

## Isolamento e preservação de patógenos foliares obtidos de mudas seminais de eucalipto *Benthamii*

ALVES, Tialan dos Santos<sup>1</sup>  
 AUER, Celso Garcia<sup>2</sup>  
 MOREIRA, Luciene Martins<sup>3</sup>  
 PIBIC - Bolsa Fundação Araucária

**Introdução:** Plantas do gênero *Eucalyptus* começaram a ser produzidas no Brasil em 1868 no estado do Rio Grande do Sul. Sua madeira é amplamente utilizada para a produção de celulose e de energia. A introdução do *E. benthamii* no Sul do Brasil, tornou-o uma das mais promissoras espécies para serem plantadas em áreas com ocorrência de geadas severas, característica assegurada por ser uma espécie originária de regiões frias da Austrália. A cultura do eucalipto é atacada por vários patógenos, principalmente fungos, que causam danos desde o viveiro aos plantios adultos em diferentes épocas do ano. **Objetivo:** Os objetivos deste trabalho foram isolar patógenos foliares incidentes em mudas de *E. benthamii*, purificar as culturas para a identificação dos patógenos e preparar a conservação dos isolados. **Metodologia:** As atividades de isolamento dos patógenos foram executadas em mudas sintomáticas de *E. benthamii*, com quatro anos de idade, provenientes de três viveiros no Paraná, D' Agostín (Colombo), Florestal Sudoeste (Santa Izabel do Oeste) e Golden Tree (Guarapuava). O material foi processado no laboratório de Microbiologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Câmpus São José dos Pinhais. Os tecidos vegetais analisados foram folhas sintomáticas, separadas por lesões velhas e novas para facilitar a identificação. Durante a manipulação das mudas, algumas apresentaram lesões nas hastes. Optou-se por investigar também estes tecidos. O método utilizado, para ambas as amostras, foi o de isolamento indireto e direto. Para o direto foi feita câmara úmida, para promover a esporulação de patógenos nas folhas e hastes lesionadas. Estas permaneceram em BOD a 25 °C no escuro, por uma semana, seguindo-se da repicagem das estruturas fúngicas para placas de Petri contendo meio de cultura Ágar-água (AA). Processo realizado em câmara de fluxo laminar. O indireto consistiu na retirada de folhas doentes e porções das hastes das mudas. Este material foi cortado e os fragmentos desinfestados em soluções sequenciais de álcool 70%, hipoclorito de sódio 2%, imersão em água esterilizada e, secos em papel filtro. O material foi levado à câmara de fluxo laminar e plaqueado em meio de cultura Ágar-água (AA). As placas dos dois métodos foram acondicionadas em estufa de bacteriológica de crescimento, a 25 °C, por uma semana. Discos de ágar de 5 mm, contendo micélio fúngico, foram repicados para meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), sendo novamente mantidos em estufa de bacteriológica de crescimento, a 25 °C para o desenvolvimento das colônias e esporulação dos patógenos. Após duas semanas, iniciaram-se as avaliações na tentativa de identificação dos patógenos fúngicos. Estas foram por porções das lâminas para visualização em microscópio óptico. **Resultados:** Dos fungos identificados, os isolados de *Pestalotiopsis* sp., *Colletotrichum* sp. e *Cylindrocladium* sp. levaram, em torno, de seis meses para serem identificados, pela demora em esporular, *Alternaria* sp exibiu intensa esporulação e *Rhizoctonia* sp. desenvolveu seu micélio típico, marrom, grosso, septado e formando ângulos retos. **Conclusões:** Os métodos utilizados foram eficientes para a obtenção de isolados fúngicos. Porém, seria necessário avaliar condições de temperatura e luminosidade ideais para favorecerem a esporulação dos fungos.

**Palavras-chave:** Fungos.Doenças foliares.Doenças da haste.Eucalipto

## Isolation and preservation of leaf seedlings pathogens of eucalipto *benthamii*

**Introduction:** The genus *Eucalyptus* began to be produced in Brazil in 1868 in the state of Rio Grande do Sul. Its wood is widely used for the production of cellulose and energy. The introduction of *E. benthamii* in south Brazil, has become one of the most promising species to be planted in areas with severe frosts, feature guaranteed to be a species originating from cold regions of Australia. The eucalyptus plantation is attacked by various pathogens, especially fungi, which cause damage to crops from nursery to adult plants, in different seasons. **Objectives:** The objective of this study was to isolate leaf pathogens incidents in seedlings of *E. benthamii*, purified cultures for the identification of pathogens and prepare the preservation of isolated. **Methods:** The activities of isolation of pathogens were

performed on symptomatic seedlings of *E. benthamii* with four years old, from three nurseries in Paraná, D'Agostin (Colombo), Florestal Sudoeste (Santa Izabel do Oeste) and Golden Tree (Guarapuava). The material was processed in the microbiology laboratory of the Pontifical Catholic University of Paraná, Campus São José dos Pinhais. The plant tissues analyzed were symptomatic leaves separated by old and new lesions for facilitate the identification. During the handling of seedlings, some had lesions on the stems. It was decided to investigate these tissues. The method used for both samples was the indirect and direct isolation. For direct wet chamber was made to promote pathogen sporulation on leaves or stems injured. These remained in the chamber at 25 ° C, in the dark for a week, followed of subculturing fungal structures to Petri dishes containing agar culture medium (AA). Process performed in a laminar flow. The indirect consisted in the removal of portions of diseased leaves and stems of seedlings. This material was cut and fragments were immersed in solutions sequential sterilized 70% ethanol, 2% sodium hypochlorite, and sterile water and dried on filter paper. The material was taken to the laminar flow and plated in agar culture medium (AA). The plates of the two methods were placed in an incubator at 25 ° C for one week. Discs of 5 mm agar containing mycelium were transferred to Potato Dextrose Agar medium (PDA), and again kept in incubator at 25 ° C for colony development and sporulation of the pathogen. After two weeks, began assessments in an attempt to identify the fungal pathogens. These were through the preparation of blades for viewing under a microscope. **Results:** Fungi identified isolates of *Pestalotiopsis* sp., *Colletotrichum* sp. and *Cylindrocladium* sp. led around, six months to be identified, the delay in sporulation, *Alternaria* sp exhibited intense sporulation and *Rhizoctonia* sp. developed its typical mycelium. **Conclusion:** The methods used were effective for obtaining fungal isolates. However, it would be necessary to evaluate temperature and light conditions for favoring the sporulation of the fungus. **Keywords:** Fungi.Foliar diseases.Stem diseases.Eucalyptus

**Keywords:** Fungi.Foliar diseases.Stem diseases.Eucalyptus

1 Discente - PUCPR

2 Co-orientador - Embrapa Florest

3 Orientador - PUCPR