

IDENTIFICAÇÃO DO AGENTE CAUSAL DA CLOROSE EM ACÍCULAS DE PINUS¹

Maiara Andrade Lopes², Ricardo Trezzi Casa³, Mayra Juline Gonçalves⁴, Fabio Nascimento da Silva⁵

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

²Acadêmico do Curso de Agronomia – CAV– Bolsista PIBIC/CNPq

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

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

⁵Professor do Departamento de Agronomia – CAV

A indústria de árvores plantadas em Santa Catarina está entre as mais produtivas do mundo. No ano de 2021, no Brasil foram plantados 2 milhões de hectares de pinus, deste total, 35% estão no estado de Santa Catarina. São 713 mil hectares, um aumento de 20 mil hectares em relação ao ano de 2020 (ACR, 2022). Santa Catarina também é líder em exportação de produtos madeireiros (madeira serrada, janela, porta e móveis), no ano de 2021 este volume foi superior a US\$1bilhão. O Pinus adaptou-se ao estado de Santa Catarina devido às condições edafoclimáticas serem favoráveis para o seu desenvolvimento, no entanto, nos últimos anos tem se observado um clareamento nas acículas, seguido de desfolha acentuada, resultando na estagnação do incremento. Em áreas com maior severidade somente ficam nos galhos as acículas da última brotação, que também apresentam a clorose. Após um tempo indeterminado as copas com severa clorose e desfolha secam e morrem. O objetivo do trabalho é identificar o agente causal da clorose em acículas de Pinus. No ciclo agrícola de 2021/2022 foram coletadas acículas de Pinus em diferentes mesorregiões do estado (norte catarinense, serrana e oeste catarinense). O material vegetal foi processado e a partir de acículas com sintomas de clorose, diferentes meios de cultura foram combinados com temperatura e luminosidade. Os microrganismos obtidos foram depositados na micoteca do projeto de pesquisa. Os que apresentaram características de interesse e foram mais prevalentes nas técnicas de isolamento foram cultivados em meios de cultura específicos, seguindo de extração de DNA, reação de PCR, eletroforese em gel de agarose a 1% e sequenciamento. Estudos anatômicos em acículas com clorose foram realizados seguidos de diferentes técnicas de coloração, observação e captura de imagens em microscópio eletrônico de varredura (MEV). De posse dos resultados, um protocolo para extração das frações de DNA e RNA foi elaborado para análise de sequenciamento de nova geração (“*Next Generation Sequencing*”). Após o sequenciamento as espécies mais prevalentes foram dos gêneros *Xylaria*, *Colletotrichum*, *Aspergillus*, e *Lophodermium*, sendo que algumas destas espécies ainda não tem registro de patogenicidade e ocorrência em espécies de Pinus no Brasil. *Lophodermium* sp. é um fungo endofítico, pertencente à família Rhytismataceae (Rhytismatales, Ascomycota) (Molina-Serrano et al., 2020). 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. Trabalhos adicionais são necessários para estabelecer os postulados de Koch. Através dos testes histoquímicos observamos a presença de estruturas circulares a nível celular de plantas com sintomas, e nos testes de coloração, foi possível identificar que estas estruturas são proteicas, e não reagem para mucopolissacarídeos, nem tampouco para amido. Testes específicos para

fungos também apresentaram resultados negativos. Para melhor compreensão destas estruturas, a microscopia eletrônica de varredura foi realizada para complementar a análise. Quando observados em MEV, podemos verificar que essas “estruturas” formam um aglomerado e são de tamanho reduzido quando comparadas, por exemplo, com amido. Este projeto se encontra em fase final do processamento dos dados da análise de NGS (“*Next Generation Sequencing*”) com os quais será possível fazer a inferência sobre o agente causal da clorose em espécies de pinus.



Figura 1. Ilustração das manchas cloróticas em acículas verdes (A), e acículas em processo de senescência apresentando estruturas negras, denominadas de apotécio (B).

Fonte: próprio autor

Palavras-chave: *Pinus taeda*. Mancha clorótica. Diagnose. Fungos.