

BIOTECNOLOGIA

715

ITS (Intergenic Transcribed Spacer) e Íntron-RFLP para caracterização de *Colletotrichum* spp. isolado de guaranazeiro.

(Intergenic Transcribed Spacer) and intron-RFLP for characterization of *Colletotrichum* spp., isolated of guarana (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*).

Lobo, I.K.C.¹; Nogueira, V.B.²; Gualberto, G.F.³; Sousa, N.R.⁴; Hanada, R.E.⁵; Silva, G.F.⁶

¹Discente em Biotecnologia; ²Discente em Biotecnologia; ³Bolsista DTI3, Embrapa Amazônia Ocidental; ⁴Pesquisadora, Embrapa Amazônia Ocidental; ⁵Pesquisador, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA; ⁶Pesquisador, Embrapa Amazônia Ocidental. E-mail: igor_lobo2@yahoo.com.br. ITS

O guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) assume importante papel dentro da economia regional e tem sua produção limitada pela antracnose, causada por *Colletotrichum* spp.. A identificação de espécies deste gênero é considerada um desafio devido ao limitado número de caracteres morfológicos para distinguir espécies do gênero. O objetivo do trabalho foi utilizar as regiões ITS e o íntron do gene GS (*Glutamine Synthetase*) na caracterização de *Colletotrichum* spp., obtidos a partir de isolamento direto das lesões foliares típicas de antracnose em guaranazeiro. Foram analisados 36 isolados a partir da amplificação da região ITS com *primers* universais (ITS5-5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG e ITS4-5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') e ITS específicos para *C. gloeosporioides* (CgInt'-GGCCTCCCGCCTCCGGCGG combinado a ITS4), além de PCR-RFLP do íntron do gene GS, amplificado com os *primers* GSF1 (5'-ATGGCCGAGTACATCTGG-3') e GSR1 (5'-AACCGTCGAAGTTCCAC-3') e clivado com *Pst*I. As regiões ITS de todos os isolados foram amplificadas com os *primers* universais, mostrando que o DNA estava em condições para os demais testes. A amplificação de um fragmento de 460 pb, específico para *C. gloeosporioides* e *C. fragariae*, foi positiva em todos os isolados, indicando que a antracnose em guaranazeiro poderia ser causada por ambas ou uma destas espécies. Contudo, os dados baseados em PCR-RFLP revelaram que apenas um dos 36 isolados possui perfil de bandas com fragmentos de tamanho compatível com *C. gloeosporioides* ou *C. fragariae*. A análise *in silico* da clivagem da sequência do íntron de GS com *Pst*I de onze diferentes espécies de *Colletotrichum* depositadas no Genbank mostra que apenas *C. coccodes* apresentou o mesmo padrão de clivagem da maioria dos isolados.

Apoio: CNPq, FAPEAM.