



## Metodologia para Inoculação Padronizada de *Botrytis cinerea* em *Eucalyptus dunnii*

Albino Grigoletti Júnior<sup>1</sup>  
Rafaela Mazur Bizi<sup>2</sup>  
Celso Garcia Auer<sup>3</sup>

A inoculação artificial de fitopatógenos, normalmente, é feita para se obter a confirmação da patogenicidade de um dado organismo, bem como a padronização dos resultados durante os testes de controle químico e seleção de material genético resistente à doença. A padronização da inoculação pode ser obtida pelo preparo adequado do inóculo do patógeno, pela montagem de uma estrutura adequada que simule as condições favoráveis para a ocorrência de doenças e de um aparato para a inoculação.

O mofo-cinza é uma das principais doenças em viveiros florestais de eucalipto na região Sul do Brasil. Essa doença é causada por *Botrytis cinerea* e ataca várias espécies, dentre elas o *Eucalyptus dunnii* (Fig. 1). Durante o desenvolvimento de estudos etiológicos e de controle do mofo-cinza em mudas de eucalipto, o uso de pulverizações de conídios sobre as plantas não tem garantido uma perfeita inoculação e, conseqüentemente, a formação de lesões. Nesse aspecto, cabe salientar que uma garantia para a produção de lesões é a existência de injúrias sobre o tecido sadio.

Assim, para garantir a uniformização da inoculação, um aparato perfurador de folhas foi desenvolvido a partir de um simples pregador de roupas de madeira. Neste pregador, quatro pontas de agulhas finas foram inseridas na parte usada para prender, com a finalidade de perfurar a folha e criar pontos de entrada para o patógeno (Fig. 2).

Na inoculação, pega-se o perfurador e prende-se uma vez à folha para se efetuar as perfurações com as agulhas (Fig. 3 e 4). Em seguida, deposita-se o inóculo de *B. cinerea*, que pode ser constituído de: um disco de micélio-agar retirado de culturas jovens, um disco de papel de filtro estéril embebido em uma suspensão de conídios de  $10^6$  conídios/mL ou uma alíquota de 7,5  $\mu$ L (Fig. 5) dessa mesma concentração, sobre o local das perfurações. Posteriormente, a muda inoculada é colocada em uma caixa plástica forrada com papel, que é mantida umedecida com água destilada para garantir a formação da câmara úmida (Fig. 6). Nesta câmara úmida, as mudas de eucalipto são incubadas por um período entre 15 e 21 dias e, ao final desse período, são avaliadas quanto à incidência e/ou severidade da doença.

<sup>1</sup> Engenheiro-Agrônomo, Doutor, Pesquisador da *Embrapa Florestas*. albino@cnpf.embrapa.br

<sup>2</sup> Bióloga, Mestranda do Curso de Engenharia Florestal da Universidade Federal do Paraná. rafaelabizi@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Engenheiro Florestal, Doutor, Pesquisador da *Embrapa Florestas*. auer@cnpf.embrapa.br

Na avaliação da incidência do mofo-cinza, faz-se a contagem do número de mudas inoculadas que desenvolveram a doença. Na avaliação da severidade, faz-se a contagem do número de folhas lesionadas que desenvolveram a doença e a intensidade da doença com base em uma escala de notas, descrita a seguir (Figura 7):

- 0 = ausência de sintomas;
- 1 = infecção leve (lesão restrita ao ferimento, sem coalescência de lesões);
- 2 = infecção média (lesões coalescentes na folha, sem atingir o caule da muda);
- 3 = infecção severa (lesões coalescentes na folha, atingindo o caule da muda);
- 4 = infecção muito severa (progressão da doença até o ponteiro da muda).

Esta metodologia simples está sendo empregada para a seleção de produtos para o controle alternativo do mofo-cinza em *E. dunnii* na Embrapa Florestas.

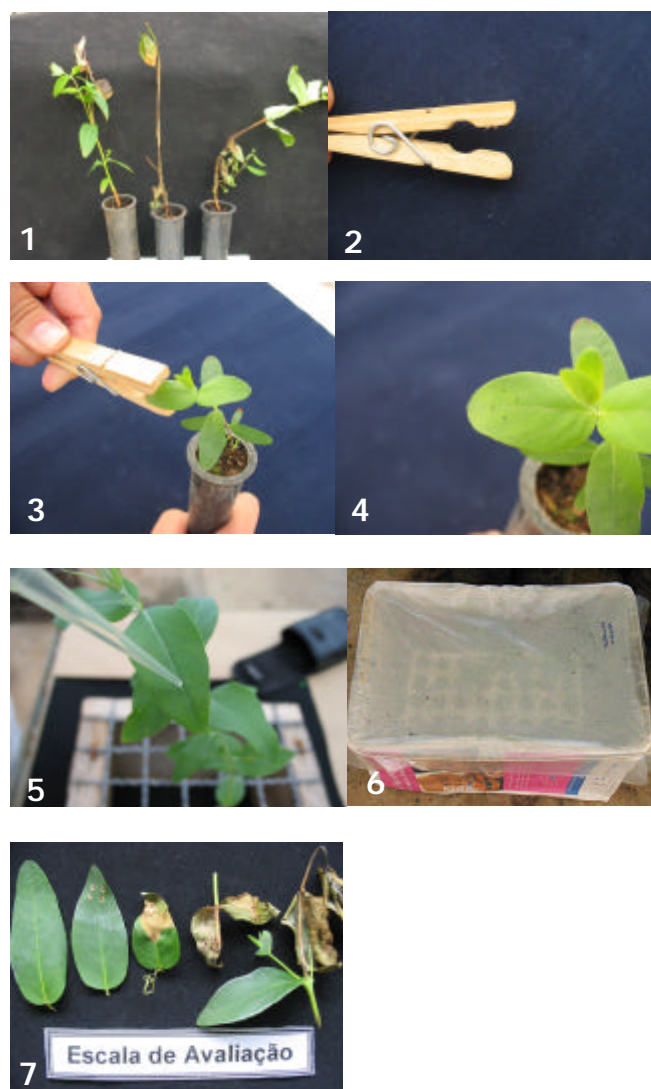


Figura 1-7. 1. Aspecto de muda de eucalipto com mofo-cinza. 2. Perfurador de madeira desenvolvido para estudos com o mofo-cinza. 3. Perfuração da folha. 4. Detalhe dos ferimentos. 5. Câmara úmida para incubação de mudas inoculadas. 6. Câmara úmida para incubação de mudas inoculadas. 7. Escala de avaliação de mofo-cinza em eucalipto.

### Comunicado Técnico, 133

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
**Embrapa Florestas**  
 Endereço: Estrada da Ribeira km 111 - CP 319  
 Fone / Fax: (0\*\*) 41 3675-5600  
 E-mail: sac@cnpf.embrapa.br  
 Para reclamações e sugestões *Fale com o Ouvidor*: [www.embrapa.br/ouvidoria](http://www.embrapa.br/ouvidoria)  
 1ª edição  
 1ª impressão (2005): conforme demanda



### Comitê de publicações

**Presidente:** Luiz Roberto Graça  
**Secretária-Executiva:** Elisabete Marques Oaida  
**Membros:** Alvaro Figueredo dos Santos  
 Edilson Batista de Oliveira / Honorino R. Rodigheri  
 / Ivar Wendling / Maria Augusta Doetzer Rosot /  
 Patricia Póvoa de Mattos / Sandra Bos Mikich /  
 Sérgio Ahrens

### Expediente

**Supervisor editorial:** Luiz Roberto Graça  
**Revisão texto:** Mauro Marcelo Berté  
**Normalização bibliográfica:** Elizabeth Câmara  
 Trevisan / Lidia Woronkoff  
**Fotos:** Albino Grigoletti Júnior  
**Editoração eletrônica:** Cleide Fernandes de Oliveira