JOURNAL OF EDUCATION, SCIENCE AND HEALTH – JESH
Revista de Educação, Ciência e Saúde
DOI: https://www.doi.org/10.52832/jesh.v6i3.766
Home page: https://bio10publicacao.com.br/jesh
e-ISSN: 2763-6119

DIAGNOSE DE PATÓGENOS FOLIARES EM ESPÉCIES FLORESTAIS: ISOLAMENTO, CULTIVO E IDENTIFICAÇÃO EM LABORATÓRIO DE FITOPATOLOGIA

DIAGNOSIS OF FOLIAR PATHOGENS IN FOREST SPECIES: ISOLATION, CULTIVATION AND IDENTIFICATION IN A PHYTOPATHOLOGY LABORATORY

DIAGNÓSTICO DE PATÓGENOS FOLIARES EN ESPECIES FORESTALES: AISLAMIENTO, CULTIVO E IDENTIFICACIÓN EN LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA

Iris da Silva Marques[1]; Igor Miranda Barata[2]; Cleiciane da Silva Costa[3]; Adélia Benedita Coelho dos Santos[4]

[1]Graduanda em Engenharia Florestal, Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, Pará, Brasil; [2]Graduando em Engenharia Florestal, Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, Pará, Brasil; [3]Graduando em Engenharia Florestal, Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, Pará, Brasil; [4]Docente, Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, Pará, Brasil.

Recebido: 10/04/2026 | **Aprovado**: 15/06/2026 | **Publicado**: 04/11/2026

Resumo: O presente estudo teve como objetivo realizar o isolamento, cultivo e identificação de fungos fitopatogênicos associados a folhas de espécies florestais, com ênfase na espécie Ipê. O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), campus Belém. Inicialmente, foram coletadas folhas com sintomas e assintomáticas, visando análise comparativa. As amostras passaram por processo de higienização e desinfecção, utilizando álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1,5%, seguidos de lavagens com água destilada esterilizada. Posteriormente, fragmentos foliares foram inoculados em meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar) sob condições assépticas em câmara de fluxo laminar. Após incubação, foi realizado o isolamento dos microrganismos e posterior repicagem para obtenção de culturas puras. A identificação dos fungos ocorreu por meio de análises morfológicas em microscopia óptica, com uso de corante azul de metileno. Os resultados indicaram a presença de diferentes colônias fúngicas, sendo possível sugerir a ocorrência do gênero Bipolaris em uma das amostras. Entretanto, algumas culturas não puderam ser identificadas devido à ausência de estruturas reprodutivas. Conclui-se que os procedimentos adotados foram eficazes para o isolamento e análise inicial de fungos fitopatogênicos, evidenciando a importância de estudos laboratoriais para compreensão das doenças florestais.

Palavras-chave: Diagnose. Espécies florestais. Fitopatologia. Fungos. Isolamento.

Abstract: This study aimed to isolate, cultivate, and identify phytopathogenic fungi associated with leaves of forest species, with emphasis on Ipê. The research was conducted at the Phytopathology Laboratory of the Federal Rural University of Amazon (UFRA), Belém campus. Initially, symptomatic and asymptomatic leaves were collected for comparative analysis. The samples underwent cleaning and disinfection processes using 70% alcohol and 1.5% sodium hypochlorite, followed by washing with sterile distilled water. Leaf fragments were then inoculated in Potato Dextrose Agar (PDA) under aseptic conditions in a laminar flow chamber. After incubation, microorganisms were isolated and transferred to obtain pure cultures. Fungal identification was carried out through morphological analysis using optical microscopy and methylene blue staining. The results indicated the presence of different fungal colonies, suggesting the occurrence of the genus Bipolaris in one sample. However, some fungi could not be identified due to the absence of reproductive structures. It is concluded that the adopted procedures were effective for initial isolation and analysis of phytopathogenic fungi, highlighting the importance of laboratory studies for understanding forest diseases.

Keywords: Diagnosis. Forest species. Fungi. Phytopathology. Isolation. Diagnosis.

Resumen: El presente estudio tuvo como objetivo realizar el aislamiento, cultivo e identificación de hongos fitopatógenos asociados a hojas de especies forestales, con énfasis en Ipê. El trabajo fue desarrollado en el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Federal Rural de la Amazonía (UFRA), campus Belém. Inicialmente, se recolectaron hojas con y sin síntomas para análisis comparativo. Las muestras fueron sometidas a procesos de limpieza y desinfección utilizando alcohol al 70% e hipoclorito de sodio al 1,5%, seguidos de lavados con agua destilada esterilizada. Posteriormente, fragmentos

foliares fueron inoculados en medio de cultivo PDA bajo condiciones asépticas. Tras la incubación, se realizó el aislamiento y la obtención de cultivos puros. La identificación de los hongos se llevó a cabo mediante análisis morfológico con microscopía óptica. Los resultados indicaron la presencia de diferentes colonias fúngicas, destacándose la posible identificación del género Bipolaris. Algunas muestras no pudieron ser identificadas por falta de estructuras reproductivas. Se concluye que la metodología aplicada fue eficaz para el aislamiento y análisis inicial de hongos fitopatógenos.

Palabras-clave: Aislamiento. Diagnóstico. Especies forestales. Fitopatología. Hongos.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma vasta diversidade de espécies florestais nativas que desempenham papéis fundamentais tanto na manutenção dos ecossistemas quanto no desenvolvimento econômico e paisagístico do país. Entre essas espécies, destacam-se os ipês, árvores pertencentes à família Bignoniaceae, incluídas principalmente nos gêneros *Handroanthus e Tabebuia* (Lucini & Putzke, 2015). Com ampla ocorrência em diversos biomas brasileiros, como a Amazônia, o Cerrado e a Mata Atlântica. Nesses ambientes, os ipês são altamente valorizados por sua madeira de excelente qualidade, resistência e durabilidade, além de seu inegável potencial ornamental e paisagístico devido às suas floradas exuberantes (Embrapa, 2022). Espécies como o ipê-amarelo (*Handroanthus serratifolius*) são frequentemente utilizadas em projetos de arborização urbana, recuperação de áreas degradadas e recomposição de matas ciliares (Cassimiro & Oliveira, 2018).

Apesar da importância ecológica e econômica das espécies florestais nativas, a fitopatologia florestal no Brasil ainda é uma área que carece de estudos aprofundados. Esse cenário é ainda mais evidente quando comparado à fitopatologia agrícola (Gasparotto, Bentes & Pereira, 2014). Em condições naturais, as plantas, o ambiente e os patógenos tendem a coexistir em equilíbrio. No entanto, em plantios homogêneos, viveiros ou áreas de reflorestamento, a incidência de doenças pode se tornar um fator limitante para o estabelecimento e o desenvolvimento das mudas (Cassimiro & Oliveira, 2018). As doenças de origem fúngica representam uma das principais ameaças sanitárias às espécies florestais, podendo causar desde manchas foliares e necroses até a desfolha prematura e a morte de tecidos vegetativos, o que compromete significativamente a área fotossintética e o vigor das plantas (Parisi, Santos & Barbedo, 2019).

No contexto das doenças foliares, diversos gêneros de fungos fitopatogênicos têm sido relatados associados a espécies de ipês. Estudos apontam a ocorrência de patógenos como *Colletotrichum sp., Alternaria sp., Fusarium sp. e Bipolaris sp.* causando lesões e manchas foliares em mudas e árvores adultas (Lucini & Putzke, 2015; Silva et al., 2024). O gênero *Bipolaris*, pertencente à classe Dothideomycetes, é reconhecido como um importante agente causal de manchas foliares em regiões de clima tropical, caracterizando-se morfologicamente pela produção de conídios septados, de formato ovalado a fusiforme, frequentemente de coloração marrom (Silva et al., 2024). A identificação correta desses agentes etiológicos é o primeiro passo para a adoção de medidas eficientes de manejo e controle em viveiros e plantios florestais.

Para a diagnose precisa de doenças fúngicas em plantas, a fitopatologia baseia-se em metodologias rigorosas de isolamento e identificação. O processo envolve a coleta de material vegetal sintomático, a desinfestação superficial para eliminação de contaminantes e o cultivo em meios nutritivos, sendo o meio Batata Dextrose Ágar (BDA) um dos mais utilizados para o crescimento de fungos filamentosos (Bueno et al., 2022).

Todo o procedimento deve ser realizado sob condições assépticas, preferencialmente em câmara de fluxo laminar, para garantir a obtenção de culturas puras (Kimati et al., 2005). Posteriormente, a identificação morfológica é realizada por meio de microscopia óptica, analisando-se as estruturas reprodutivas e vegetativas do microrganismo (Michereff, 2001). Além disso, a confirmação da patogenicidade do isolado deve seguir os princípios estabelecidos pelos Postulados de Koch, que consistem na inoculação do patógeno em um hospedeiro sadio e na reprodução dos sintomas originais (Michereff, 2001).

Diante da necessidade de ampliar o conhecimento sobre a sanidade de espécies florestais nativas, o presente trabalho teve como objetivo realizar o isolamento, o cultivo e a identificação morfológica de patógenos foliares associados a indivíduos sintomáticos de ipê (Handroanthus sp.) localizados no campus da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), em Belém - PA. Este estudo foi desenvolvido no contexto do Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO), integrando um conjunto de experimentos voltados ao diagnóstico de doenças em espécies florestais. Por meio da aplicação de técnicas laboratoriais de fitopatologia, buscou-se diagnosticar os agentes causadores das lesões foliares, contribuindo para a compreensão da dinâmica de doenças fúngicas nessa importante espécie florestal.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), campus Belém, no período de 06 de janeiro a 11 de abril de 2025, com o objetivo de isolar, cultivar e identificar patógenos foliares associados a espécies florestais, com foco em *Handroanthus sp.*

2.2 Coleta e preparo das amostras

A coleta de material vegetal foi realizada nas proximidades do Prédio Central da UFRA, onde foram identificados indivíduos de ipê (*Handroanthus sp.*) apresentando sintomas visíveis de doenças foliares. Para fins de comparação, também foram coletadas folhas assintomáticas, servindo como controle. Foram obtidas cinco amostras de folhas de ipê, selecionadas por meio de poda seletiva, priorizando as que exibiam os sintomas mais evidentes. A metodologia de coleta seguiu as orientações gerais para estudos fitopatológicos (Kimati et al., 2005). Após a coleta, as amostras foliares foram submetidas a um processo de higienização. Inicialmente, as folhas foram lavadas em água corrente e sabão neutro para remover sujidades superficiais. Em seguida, foram seccionadas em fragmentos menores, contendo tanto as áreas sintomáticas quanto as assintomáticas, para permitir uma análise detalhada dos tecidos afetados e sadios (Michereff, 2001).

2.3 Procedimentos laboratoriais

O isolamento dos microrganismos foi realizado em meio à cultura Batata Dextrose Ágar (BDA), amplamente empregado para o cultivo de fungos fitopatogênicos (Bueno et al., 2022). Para garantir a assepsia e evitar contaminações, todos os procedimentos foram executados em câmara de fluxo laminar (Kimati et al., 2005).

Os fragmentos foliares foram submetidos a um processo de desinfestação superficial, que consistiu em imersão em álcool 70% por 1 minuto, seguido de hipoclorito de sódio a 1,5% por 2 minutos. Após a desinfestação, os fragmentos foram lavados duas vezes em água destilada estéril e secos em papel toalha estéril (Michereff, 2001). Os fragmentos desinfetados foram então inseridos em placas de Petri contendo BDA, dispostos em formato triangular, com 16 repetições por placa. As placas foram vedadas com fita transparente e incubadas em condições controladas. Após quatro dias de incubação, foram selecionadas três placas (placas 2, 3 e 9) que apresentaram o maior desenvolvimento fúngico. Dessas placas, foram realizadas repicagens para seis novas placas de Petri, a fim de obter culturas puras dos fungos isolados.

2.4 Isolamento e identificação

A identificação dos fungos isolados foi baseada em suas características morfológicas macroscópicas e microscópicas (Michereff, 2001). Para a análise microscópica, foram preparadas lâminas utilizando azul de metileno como corante. As lâminas foram observadas em microscópio óptico, onde foram avaliadas as estruturas reprodutivas (conídios ou esporos) e vegetativas (hifas) dos microrganismos (Silva et al., 2024). A identificação preliminar do fungo verde isolado indicou a possível pertinência ao gênero *Bipolaris*, caracterizado pela presença de conídios maduros de formato ovalado e estruturas semelhantes a "vagens" (Silva et al., 2024). Os fungos marrom e branco não puderam ser identificados a nível de gênero devido à ausência de estruturas reprodutivas claras.

2.5 Teste de Patogenicidade (Postulados de Koch)

Para confirmar a relação causal entre os fungos isolados e os sintomas observados nas folhas de ipê, os testes de patogenicidade foram realizados seguindo os Postulados de Koch (Michereff, 2001). Esta etapa é fundamental para validar que o microrganismo isolado é, de fato, o agente etiológico da doença. A próxima etapa do trabalho envolverá a repicagem dos fungos isolados em folhas sadias de ipê para a reprodução dos sintomas, conforme descrito nos Postulados de Koch.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o período de incubação das amostras foliares de ipê (*Handroanthus sp.*) em meio BDA, observou-se o desenvolvimento de diferentes morfotipos fúngicos nas placas de Petri. A seleção das placas 2, 3 e 9, que apresentaram o maior crescimento micelial, permitiu a obtenção de culturas puras para a identificação. Este procedimento é crucial para isolar os patógenos de interesse de outros microrganismos saprófitas que podem estar presentes nas amostras (Bueno et al., 2022).

Os procedimentos metodológicos adotados permitiram o isolamento e o desenvolvimento de diferentes colônias fúngicas a partir das amostras foliares coletadas. A presença de sintomas visíveis nas folhas, como manchas e alterações na coloração, indicou a possível ocorrência de patógenos, justificando a escolha do material para análise, conforme observado nas amostras coletadas.

Figura 1 – Amostras foliares coletadas com sintomas de doenças.



Fonte: Marques, 2025.

A etapa de coleta mostrou-se fundamental para o sucesso do isolamento, uma vez que a seleção de tecidos na região de transição entre áreas sadias e lesionadas aumenta a probabilidade de obtenção do patógeno ativo. Esse cuidado metodológico reduz a contaminação por fungos saprofíticos, que normalmente colonizam tecidos já degradados. Após a coleta, o processo de higienização e desinfecção superficial das amostras foi essencial para garantir a qualidade do isolamento. A utilização de álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1,5% contribuiu significativamente para a eliminação de contaminantes externos, permitindo que apenas os microrganismos presentes no interior do tecido vegetal se desenvolvessem no meio de cultura.

Figura 2 e 3 – Fragmentação e preparo das folhas para inoculação.



Fonte: Marques, 2025.

A inoculação em meio BDA (Batata Dextrose Ágar) demonstrou ser eficiente para o crescimento de fungos fitopatogênicos, uma vez que esse meio apresenta composição nutricional adequada para o desenvolvimento de uma ampla gama de microrganismos, favorecendo a rápida emissão de micélio e a formação de colônias bem definidas. Além disso, a utilização desse meio permitiu melhor visualização das características macroscópicas das colônias, como coloração, textura e padrão de crescimento, aspectos fundamentais para a identificação preliminar dos isolados. A realização do procedimento em câmara de fluxo laminar foi determinante para evitar contaminações externas, assegurando condições assépticas durante a manipulação e contribuindo para a obtenção de culturas puras, etapa essencial para análises morfológicas mais precisas.

Figura 4, 5 e 6 – Preparação do meio de cultura e inoculação em condições assépticas.



Fonte: Marques, 2025.

Seguindo a metodologia do Postulado de Koch, os fragmentos foliares foram então inseridos nas placas de Petri contendo BDA, o cumprimento dos postulados de Koch, conforme sistematizado por Michereff (2001), é essencial para confirmar a patogenicidade dos isolados. O processo envolveu:

1. Imersão das folhas (sadias e sintomáticas) em álcool 70% por 1 minuto, para quebra da tensão superficial;
2. Transferência para solução de hipoclorito de sódio a 1,5% por 2 minutos, visando eliminar agentes contaminantes;
3. Duas lavagens subsequentes com água destilada e esterilizada para remoção dos resíduos de desinfetante;
4. Secagem das amostras sobre papel lenço estéril, o que evita a contaminação por bactérias. Caso a folha ainda esteja molhada, há o risco de retenção de bactérias, o que compromete a qualidade do material. Portanto, é fundamental garantir que a folha esteja devidamente seca antes da manipulação.

Figura 7 e 8 – Procedimento de desinfestação das amostras foliares, incluindo (a) imersão em álcool 70% e (b) secagem em papel absorvente estéril.

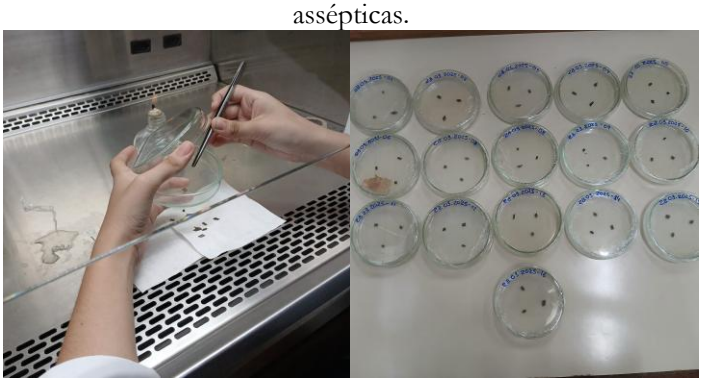


Fonte: Marques, 2025.

Conforme as orientações do Livro Manual de Fitopatologia - Volume 1, a utilização de hipoclorito de sódio e o tempo de exposição devem ser cuidadosamente controlados para não comprometer a viabilidade do patógeno alvo. Após a secagem, foi realizada a inoculação dos fragmentos foliares em placas de Petri contendo BDA, sob condições assépticas e utilizando uma lamparina para garantir a esterilidade do ambiente. As folhas foram dispostas de forma triangular, respeitando o espaçamento entre os fragmentos e as bordas da placa, para favorecer o crescimento dos microrganismos. Esse processo foi repetido 16 vezes nas placas de petri, que

posteriormente foram vedadas com fita transparente para evitar contaminação externa. Essas etapas seguiram rigorosamente os procedimentos descritos na literatura e foram fundamentais para a obtenção de culturas puras e subsequente análise dos patógenos presentes nas folhas coletadas.

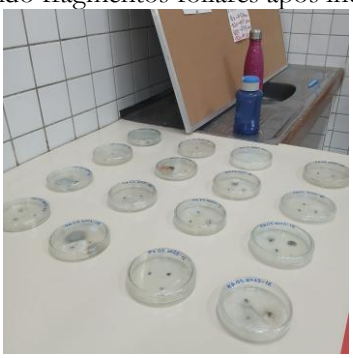
Figura 9 e 10 – Inoculação de fragmentos foliares e disposição em placas de Petri contendo meio BDA sob condições assépticas.



Fonte: Marques, 2025.

Após quatro dias de incubação, foi realizado o isolamento dos fungos presentes nas placas de Petri. Para este processo, foram escolhidas das placas apenas três: 2, 3 e 9 placas nas quais os fungos já haviam se desenvolvido de forma mais evidente.

Figura 11 – Placas de Petri contendo fragmentos foliares após incubação para isolamento de fungos.



Fonte: Marques, 2025.

Figura 12, 13 e 14 – Crescimento de colônias fúngicas em placas de Petri após incubação, evidenciando diferentes morfotipos.

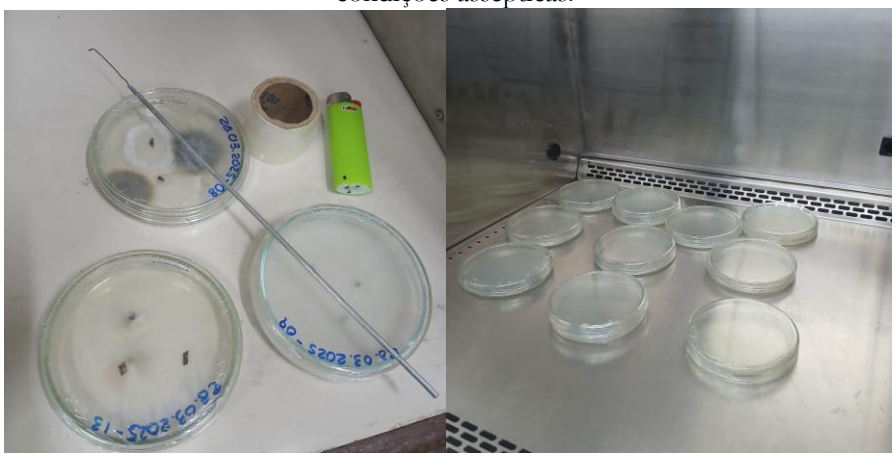


Fonte: Marques, 2025.

Os materiais utilizados para o isolamento foram: uma pinça, uma lamparina para realizar a flambagem dos instrumentos e fita adesiva transparente para vedação das placas. A partir das placas selecionadas, foi feita a

replicação em seis novas placas de Petri contendo meio de cultura BDA. Todo o procedimento foi conduzido dentro da câmara de fluxo laminar. É importante destacar que, durante a manipulação dentro da câmara, deve-se evitar a circulação de pessoas no laboratório e a abertura constante da porta, a fim de minimizar o risco de contaminação. Além disso, é necessário utilizar máscara e higienizar as mãos com álcool sempre que se manusear materiais no interior da câmara.

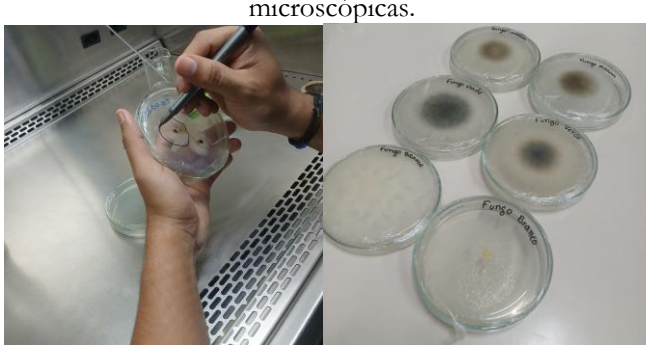
Figura 15 e 16 – Repicagem de fungos e preparo de placas de Petri contendo meio BDA em câmara de fluxo laminar sob condições assépticas.



Fonte: Marques, 2025.

Depois da esterilização dos materiais, abriu-se cuidadosamente as placas de Petri, retirando-se pequenos fragmentos dos fungos com o auxílio da pinça. A remoção dos fragmentos foi feita de forma delicada, para não danificar a estrutura do fungo. Em seguida, os fragmentos foram depositados no centro de novas placas de Petri contendo o meio de cultura BDA. Após a transferência, as placas foram vedadas com fita adesiva transparente e devidamente identificadas, indicando o tipo de fungo isolado. Por exemplo, uma das novas placas foi identificada como contendo o "fungo verde", conforme observado na amostra original. Por fim, as placas isoladas foram colocadas na mesa do laboratório para que ocorra o desenvolvimento e manifestação dos fungos transferidos.

Figura 17 e 18 – Culturas fúngicas isoladas em placas de Petri e materiais utilizados para preparação de lâminas microscópicas.

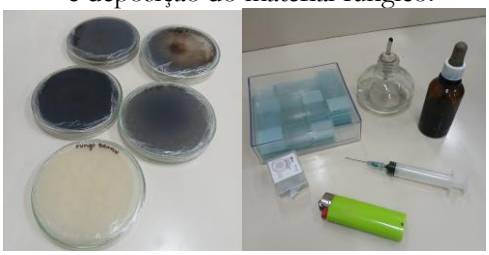


Fonte: Marques, 2025.

Após a transferência dos fungos para novas placas de Petri, foi aguardado o desenvolvimento completo dos microrganismos. Posteriormente, foram feitas lâminas para a identificação dos fungos. Para cada fungo, foram realizadas duas repetições, totalizando seis amostras a serem analisadas.. O processo de identificação foi conduzido da seguinte maneira: utilizando as duas repetições de cada fungo, as lâminas foram preparadas com o auxílio dos

seguintes materiais: lâminas, lamínulas, pinça, lamparina, isqueiro, corante azul metileno, papel guardanapo e microscópio.

Figura 19 e 20 – Etapas de preparação de lâminas para análise microscópica, incluindo esterilização, aplicação de corante e deposição do material fúngico.

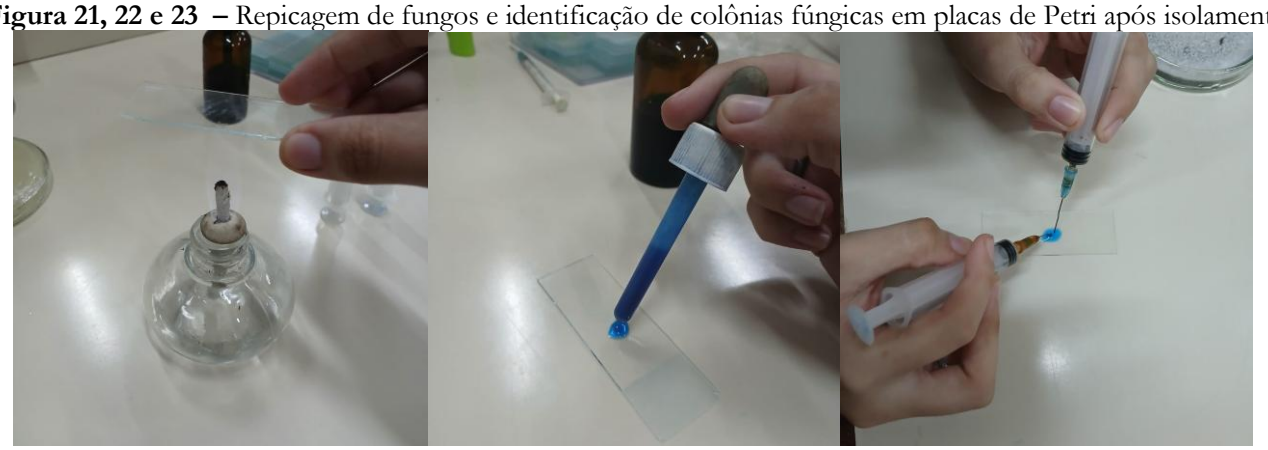


Fonte: Marques, 2025.

Iniciamos a preparação das lâminas pelo fungo de coloração verde. Primeiramente, a lâmina foi flambada na chama da lamparina para garantir a esterilização. Em seguida, adicionou-se uma gota de corante azul metileno sobre a lâmina. Com o auxílio de uma pinça, foi retirado um pequeno fragmento do fungo, que foi cuidadosamente depositado sobre a lâmina contendo o corante. Utilizando outra pinça, o fragmento foi separado e espalhado para facilitar a visualização da estrutura do fungo.

Após essa etapa, uma segunda lâmina foi colocada sobre a primeira, formando a preparação para observação. Caso a quantidade de corante fosse excessiva, era feita uma leve retirada do excesso utilizando papel guardanapo. Por fim, a lâmina preparada foi colocada no microscópio para a análise e identificação morfológica dos fungos.

Figura 21, 22 e 23 – Repicagem de fungos e identificação de colônias fúngicas em placas de Petri após isolamento.

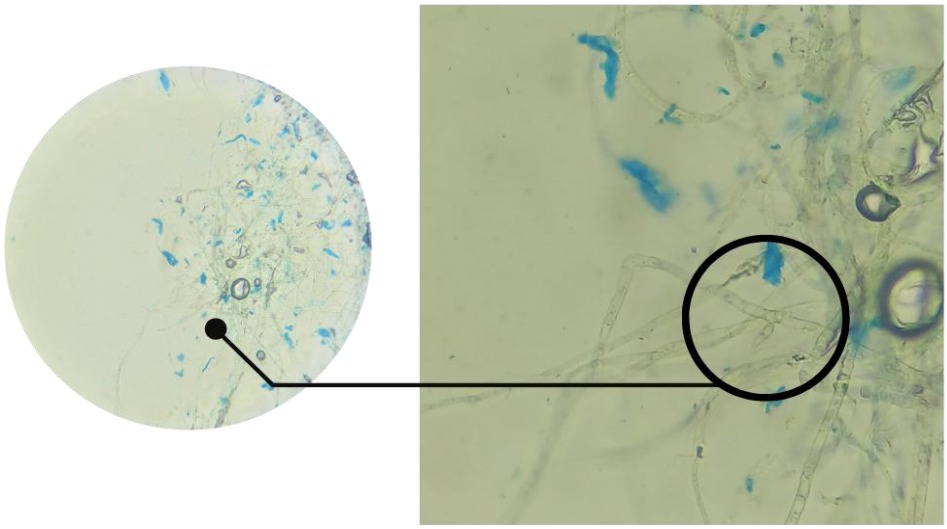


Fonte: Marques, 2025.

A etapa de observação no microscópio é mais demorada, pois exige uma análise detalhada da estrutura do fungo. Para confirmar a identidade do microrganismo, foi necessário realizar diversas observações e comparações no microscópio. Inicialmente, a partir da análise da primeira lâmina, foi deduzido que o fungo observado poderia ser do gênero Bipolaris, porém, a confirmação não foi imediata. Foram realizadas novas observações em diferentes preparações, a fim de verificar características específicas que confirmem a identidade do fungo. Em uma das lâminas, obteve-se uma visualização mais clara e precisa da estrutura típica, permitindo uma identificação mais segura. Na região destacada, é possível observar estruturas semelhantes a "vagens" (formato ovalado), que

correspondem aos conídios maduros. Esses conídios, por apresentarem-se relativamente soltos, indicam que o estágio de maturação já havia sido alcançado, favorecendo sua liberação para o ambiente. A formação dispersa e a aparência livre dos conídios reforçam a observação de que a cultura encontrava-se em fase avançada de desenvolvimento reprodutivo.

Figura 24 – Estruturas fúngicas observadas em microscopia óptica, destacando conídios com morfologia compatível com o gênero *Bipolaris*.



Fonte: Marques, 2025.

Os resultados deste estudo demonstraram a presença de diferentes fungos associados às folhas de ipê (*Handroanthus* sp.), evidenciando a diversidade de microrganismos em espécies florestais. Esse resultado está de acordo com estudos realizados na Amazônia, que indicam que as condições ambientais favorecem o desenvolvimento de fungos fitopatogênicos (Silva et al., 2010) . A ocorrência de diferentes colônias fúngicas também foi observada em outros trabalhos com espécies florestais, nos quais diversos gêneros, como *Fusarium*, *Colletotrichum* e *Alternaria*, estão associados a doenças e à redução da qualidade das mudas (Carmo et al., 2017) .

A identificação preliminar de *Bipolaris* é relevante, pois esse gênero inclui espécies fitopatogênicas importantes, frequentemente associadas a doenças foliares e capazes de comprometer o desenvolvimento das plantas, especialmente em ambientes de viveiro (Almeida, 2019) . Por outro lado, nem todas as amostras puderam ser identificadas com precisão. Os fungos de coloração branca e marrom apresentaram crescimento significativo nas placas de Petri, porém estavam em estágio inicial de desenvolvimento, caracterizado pela presença predominante de micélio e ausência de estruturas reprodutivas. A ausência de estruturas como conídios e esporos impossibilitou a identificação morfológica desses fungos, evidenciando uma limitação comum em estudos laboratoriais, relacionada ao tempo de incubação e às condições de cultivo (Michereff, 2001).

Esse tipo de limitação também é relatado na literatura, que destaca a necessidade de condições adequadas e, em alguns casos, do uso de técnicas complementares para a identificação dos microrganismos (Almeida, 2019) . Além disso, o crescimento vigoroso do fungo marrom, que ocupou rapidamente toda a placa, sugere um comportamento competitivo elevado, podendo inibir o desenvolvimento de outros microrganismos. Já o fungo branco apresentou textura diferenciada, com aspecto perolado, indicando variações na estrutura micelial. A

metodologia utilizada, com isolamento em meio BDA e análise microscópica, mostrou-se eficiente e está de acordo com protocolos amplamente utilizados na fitopatologia para obtenção de culturas puras (Bora et al., 2013) .

De modo geral, as diferenças morfológicas observadas reforçam a diversidade de fungos associados às espécies florestais e a complexidade dos estudos fitopatológicos. Assim, recomenda-se a continuidade do estudo, com novos repiques, maior tempo de incubação e aplicação dos Postulados de Koch, a fim de confirmar a patogenicidade dos isolados e aprofundar a identificação dos microrganismos.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização deste estudo possibilitou a aplicação prática dos conhecimentos teóricos adquiridos durante o curso de Engenharia Florestal, permitindo o desenvolvimento de habilidades técnicas essenciais na área de fitopatologia. As atividades realizadas proporcionaram a oportunidade de aplicar métodos de isolamento, desinfecção e análise de patógenos foliares, além da utilização de ferramentas laboratoriais fundamentais, como a câmara de fluxo laminar e o microscópio óptico. O estágio também permitiu observar de forma direta o crescimento e desenvolvimento de fungos fitopatogênicos em diferentes condições, enriquecendo o aprendizado sobre a dinâmica dos microrganismos em meio de cultura e sobre as características morfológicas que auxiliam na sua identificação. Apesar dos avanços obtidos até o momento, o trabalho ainda está em andamento. A próxima etapa consistirá na repicagem dos fungos isolados em folhas sadias de Ipê, com o objetivo de verificar se os mesmos sintomas observados inicialmente se manifestam nas novas amostras, seguindo os princípios do Postulado de Koch. Esse procedimento é fundamental para confirmar a patogenicidade dos isolados e concluir de forma definitiva a identificação dos agentes causadores das doenças.

Conflitos de interesses

Os autores declaram que não há conflitos de interesse. Todos os autores estão cientes da submissão do artigo e concordam com o seu conteúdo.

Contribuições dos autores

Iris da Silva Marques: concepção do estudo, execução dos experimentos, análise dos dados e redação do manuscrito.

Igor Miranda Barata: auxílio na execução dos experimentos, organização dos dados e revisão do manuscrito.

Cleiciane Costa: apoio metodológico, revisão crítica do conteúdo e supervisão das atividades.

REFERÊNCIAS

Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology* (5th ed.). Elsevier Academic Press.

Almeida, R. F. (2019). *Doenças causadas por fungos fitopatogênicos em mudas de espécies florestais* [Trabalho de Conclusão de Curso, Instituto Federal de Minas Gerais]. https://repositorio.ifmg.edu.br/items/c0923dd8-fa38-4396-8952-f45a7bbfb591/full

Bora, K. C., et al. (2013). *Coleção de fungos patogênicos de espécies florestais*. Evento de Iniciação Científica da Embrapa Florestas. https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/576364/1/EVINCI00909.pdf

Bueno, T. R., Bez, F. S., Bocchese, C. A. C., & Drawanz, B. B. (2022). *Guia prático para isolamento e conservação de fungos fitopatogênicos*. UERGS. https://repositorio.uergs.edu.br/xmlui/handle/123456789/2863

Carmo, A. L. M., et al. (2017). Associação de fungos com sementes de espécies florestais nativas. *Summa Phytopathologica*, 43(3), 246–247. https://doi.org/10.1590/0100-5405/2217

Cassimiro, G. O., & Oliveira, M. E. S. (2018). Doenças de ipês em reflorestamento de áreas degradadas em Gurupi-TO. In *XVIII Seminário de Iniciação Científica da Universidade Federal do Tocantins*. https://static.even3.com/anais/555375.pdf

Embrapa. (2022). *Estudo comprova ampla ocorrência do ipê nas florestas do Brasil*. https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/73763224/estudo-comprova-ampla-ocorrencia-do-ipe-nas-florestas-do-brasil

Gasparotto, L., Bentes, J. L. da S., & Pereira, J. C. R. (2014). *Doenças de espécies florestais arbóreas nativas e exóticas na Amazônia*. Embrapa.

Kimati, H., Amorim, L., Rezende, J. A. M., Bergamin Filho, A., & Camargo, L. E. A. (Eds.). (2005). *Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas* (4ª ed., Vol. 1). Agronômica Ceres.

Lucini, F., & Putzke, J. (2015). Fungos fitopatogênicos em Handroanthus chrysotrichus (ipê-amarelo – Bignoniaceae) cultivadas nos municípios de Santa Cruz do Sul e Venâncio Aires - RS. *Caderno de Pesquisa, Série Biologia*, 27(1), 49–55. https://seer.unisc.br/index.php/cadpesquisa/article/view/6484/4306

Michereff, S. J. (2001). Fundamentos de fitopatologia. Universidade Federal Rural de Pernambuco. https://www.bibliotecaagptea.org.br/agricultura/defesa/livros/FUNDAMENTOS%20DE%20FITOPATOLOGIA.pdf

Parisi, J. J. D., Santos, A. F., & Barbedo, C. J. (2019). Patologia de sementes florestais: Danos, detecção e controle, uma revisão. *Summa Phytopathologica*, 45(1).

Silva, G. B., et al. (2010). Fungos associados e fitopatogênicos a espécies florestais nativas e exóticas na Amazônia. In *Anais do VI Congresso Brasileiro de Micologia*. https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/917095/fungos-associados-e-fitopatogenicos-a-especies-florestais-nativas-e-exoticas-na-amazonia

Silva, G. P., Guimarães, J. J. V., Silva, G. P., Olinda, D. R., & Alves, K. F. (2024). Identificação e caracterização morfocultural de patógenos causadores de doenças foliares em mudas de açaizeiro provenientes de Moju/PA. *Brazilian Journal of Development*, 10(1), 2559–2577. https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/66958