

Prospecção de espécies de *Trichoderma* associadas à cultura dos citros no estado da Bahia

Henrique Castro Gama¹; Lorenço Stier¹; Maria Zélia Alencar de Oliveira², Alessandra Selbach Schnadelbach³; Cristiane de Jesus Barbosa⁴

¹Estudante de Ciências Biológicas da Universidade Federal da Bahia, hcastrogama@gmail.com; ² Pesquisadora CETAB; ³ Professora da Universidade Federal da Bahia;

⁴ Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura, cristiane.barbosa@embrapa.br

A citricultura configura-se como uma das atividades mais importantes para o desenvolvimento agrícola brasileiro, que lidera o mercado de exportação mundial. A Bahia, nesse contexto, é o terceiro maior produtor nacional de citros, cuja cultura é essencialmente familiar. Nos últimos anos, muitas pragas importantes têm afetado a citricultura baiana a exemplo da fusariose, pinta preta, estrelinha e clorose variegada dos citros, que têm sido controladas por meio de agrotóxicos. Entretanto, considerando que a citricultura baiana é, na sua maioria, de natureza familiar, o controle biológico pode ser uma alternativa mais sustentável. O objetivo deste trabalho foi prospectar e identificar espécies de *Trichoderma* associadas à biota de solos de pomares de citros do estado da Bahia. Para recuperação dos isolados de fungos, foram realizadas coletas de amostras de solo nos pomares comerciais da Região do Litoral Norte, Chapada Diamantina, Recôncavo Sul e do Semiárido, utilizando a técnica de amostragem por caminhada em W. O método de isolamento envolveu a homogeneização das amostras por agitação manual, durante 30 segundos. Após, foram diluídas em 1:10 em água destilada com 3 gotas de espalhante adesivo Tween 20. Em Becker, durante 20 minutos, foram submetidas a uma rotação de 250 rpm, formando a suspensão padrão. A suspensão foi diluída a 10⁻¹ e distribuída, com auxílio da alça de Drigalsky, em 50 placas de Petri contendo o meio Dodine e em 50 placas com meio batata-dextrose-ágar (BDA). As placas foram armazenadas em temperatura ambiente (26±2°C) e umidade relativa de 70%, sob luz fluorescente contínua. Após um período de 5 a 7 dias, as placas foram avaliadas quanto à presença e ao crescimento das colônias, sendo identificados nove isolados do gênero *Trichoderma*. Para identificação molecular das espécies foram obtidas culturas monospóricas. Amostras do micélio de cada isolado foram utilizadas para obtenção do DNA total. O micélio foi macerado com nitrogênio líquido, precipitado com álcool isopropílico e ressuspenso em tampão TE. Na amplificação do DNA foram utilizados os primers ITS1 e ITS4. Os ciclos de reação envolveram uma desnaturação a 94°C inicialmente por 3 minutos e em 35 ciclos de 30 segundos. A temperatura para o anelamento foi de 56°C em 35 ciclos com duração de 45 segundos cada. E a extensão ocorreu a 72°C em 35 ciclos de 60 segundos. Após amplificação, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose de 1,5%, a 110v por duas horas. As amostras amplificadas foram sequenciadas no Instituto Gonçalo Muniz – Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) Bahia. Os eletroferogramas obtidos foram editados utilizando o *software* Chromas (*version* 2.6.4). As sequências dos isolados foram comparadas com sequências depositadas no *Genbank*, por meio do BLASTn. Os nove isolados de *Trichoderma* recuperados dos solos de pomares de citros, das quatro regiões avaliadas, foram identificados como *T. asperellum*.

Significado e impacto do trabalho: O gênero *Trichoderma* está associado ao biocontrole de doenças em citros, sendo descrito, também, como promotor de crescimento e indutor de resistência de plantas a doenças. Conhecer as espécies deste fungo, associadas aos pomares de citros na Bahia, é determinante para se construir uma estratégia de manejo de doenças baseada no controle biológico e na resistência das plantas.