

METODOLOGIAS PARA PRODUÇÃO DE PICNÍDIOS E PARA OBTENÇÃO DE CULTURAS MONOPÓRICAS DE SPHAEROPSIS SAPINEA. BASÍLIO, P.R.R.C.¹; AUER, C.G.²; SANTOS, A.F.²; HIGA, A.R.¹ ¹Universidade Federal do Paraná, Centro de Ciências Florestais e da Madeira, Av. Lothario Meissner, 632, CEP 80210-170, Curitiba, PR, Brasil. E-mail: pbasilio@ufpr.br ²Embrapa Florestas, Colombo, PR, Brasil. Methodology for production of monosporous isolates of *Sphaeropsis sapinea*.

O fungo *Sphaeropsis sapinea* (= *Diplodia pinea*) é um importante patógeno de vários gêneros de coníferas em todo o mundo, causando perdas em plantios comerciais de *Pinus* spp. Este trabalho tem como objetivo descrever a metodologia de produção de picnídios *in vitro* e a obtenção de culturas monospóricas de *S. sapinea*. Esta metodologia foi ajustada a partir do trabalho de Burgess, que consistiu no uso de um meio agarizado com acículas de pínus. Para o seu preparo, acículas novas de *Pinus taeda* foram retiradas de árvores sadias, cortadas em pequenos pedaços de 1 cm de comprimento, colocadas em placas de Petri autoclavadas e, depois, recobertas com o meio ágar-água 2% antes da sua solidificação. Três isolados de *S. sapinea* foram repicados para este meio e incubados a 25° C, sob luz fria contínua, em estufa BOD, a 25° C. Após 14 dias de incubação, foram observados picnídios e conídios maduros em um dos isolados e nos outros os conídios apareceram após 21 dias. Os picnídios foram cuidadosamente coletados, colocados em tubos de ensaio com água destilada esterilizada, onde foram triturados com auxílio de um estilete, e agitados, vigorosamente, para a liberação dos conídios. Aliquotas de 30 µL foram tomadas com uma micropipeta, transferidas para placas com meio ágar-água 2%, e espalhadas com o auxílio de uma alça de Drigalski. Estas placas foram incubadas em câmara B.O.D. a 25° C, por um período máximo de 12h, dentro do qual os conídios germinaram e formaram hifas. Sob microscópio estereoscópio, os conídios germinados foram coletados com um estilete, transferidos para placas com extrato de malte-ágar, cada placa com apenas um conídio germinado, novamente incubados em estufa BOD, para o desenvolvimento das colônias monospóricas. Esta metodologia mostrou-se adequada para produção de colônias monospóricas do fungo *S. sapinea*.