

## INTERAÇÃO ENTRE ISOLADOS DE *Cylindrocladium* OBTIDOS DE EUCALIPTO E ERVA-MATE E ESPÉCIES DE EUCALYPTUS E ILEX.

GRIGOLETTI JR., A.<sup>1</sup>, BIZI, R.M.<sup>2</sup>, AUER C.G.<sup>3</sup>

### RESUMO

Os viveiros, em função das suas características, apresentam alguns fatores ambientais que favorecem a instalação e o estabelecimento de doenças fúngicas. A umidade elevada, o tecido tenro das mudas e a proximidade entre elas predis põe a ocorrência de doenças. Entre as doenças fúngicas existem aquelas que podem incidir em vários hospedeiros, em virtude da não especificidade dos agentes causais. As mais comuns, nos viveiros, são as que provocam tombamento de mudas e que são causadas por fungos dos gêneros *Rhizoctonia* sp. *Pythium* sp., *Phytophthora* sp. e *Cylindrocladium* sp.. Em viveiros florestais, geralmente são produzidas mudas de várias espécies arbóreas nativas e exóticas, simultaneamente. A colonização de um mesmo patógeno, em diferentes hospedeiros, não é comum, entretanto pode ocorrer. Este fato tem grande importância no manejo de doenças no viveiro, onde são produzidas mudas de espécies que podem ser atacadas pelo mesmo patógeno. O objetivo deste trabalho foi de determinar a especificidade de isolados de *Cylindrocladium* obtidos de eucalipto e erva-mate frente a espécies de *Ilex* e *Eucalyptus*. O experimento foi realizado *in vitro*, em folhas destacadas, onde foram avaliados a percentagem de infecção foliar, o diâmetro das lesões e a presença de estruturas reprodutivas. Os resultados mostraram que o isolado de erva-mate (*C. spathulatum*) pode infectar, além de *Ilex paraguariensis*, (100%), *I. dumosa* (46%), *I. teezans* (84 %), também folhas de *Eucalyptus benthamii* (100%) e *E. dunnii* (72%). O isolado de eucalipto (*C. candelabrum*) infectou todas as folhas de *E. benthamii* e *E. dunnii* e não causou sintomas em *Ilex*.

Palavras-chave: doenças de viveiro, pinta-preta, erva-mate, eucalipto, fungos

### ABSTRACT

Nurseries present some environmental factors that favor installation and establishment of fungi diseases. High humidity, soft tissue and the proximity among them, predispose the occurrence of diseases. Among fungal diseases some infect several host, because its low specificity. The most common, in nurseries, is damping-off caused by *Rhizoctonia* sp. *Pythium* sp., *Phytophthora* sp. *Cylindrocladium* sp.. In forest nurseries, several native and exotic trees are generally produced simultaneously. The colonization of same pathogen, on different hosts, is not common, however it can happen. This fact has great importance on nursery diseases control. The objective of this work was to determine the specificity of *Cylindrocladium* of eucalyptus and mate isolates, on *Ilex* and *Eucalyptus* species. The experiment was performed *in vitro*, in detached leaves, where they were evaluated leaves infection percent, lesions diameter and the presence of reproductive structures. The results showed that the isolated of mate (*C. spathulatum*) can infect, besides *Ilex paraguariensis*,

<sup>1</sup> Engenheiro Agrônomo, doutor, pesquisador da Embrapa-Florestas- Caixa Postal, 319. CEP 83.411-000 Colombo, PR., Brasil.. mail: albino@cnpf.embrapa.br

<sup>2</sup> Acadêmica de Biologia, Faculdades Espírita Bezerra de Menezes- Rua Tobias de Macedo Júnior,333. 82010-340 Curitiba, PR.

<sup>3</sup> Engenheiro Florestal, doutor, pesquisador da Embrapa Florestas- Caixa Postal, 319. CEP 83.411-000 Colombo, PR., Brasil.. mail: auer@cnpf.embrapa.br

(100%) *I. dumosa* (46%), *I. teezans* (84%), as well as *Eucalyptus benthamii* (100%) and *E. dunnii* (72%). The isolate of eucalyptus (*C. candelabrum*) infected all *E. benthamii* and *E. dunnii*, but not on *Ilex* leaves.

Key words: fungi, leaf-spot, eucalypts, nursery diseases, mate.

## INTRODUÇÃO:

O cultivo da erva-mate tem grande importância social, econômica e ambiental, principalmente na região sul do Brasil, com ênfase nas pequenas propriedades.

Sua expansão fora de seu ambiente natural, a floresta, as condições de cultivo e as condições climáticas favorecem a ocorrência de pragas e doenças, que provocam danos econômicos, podendo até inviabilizar seu cultivo. As doenças afetam com maior intensidade as mudas no viveiro, onde devem ser tomados cuidados especiais para que elas estejam em perfeitas condições fitossanitárias e possam reproduzir todo seu potencial genético, quando forem plantadas no campo. Algumas doenças fúngicas podem incidir em vários hospedeiros, em virtude da não especificidade dos agentes causais. As mais comuns, nos viveiros, são as que provocam tombamento de mudas e que são causadas por fungos dos gêneros *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Phytophthora* sp. *Cylindrocladium* sp. e outros.

Como nos viveiros florestais geralmente são produzidas mudas de várias espécies arbóreas nativas e exóticas, simultaneamente, pode ocorrer a contaminação com o mesmo patógeno, entre espécies diferentes. Este fato tem grande importância no manejo de doenças no viveiro, onde são produzidas mudas de espécies que podem ser atacadas pelo mesmo patógeno. Algumas doenças bastante frequentes em viveiros florestais são causadas por fungos do gênero *Cylindrocladium*. Em erva-mate a doença mais importante é a pinta-preta, causada por *Cylindrocladium spathulatum* (Grigoletti, e Auer, 1996). Esta doença, além de causar problemas no viveiro, pode provocar a queda de folhas no campo (Carpanezi et al., 1983).

São reconhecidas cerca de 18 espécies de *Cylindrocladium*, sendo a maioria delas patogênicas às essências florestais. Em eucalipto, foram relatadas *C. clavatum*, *C. ilicicola*, *C. ovatum*, *C. parasiticum*; *C. pteridis* e *C. scoparium*, provocando manchas foliares e podridões de estacas (Ferreira e Milani, 2002; Alfenas, 1986; Alfenas et al., 1979; Blum et al., 1994). O objetivo deste trabalho foi de verificar o grau de especificidade de isolados de *Cylindrocladium* obtidos a partir de lesões foliares de erva-mate e de eucalipto, em três espécies de *Ilex* e duas de *Eucalyptus*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Fitopatologia, Centro Nacional de Pesquisa de Florestas da Embrapa. Os isolados de *Cylindrocladium* foram obtidos por meio de isolamento de lesões em folhas de erva-mate, (*C. spathulatum*) e de eucalipto, (*C. candelabrum*). Após o isolamento e purificação das colônias, estes foram mantidos em meio BDA. As espécies de *Ilex* utilizadas para os testes foram *Ilex paraguariensis*, *I. dumosa* e *I. teezans* e as de eucalipto foram *Eucalyptus benthamii* e *E. dunnii*.

As folhas destas espécies foram coletadas de plantas adultas, lavadas em água destilada e colocadas em caixas contendo no seu interior papel filtro umedecido. As folhas, após desinfestadas, foram inoculadas com discos de papel filtro (6 mm de diâmetro) embebido em suspensão de  $1,2 \times 10^4$  conídios/mL das duas espécies de *Cylindrocladium*.

Foram utilizados dois discos de inoculação por folha, um de cada lado da nervura principal, sendo o isolado de eucalipto inoculado próximo ao ápice e o isolado de erva-mate próximo ao pecíolo da folha (Fig.1). As inoculações foram efetuadas na face abaxial das folhas, por ser esta, a face mais suscetível da folha (LAU, 1997)

As avaliações foram realizadas aos 7 e 15 dias após a inoculação, quando foram registrados a percentagem de infecção foliar, o diâmetro da lesão e a produção de estruturas reprodutivas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os resultados mostraram que o isolado de erva-mate (*C. spathulatum*) pode infectar, além de *Ilex paraguariensis* (100%) *I. dumosa* (46%), *I. teezans* (84.5%), bem como *Eucalyptus benthamii* (100%) e *E. dunnii* (72%) (Tabela 1). O isolado de eucalipto (*C. candelabrum*) infectou 100% das folhas de *E. benthamii* e *E. dunnii*. As lesões provocadas pelo isolado de erva-mate, produziram conídios e vesículas em todas as espécies, exceto em *I. teezans*, já o isolado de eucalipto somente produziu conídios em *E. benthamii* e *E. dunnii*.

**Tabela 1.** Percentagem de infecção (%), diâmetro das colônias (Ø cm) e presença (P) ou ausência (A) de esporulação (ES) de duas espécies de *Cylindrocladium* inoculados em espécies de *Ilex* e *Eucalyptus*.

<i>Cylindrocladium</i> - origem	<i>I. paraguariensis</i>			<i>I. teezans</i>			<i>I. dumosa</i>			<i>E. benthamii</i>			<i>E. dunnii</i>		
	%	Ø	ES	%	Ø	ES	%	Ø	ES	%	Ø	ES	%	Ø	ES
erva-mate	100	5.9	P	84.5	1.3	A	46.0	0.8	P	100	1.9	P	72.2	0.9	P
eucalipto	0	0	A	0	0	A	0	0	A	100	2.8	P	100	1.5	P

Com relação ao tamanho das lesões, Lau (1997), utilizando o mesmo método da folha destacada em diferentes espécies de *Ilex* e *Eucalyptus* com um isolado de *C. spathulatum* de Colombo, obteve as seguintes percentagens de infecção: *I. paraguariensis* (100%), *I. dumosa* (100%), *I. microdonta* (66,7%), *I. theezans* (75%), *E. dunnii* (90%) e *E. viminalis* (40%). Embora o patógeno tivesse causado lesões, a esporulação foi observável apenas em *Ilex paraguariensis* e *I. dumosa*.

Comparando-se os resultados obtidos neste trabalho com os de Lau (1997), no que se refere a *C. spathulatum*, verifica-se que eles são semelhantes, apresentando apenas alguma variação na percentagem de infecção, em algumas espécies. Estes resultados comprovam a patogenicidade de *C. spathulatum* em espécies de *Eucalyptus*.

O nível de resistência do hospedeiro à *Cylindrocladium* pode variar tanto entre espécies quanto entre procedências (Alfenas, 1986). O que explica a variação de resistência entre as espécies de eucalipto testadas.

A espécie *C. spathulatum*, causa manchas foliares em *E. grandis*, *E. viminalis* e *E. cloeziana* (Crous e Wingfield, 1994). A partir deste estudo e os de Lau (1997), podem ser incluídas *E. dunnii* e *E. benthamii*.

*C. candelabrum* é um patógeno que tem causado tombamento, podridão de raiz, podridão de estacas, cancrios da haste, manchas foliares e queima de plântulas, incidindo sobre *E. grandis* (Crous e Wingfield, 1994). Neste trabalho, *E. dunnii* e *E. benthamii* mostraram-se suscetíveis a este patógeno, não causando sintomas em folhas de *Ilex*.

A produção de mudas de eucaliptos e erva-mate simultaneamente, pode favorecer a disseminação de manchas foliares provocadas por *C. spathulatum* por ser patogênico em

ambas espécies. Este fato deve ser considerado, na disposição das mudas e no manejo de doenças no viveiro.

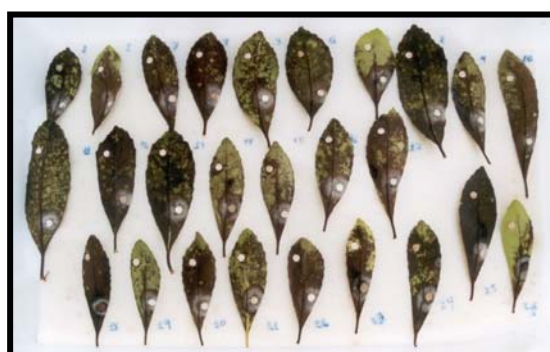
**Figura 1.** Sintomas provocados pela inoculação de isolados de *Cylindrocladium* de eucalipto (parte apical) e de erva-mate (próximo ao pecíolo) em folhas destacadas de *Ilex* (A;B;C) e *Eucalyptus* (D;E).



A. *Ilex dumosa*



B. *Ilex teezans*



C. *Ilex paraguariensis*



D. *Eucalyptus dunnii*



E. *Eucalyptus benthamii*

## CONCLUSÃO:

O isolado de *Cylindrocladium spathulatum*, além das espécies de *Ilex*, também causou infecção em *Eucalyptus dunnii* e *E. benthamii*. Por outro lado, o isolado de *Cylindrocladium candelabrum*, mostrou-se mais específico, infectando somente *Eucalyptus benthamii* e *E. dunnii*.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao pesquisador Antônio Aparecido Carpanezi e ao funcionário Wilson Maschio, ambos da Embrapa Florestas, pela coleta e identificação das espécies de *Ilex*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A. C. Fungos do gênero *Cylindrocladium* como patógenos florestais, no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**. v.11. p.275-277. 1986.
- ALFENAS, A. C.; MATSUOKA, A.K.; FERREIRA, F.A.; HODGES, C.S. Identificação, características culturais e patogenicidade de três espécies de *Cylindrocladium*, isoladas de manchas de folha de *Eucalyptus* spp. **Fitopatologia Brasileira**. v.4. p.445-459. 1979.
- BLUM, L. E .B.; DIANESE, J. C.; FERREIRA, S. B. R. S. Padronização da metodologia para a avaliação da resistência de eucalipto ao tombamento e à mancha foliar causados por *Cylindrocladium*. **Fitopatologia Brasileira**. v.19. p.11-16. 1994.
- CARPANEZZI, A. A.; CARDOSO, A.; VALIO, I.F.M.; GRAÇA, M. E. C.; IEDE, E. T.; HIGA, R. C. V. Queda anormal de folhas da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). In SEMINARIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS, Silvicultura da erva-mate. **Anais**. Curitiba: URPFCS, 1983. p.141-145.
- CROUS, P. D.; WINGFIELD, M. J. A monograph of *Cylindrocladium* including anamorphs of *Calonectria*. **Mycotaxon**. v LI. P.341-435. 1994
- FERREIRA, F.A.; MILANI, D. **Diagnose visual e controle das doenças abióticas e bióticas do Eucalipto no Brasil**. Campinas: Ideal, 2002. 98 p.
- GRIGOLETTI JR., A.; AUER, C. G. **Doenças da erva-mate: identificação e controle**. Colombo, Embrapa Florestas, 1996, 18 p. (Embrapa florestas. Circular Técnica, 25).
- LAU, D. **Características culturais e patogenicidade de isolados de *Cylindrocladium spathulatum*, obtidos a partir de folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* (St.Hil.) no estado do Paraná**. 1997. 35 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Área de Microbiologia, Universidade Federal do Paraná