

Caracterização da região espaçadora transcrita interna (ITS) do rDNA de espécies de *Bipolaris* isoladas a partir de *Panicum maximum* Jacq.

Primeiro autor: *Thays Benites Camargo Pereira*

Demais autores: *Pereira, T. B. C.¹; Fernandes, C. D.²; Verzignassi, J. R.²; Barbosa, M. B.³; Batista, M. V.⁴*

Resumo

Bipolaris spp. é o agente causal da mancha foliar, a principal doença de *Panicum maximum*. Esse organismo apresenta grande diversidade genética e variabilidade morfológica, dificultando sua identificação somente por estudos morfológicos. Utilizando-se o marcador que amplifica a região espaçadora transcrita interna (ITS) do rDNA do patógeno, objetivou-se caracterizar molecularmente a diversidade genética de isolados de *Bipolaris* spp., obtidos a partir de lesões foliares de *P. maximum*. Para o estudo, foram utilizados 45 isolados do fungo disponíveis na coleção micológica do laboratório de fitopatologia da Embrapa Gado de Corte. O DNA foi extraído pelo método Doyle e Doyle modificado e a reação de PCR realizada em volume total de 25 μL , utilizando-se: 50 ng de DNA; 20 pmol. μL^{-1} de cada marcador, ITS1 e ITS4; 2,5 mM de cada dNTPs; 350 nM Tris-HCl, 250 mM KCl, 35 nM MgCl_2 do 10X PCR Buffer; e 1U Uni-Taq DNA Polymerase (5 U. μL^{-1}). Os eletroferogramas foram analisados na ferramenta on-line *Electropherogram quality analysis* (Embrapa) e editados no *software* BioEdit 7.2.6.1. Os *contigs* obtidos foram utilizados para a busca de sequências similares, utilizando-se a ferramenta BLASTn do NCBI. A análise filogenética foi realizada utilizando-se o *software*

(1) Pesquisadora DCR/CNPq-FUNDECT, Embrapa Gado de Corte, tbcpereira@usp.br. (2) Pesquisadores da Embrapa Gado de Corte. (3) Graduando na Universidade Anhanguera-UNIDERP (4) Técnica do Laboratório de Fitopatologia. * Autor correspondente.

MEGA7. A comparação das sequências obtidas com aquelas disponibilizadas no banco de dados do NCBI (GenBank) revelou a ocorrência de três diferentes agrupamentos de isolados, quais sejam: um isolado com 99% de identidade com *Bipolaris variabilis*, três com 99% a 100% de identidade com *B. sorokiniana* e 41 com 99% a 100% de identidade com *B. yamadae*. A análise filogenética corroborou os resultados obtidos na comparação de sequências, gerando três cladogramas distintos. Deste modo, por meio da utilização do marcador molecular ITS e da análise filogenética, foi possível identificar a ocorrência de três diferentes espécies de *Bipolaris* spp. associadas às manchas foliares em *Panicum maximum*.

Parceria / Apoio financeiro

ECNPq, Fundect, Fundapam, Unipasto e Embrapa.