

METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DA PATOGENICIDADE DE FUNGOS À ACÁCIA-NEGRA

Álvaro Figueredo dos Santos*

A acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.) ocorre, naturalmente, no sudeste australiano. No início da colonização na Austrália, os europeus reconheceram o valor da madeira da acácia-negra como combustível. A partir de 1843, a espécie foi plantada fora de sua área de ocorrência natural, inicialmente na Índia. Em 1868, apareceu no cenário econômico, na África do Sul, como planta de crescimento rápido para produção de lenha. Só mais tarde, sua casca foi usada para extração de tanino. Em 1884, a África do Sul iniciou as vendas do tanino da casca da acácia-negra. Isto levou ao estabelecimento de grandes plantações, para uso da madeira em construções leves e da casca para extração de substância tanante, para curtimentos de couro. Atualmente, a acácia-negra é plantada em várias partes do mundo com ampla utilização para uso na fabricação de celulose, papel e chapa de fibra.

No Brasil, a acácia-negra foi introduzida na década de 1930 e encontra-se limitada ao Estado do Rio Grande do Sul, onde ocupa uma área superior a 100.000 ha. É plantada, principalmente para produção de tanino, em rotações de 7 a 9 anos.

Rotineiramente, o Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Florestas, recebe amostras de troncos de acácia-negra com lesões de patógenos. Vários fungos como *Cylindrocladium* sp., *Fusarium* sp. e *Pestalotia* sp., entre outros, têm sido isolados em associação com essas lesões, na casca e no lenho. Entretanto, uma das limitações encontradas é a disponibilidade de plantas para testes de patogenicidade. Os testes em campo são restritos aos períodos mais quentes, épocas mais favoráveis à infecção. A adaptação de metodologias precisas, rápidas e de fácil execução são essenciais para os trabalhos rotineiros pois, em laboratório, tem-se a vantagem de um maior controle ambiental. Isto permite agilizar as atividades que poderão ser executadas em qualquer época do ano.

* Eng.-Agrônomo, Doutor, CREA nº 16911/D, Pesquisador da Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa de Florestas.

Assim, tem-se procurado adaptar metodologias que facilitem a rotina de diagnóstico de doenças em acácia-negra. Neste trabalho, apresentam-se resultados preliminares de procedimentos para se determinar a patogenicidade de fungos à acácia-negra, em ramos destacados.

Foram utilizados os isolados CY-1, de *Cylindrocladium* sp., e FU-1, de *Fusarium* sp., mantidos em tubos de ensaio, em meio de cultura com batata-dextrose-ágar(BDA), à temperatura ambiente, com repicagens a cada 2-3 meses. Antes da instalação do ensaio, culturas em crescimento ativo desses isolados foram repicadas dos tubos de ensaio para placas de Petri com BDA e incubadas à temperatura ambiente por sete dias.

As inoculações foram efetuadas em fragmentos de ramos de 25 cm de comprimento e cerca de 1,5 cm de diâmetro, com as extremidades parafinadas, retirados de plantas com 20 meses de idade, das ramificações do tronco desde o colo até 50cm de altura. Foram utilizados apenas os primeiros 50 cm da ramificação, a partir do ponto de inserção no tronco. Foram testadas as seguintes formas de inoculação:

- a) sobre a casca, sem ferimentos;
- b) em casca com ferimentos (a casca foi raspada superficialmente, formando uma área circular com 5mm de diâmetro);
- c) no lenho, com auxílio de um furador, retirando-se um disco de casca de 5mm de diâmetro;
- d) em casca com ferimentos (10 furos/ponto de inoculação). Com um estilete de ponta fina, foram feitos 10 furos numa área circular de 5mm de diâmetro.

Os ramos foram colocados sobre suportes dentro de bandejas de 41 X 29 X 14 cm, com fundo forrado com papel umedecido em água destilada. A inoculação foi feita em dois pontos equidistantes, localizados a 8 cm de cada extremidade, colocando-se, sobre a superfície do ramo, disco de meio de BDA de 5mm de diâmetro, contendo micélio fúngico em crescimento ativo. Nos ramos usados como testemunha, depositou-se um disco de meio BDA sem micélio fúngico. A seguir, aspergiu-se água destilada sobre os ramos inoculados e as bandejas foram fechadas para garantir alta umidade. As bandejas foram deixadas no ambiente de laboratório.

Após 10 dias, procedeu-se à avaliação, observando-se os sintomas e a presença de micélio sobre as lesões formadas. Determinou-se, também, o comprimento e a largura da lesão na casca. Removendo-se a casca em volta do sítio de inoculação e das margens das lesões, foi determinado o tamanho da lesão no lenho.

Os fungos só infectaram os ramos em que foram produzidos ferimentos. Os isolados de *Cylindrocladium* sp. e *Fusarium* sp. causaram lesões necróticas na casca e no lenho, sem presença de exsudação de goma. As lesões

provocadas por *Cylindrocladium* sp. e por *Fusarium* sp. foram maiores quando inoculados no lenho do que na casca (Tabela 1).

As menores lesões ocorreram nos ramos inoculados na casca submetida a furos com estilete de ponta fina. Em alguns pontos de inoculação deste tipo, não se verificou o aparecimento de sintomas. Quando se inoculou *Cylindrocladium* sp. na casca submetida apenas à raspagem superficial, apenas 66% dos pontos inoculados apresentaram sintomas. Foi observado algum crescimento micelial sobre a superfície hospedeira em algumas repetições.

Não se observaram sintomas nos ramos inoculados sem o prévio ferimento. Durante o período de execução do ensaio, os ramos inoculados com disco de meio de BDA sem micélio fúngico mantiveram-se viáveis. O uso da técnica de inoculação no lenho mostrou-se mais eficiente que a inoculação na casca para a determinação da patogenicidade de fungos.

TABELA 1. Tamanho da lesão (mm), na casca e no lenho, em ramos destacados de acácia-negra, inoculados com *Fusarium* sp. e *Cylindrocladium* sp., 10 dias após a inoculação. Colombo, PR, 1997.

Tratamentos	Testemunha		<i>Cylindrocladium</i> sp.		<i>Fusarium</i> sp.	
	Casca	Lenho	Casca	Lenho	Casca	Lenho
Casca sem ferimentos	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Casca com ferimentos (raspagem)	(-)	(-)	9,83±1,46a	7,66±3,19	14,00±1,22	9,00±1,87
Casca com ferimentos (furos)	(-)	(-)	4,50±0,50	3,50±0,50	8,83±2,47	7,00±1,00
Lenho	(-)	(-)	12,83±3,76	12,33±6,84	11,50±1,50	16,16±4,9

(-) Ausência de sintomas.

a. Cada valor é média de seis repetições ± desvio padrão.