

MÉTODOS MOLECULARES APLICADOS À TAXONOMIA DE *Trichoderma*.

I. S. Melo. EMBRAPA/CNPMA. C. P. 69 - CEP 13820-000 - Jaguariúna-SP, Brasil.

O gênero *Trichoderma* inclui nove diferentes agregados de espécies, quais sejam: *T. hamatum*, *T. viride*, *T. aureoviride*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. pseudokoningii*, *T. longibrachiatum*, *T. polysporum* e *T. glaucum*. As espécies de *Trichoderma* dentro de um mesmo grupo ou seção apresentam características sobrepostas, o que torna difícil a classificação de isolados. Muitos isolados do solo não se encaixam exatamente em qualquer dos nove grupos de espécies. Assim, a taxonomia convencional nem sempre identifica com segurança e, especialmente ajuda a comparar isolados baseando-se na morfologia dos conidióforos e conídios.

Uma nova classificação proposta por Bissett (Can. J. Bot. 69: 2357 e 69: 2373, 1991) reorganiza o gênero nas seguintes cinco seções: seção *Trichoderma*, seção *Longibrachiatum*, seção *Saturnisporum*, seção *Pachybasium*, e seção *Hypocreanum* colocando algumas espécies já conhecidas e outras novas dentro destas seções. Seção *Trichoderma* (*T. koningii*, *T. aureoviride*, *T. viride* e *T. atroviride*); Seção *Longibrachiatum* (*T. pseudokoningii*, *T. longibrachiatum*, *T. parceramosum*); Seção *Saturnisporum* (*T. saturnisporum*); Seção *Pachybasium* (*T. hamatum*, *T. polysporum*, *T. piluliferum*, *T. harzianum*, *T. virens*, *T. crassum*, *T. croceum*, *T. fasciculatum*, *T. fertile*, *T. longipilis*, *T. minutisporum*, *T. oblongisporum*, *T. pubescens*, *T. spirale*, *T. strictipilis*, *T. strigosum* e *T. tomentosum*) e Seção *Hypocreanum* (anamorfo *Hypocrea*). As novas espécies identificadas dentro da seção *Pachybasium* são diferenciadas unicamente com base na morfologia dos conidióforos e conídios e, portanto, com características extremamente similares entre as espécies. Como pode ser notado há uma enorme variabilidade morfológica dentro do gênero *Trichoderma* e mesmo dentro de cada espécie. *T. koningii*, por exemplo, agrega isolados com características

suavemente distintas e com produção de antibióticos quimicamente diferentes.

Espécies podem ser geneticamente distintas, mesmo que não sejam separadas morfológicamente. Marcadores moleculares são ferramentas úteis para detectar variação genética entre e dentro de populações de fungos. Atualmente, existem algumas técnicas moleculares para estudos de relações genéticas de populações de fungos, como DNA "fingerprinting", isoenzimas, RFLP e PCR/RAPD. eletroforese colocam *T. harzianum* como um ancestral comum a

Padrões de alelos, analisados por técnicas de isoenzimas através de muitas espécies. *T. hamatum* inclui linhagens enzimaticamente distintas, com íntima afinidade a *Gliocladium virens* e parece ter sido derivado de um grupo ancestral como *T. harzianum*. *T. koningii* e *T. viride* não são bem distintas enzimaticamente uma da outra, porém *T. viride* parece ser mais derivada e pode ter surgido de *T. koningii*.

O método de marcadores de polimorfismo de DNA amplificados ao acaso (RAPD) tem sido usado para identificar e caracterizar a variação genética intraespecífica de *Trichoderma*. Isolados de *T. harzianum* obtidos da mesma área geográfica são geneticamente distintos. RAPD pode ser usado para distinguir formas colonizadoras de *Trichoderma* de formas não-colonizadoras de substratos de cogumelo.

Análises de seqüências de ITS1 (internal transcribed spacer) e ITS2 do complexo gênico de rRNA e PCR (polymerase chain reaction) têm sido usados para medir a relação de linhagens e espécies de *Trichoderma*. A variação de seqüências das regiões ITS parece ser adequada para classificar a certos níveis taxonômicos, baseando-se nas diferenças de nucleotídeos. Análise de seqüências de ITS1 foi capaz de separar *T. reesei* de *T. longibrachiatum*, em contraste à sinonímia das duas espécies que tinham sido propostas como morfológicamente idênticas.

Análise de RFLP foi capaz de distinguir todas as linhagens pertencentes à seção *Longibrachiatum* das linhagens pertencentes à outras seções do gênero *Trichoderma*.

Em combinação com a taxonomia convencional dados de seqüências, padrões de "fingerprinting" podem ser muito úteis para caracterização de linhagens ao nível taxonômico. Progressos nestas áreas serão discutidos.