

IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ESPECIE DO GÊNERO LOPHODERMUM EM ACÍCULAS DE PINUS¹

Welliton Recalcatti², Ricardo Trezzi Casa³, Mayra Juline Gonçalves⁴, Fábio Nascimento da Silva⁵.

¹ Vinculado ao projeto “Identificação e caracterização do agente causal da clorose em acículas de Pinus”

² Acadêmico do Curso de Agronomia – CAV – Bolsista PROBIC/UDESC

³ Orientador, Departamento de Agronomia – CAV – ricardo.casa@udesc.br

⁴ Pós Doutoranda – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal – CAV

⁵ Professor do Departamento de Agronomia – CAV

O estado de Santa Catarina é um representante potencial da indústria madeireira e florestal no país, apresentando as melhores taxas de produtividade com crescimento acima de 40% da média nacional. Os plantios com Pinus no estado estão concentrados principalmente na região serrana, com destaque para os municípios de Santa Cecília, Lages e Otacílio Costa, que juntos detém cerca de 90 mil hectares plantados.

As doenças em espécies florestais são responsáveis pela diminuição da produtividade dos plantios comerciais. Nos últimos cinco anos, têm se observado a campo um clareamento nas acículas, seguido de desfolha acentuada, resultando na estagnação do incremento. A problemática da morte precoce de pinheiros tem chamado atenção de setor empresarial e da pesquisa na região Sul do Brasil. Diversas iniciativas de diagnóstico foram desenvolvidas, pesquisadores ressaltam a semelhança com outras patologias já relatadas e da necessidade de diagnóstico correto, porém até o momento, não existem resultados conclusivos. O objetivo deste trabalho é identificar o agente causal da clorose em acículas de Pinus.

O estudo foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV-UDESC) em parceria com a Associação Catarinense de Empresas Florestais (ACR). O material vegetal foi coletado nos talhões das empresas florestais associadas a ACR durante as visitas realizadas, sendo este material oriundo da região serrana, norte e oeste do estado. As amostras compostas por acículas com sintomas de clorose e serapilheira, eram encaminhadas para o laboratório, onde eram desinfestadas e inoculadas em meio de cultivo BSA. As placas de Petri inoculadas foram incubadas a 22°C±2 com regime de luz de 12/12 horas. Os isolados obtidos foram agrupados de acordo com a morfologia da colônia e posteriormente foram purificados e depositados na micoteca ‘Erlei Melo Reis’ localizada no mesmo laboratório.

A extração do DNA foi realizada utilizando-se o Wizard® Genomic DNA Purification Kit. A qualidade dos ácidos nucleicos extraídos foi verificada em Nanodrop 2000 (Thermo Fisher). A PCR foi realizada utilizando a enzima goTaq DNA polymerase (Promega biotecnologia, Brasil) de acordo com as recomendações do fabricante. Os oligonucleotídeos utilizados foram baseados em artigos científicos da área, ambos, descritos para a região ITS do DNA, sendo estes iniciadores ITS6 e ITS4 (Write et al., 1990). Os resultados da PCR foram visualizados por eletroforese em gel de agarose 1%.

Os resultados encontrados neste levantamento demostram a riqueza de espécies encontradas em acículas de pinus. Foram identificadas espécies dos gêneros *Alternaria*,

Aspergillus, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Lophodermium*, *Pestalotiopsis* e *Xylaria*, sendo *Lophodermium*, o mais prevalente.

Lophodermium pinastri (Schrad.) Chevall. é uma espécie ascomiceto, pertencente à família Rhytismataceae e tem relações íntimas com pinheiros (*Pinus spp.*) como um suposto patógeno (Sakuyama, 1993), como endofítico (Hata e Futai, 1996; Hata et al., 1998, Molina-Serrano et al., 2020) e como saprófita (Kendrick e Burges 1962; Soma e Saito, 1979; Tokumasu, 1996, 1998; Hirose e Osono, 2006). Em ambientes naturais, *L. pinastri* coloniza acículas saudáveis latentemente como um endofítico, inicia o crescimento ativo de hifas no início da senescência da acícula e esporula após a abscisão da acícula para infectar acículas vivas novamente para completar seu ciclo de vida. Este fungo é um colonizador dominante de acícula mortas em estágios iniciais e participa da decomposição da acícula como saprófita (Hirose e Osono, 2006). Sieber-Canavesi et al. (1991) mostraram em testes de utilização de substrato a produção de enzimas celulolíticas por isolados de *Lophodermium spp.* de coníferas europeias. Pouco se sabe, entretanto, sobre suas habilidades potenciais de colonizar acículas caídas e decompor serrapilheira e sobre seus papéis nas mudanças químicas em acículas mortas.

De acordo com a literatura *Lophodermium sp.* causa descoloração, desfolha e diminui a produtividade de árvores infectadas, pois inibe a fotossíntese, causando perdas ao nível do viveiro e de campo (Ahanger et al., 2016; Molina-Serrano et al., 2020). De acordo com o trabalho de Koukol et al. (2015) um fungo identificado experimentalmente como *Lophodermium sp.* foi repetidamente isolado de acículas secundárias vivas de *Pinus mugo* nas montanhas da Polônia. As acículas apresentaram sintomas de manchas amarelas, gradual descoloração e queda prematura em julho. Estas informações corroboram os resultados encontrados neste projeto, onde a partir de acículas com descoloração e queda ao toque no ramo foram isoladas espécies do gênero. Trabalhos adicionais são necessários para determinar a epidemiologia e posteriores postulados de Koch, bem como reação de genótipos.

Palavras-chave: *Pinus taeda*. Floresta. Molecular.

Apoio: