

Diversidade genética de *Lasiodiplodia theobromae* associada à espécies e híbridos de citros

Robert Felix de Santana¹; Líliam Rosane de Santana²; Cristiane de Jesus Barbosa³; Hermes Peixoto Santos Filho³

¹Estudante de Agronomia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; ²Estudante Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; ³Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mails: robert_fsa10@hotmail.com, liliamrosane@hotmail.com, cristiane.barbosa@embrapa.br, hermes.santos@embrapa.br

Introdução – A doença atualmente denominada Descamamento Eruptivo dos Citros (DEC) vem sendo estudada desde 1974 quando, então, era denominada Sorose tipo Bahia (Sorose tBA), devido a semelhança com os sintomas da sorose A dos citros, causada pelo Citrus psorosis virus, CPsV. Em 1989 foi descrita como uma disfunção da casca em pomeleiros e laranjeiras com sintomas semelhantes a sorose A, mas somente em 2012, foi feita a primeira confirmação de um agente etiológico envolvido no patossistema, identificado como sendo um fungo do gênero *Lasiodiplodia*. **Objetivos** – O objetivo do presente trabalho é confirmar a identificação morfológica do agente causal, estudando a região do Espaço Interno Transcrito (ITS) e analisando as diferenças no polimorfismo da sequência dessa região da população de *Lasiodiplodia theobromae*, para caracterizar grupos de isolados que permitam relacioná-los com a origem e a diversidade de sintomas. **Material e Métodos** – A partir de plantas de laranjeiras doces (10), tangerineiras (5), pomeleiros (10) e híbridos (25), com sintomas da doença e através de cultivos monospóricos e de pontas de hifa foram obtidos 42 isolados do fungo *Lasiodiplodia* sp. Das colônias dos isolados discos de micélios foram colocados em meio líquido de sacarose (10g de sacarose, 2g de extrato de levedura, 1g de KH_2PO_4 , 0,1g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1 mL de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 1000 mL de água) para produção de maior quantidade de micélio. Com o crescimento da massa micelial produzida, esta foi filtrada e seca em papel de filtro na capela de exaustão por 24 horas e para a extração do DNA foi utilizado o protocolo de extração de DNA - Método CTAB. Foi utilizado marcador lambda DNA de 100ng e 200ng para a quantificação do DNA. Para estudar a região do Espaço Interno Transcrito (ITS) e analisar as diferenças no polimorfismo da sequência dessa região nos isolados, foram realizadas reações de PCR com os oligonucleotídeos iniciadores univertais ITS1 e ITS4. Cujo produto amplificado será purificado e sequenciado, para posterior estudo filogenético. **Resultados** – Até o presente momento foram obtidos 42 isolados de *Lasiodiplodia* sp, extraído o DNA de 31, dos quais 19 foram amplificados. Com a utilização do protocolo de extração-método CTAB com fenol, devido ao fungo ser melanizado, foi possível uma melhor visualização das bandas e uma maior quantidade de material genético. A região do ITS de 19 isolados amplificados, mostrou uma banda simples de aproximadamente 550 pares de base, confirmando estudos anteriores referentes a *Lasiodiplodia theobromae*. **Conclusão** – Os isolados T61 e T46 não expressaram bandas apesar da caracterização morfológica, anteriormente feita, indicar um fungo do gênero *Lasiodiplodia*.

Palavras-chave: fungo; DNA; caracterização molecular.