedeu-se a eletroforese em gel de agarose 1,5 %, por 7 horas à 50 Volts. Foi realizada uma análise haplotípica, sendo que cada isolado recebeu um haplótipo combinado binário, em que todos os locos amplificados estão representados. A frequência haplotípica foi calculada com auxílio do programa Excel 2010, e a construção do dendrograma foi utilizada a matriz de similaridade gerada no algoritmo UPGMA no programa computacional DARwin 5.0. Para a estruturação genética, os isolados foram divididos em três populações, sendo estimada a diversidade genotípica das populações pelos índices de Shannon-Wiener, a percentagem de locos polimórficos (*P*), a diferenciação genética de Nei, a heterozigose total (*Ht*) e identidade genética com auxílio do programa POPGENE 1.31 e a AMOVA estimada pelo programa Arlequin. Sendo assim, os perfis genéticos obtidos pelos primers geraram 12 haplótipos combinados (HC), em que o HC 3, específico de Xff, foi mais frequente nos estados do PR e GO, porém não foi identificado no RS. No Rio Grande do Sul, também foi observada a maior diversidade genética, pois cada isolado representou um haplótipo distinto. O dendrograma gerado através da análise conjunta mostrou que Xap, Xff e isolados não patogênicos foram geneticamente distintos. O primeiro grupo foi constituído apenas de isolados de Xap, enquanto o segundo apresentou todos isolados Xff e um isolado Xap (Xap 150). O terceiro grupo foi formado por isolados não patogênicos ao feijoeiro. A similaridade dos isolados Xff foi mais evidente que aqueles de Xap. Analisando a distribuição da diversidade genética entre e dentro de populações (Xap e Xff), foi possível observar valores mais altos de locos polimórficos (94, 12%) e do índice de Shannon (0,36) para Xap revelando que esta população foi mais diversa geneticamente, confirmando os dados obtidos no dendrograma. A AMOVA demonstrou que a maior parte da diversidade genética se encontra entre as populações patogênicas (51,98%). Portanto, através do estudo de estruturação genética no presente trabalho, fica claro que Xap e Xff são geneticamente distintas, porém observou-se que não houve agrupamento de isolados por região de coleta.

<sup>1</sup> Engenheira agrônoma, doutoranda em fitopatologia pela Universidade de Brasília, pós-graduação Embrapa Arroz e feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, brunaalicia@hotmail.com

<sup>2</sup> Engenheira de alimentos, Doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, tereza.borba@embrapa.br

<sup>3</sup> Engenheira agrônoma, Doutora em Melhoramento de Plantas, professora da Universidade Federal de Goiás, leilagarcesaraujo@gmail.com

<sup>4</sup> Engenheira agrônoma, Doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, adriane.wendland@embrapa.br