Comunicado 87 Técnico ISSN 0102-0099 Brasília, DF Sotembra 2003

Isolados de *Dicyma Pulvinata* Obtidos em um Levantamento Realizado em Seringais **Brasileiros**

Sueli C. M. de Mello1 Maria de F. Santos² Fernanda Gangana³ Rafaela Kososki 3

Resumo

Um levantamento foi realizado nas principais regiões de cultivo de seringueira do país, obtendo-se 54 isolados de D. pulvinata. Esses isolados foram incorporados à coleção de fungos de interesse para controle biológico de fitopatógenos da Embrapa - Recursos Genéticos e Biotecnologia. Para garantir a estabilidade das características morfológicas e patogênicas das culturas, foram utilizados três diferentes métodos de preservação, liofilização, crio - preservação e congelamento a ultrabaixa temperatura. Alguns desses isolados já vêm sendo utilizados em estudos visando ao controle biológico do mal-das-folhas da seringueira, causado pelo fungo Microcyclus ulei, uma das mais destrutivas doenças da seringueira no Brasil e em outros países da América Latina.

Palavras-chave: Hevea spp., fungos, biocontrole.

Abstract

A survey was carried out in order to obtain isolates of the fungus Dicyma pulvinata. Fifty-four isolates were obtained from different geographic areas across the country. The isolates were incorporated to the Embrapa's fungi for biological control of plant pathogen collection. The stability of the morphological and pathogenic traits are assured by using three different conservation methods, as lyophilization, cryo-preservation and freeze (-80°C). Some of these isolates are being used for studies aiming the biological control of the "South American Leaf Blight" (SALB) caused by Microcyclus ulei, the most devastating disease of rubber tree.

Keywords: Hevea spp., fungi, biocontrole.

Introdução

A área tradicional de cultivo da seringueira, no Brasil, abrange a Amazônia Tropical Úmida, Mato Grosso e Bahia. Em áreas não-tradicionais, a seringueira é cultivada nos estados de Goiás, Mato Grosso do Sul, Pernambuco, Maranhão, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Paraná,

¹Eng^a. Agr^a., PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

²Eng^a. Agr^a., M.Sc., Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³Bióloga, Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

São Paulo e Minas Gerais. No Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba estão concentradas as maiores plantações do estado de Minas Gerais, alcançando produtividade de, aproximadamente, 1.500 kg de borracha seca/ha/ano. Do ponto de vista social, a heveicultura é muito importante, principalmente na fixação do homem no campo, pois produz o ano todo (Gasparotto et al., 1990).

Até meados do século 20, o Brasil liderava a produção mundial de látex. Esse produto, então conhecido como "ouro branco", atraiu a atenção de Henry Ford, que chegou a estabelecer um município (Fordilândia) em meio à Floresta Amazônica, voltado para a produção de borracha. Atingidas pelo mal - das - folhas, as áreas sempre úmidas da Amazônia, Bahia e São Paulo entraram em decadência a partir da década de 1940, encerrando o "boom" da borracha no país. Em 2000, a produção brasileira representou menos de 1% da mundial, situando-se em torno de 88 mil toneladas, contra um consumo de 235 mil toneladas. A baixa produção brasileira obriga o Brasil a importar em torno de 147 mil toneladas do insumo para atender à indústria nacional. Por outro lado, a demanda mundial tem crescido 2,5% ao ano, com a produção mantendo-se estável. Portanto, há um grande espaço para expansão da cultura, considerando o mercado, tanto interno quanto externo (http://www.borrachanatural.agr.br).

O uso dos conhecimentos tecnológicos atualmente disponíveis tem sido insuficiente para adequar os programas de controle da doença mal - das - folhas da seringueira (Hevea spp.), causada pelo fungo Microcyclus ulei Sacc., que constitui principal fator limitante para a produção de látex e a expansão da cultura no Brasil e em outros países da América Latina. O controle biológico, pelo uso do fungo Dicyma pulvinata (Berk & M.A. Curtis) Arx (syn. Hansfordia pulvinata), vem sendo apontado como promissor, pois o antagonista coloniza as lesões do M. ulei, impedindo sua esporulação e, consegüentemente, reduzindo o desfolhamento das plantas e a taxa de inóculo para re-infecções (Junqueira & Gasparotto, 1991). Assim, D. pulvinata já vem sendo estudado pela equipe de controle biológico da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, na busca de método de controle do mal - das - folhas. Ressalte-se que este fungo é alvo de pesquisa também em outros países, para controle da mancha preta do amendoim (Arachis hipogea L.) e da cladosporiose do tomateiro (Lycopersicon esculentum Mill.) (Peresse & Picard 1980; Mitchell et al.1987). O objetivo deste trabalho foi de obter isolados de D. pulvinata para uso em programas de controle biológico, enriquecendo assim, a coleção de fungos para controle de fitopatógenos da Embrapa.

Material e Métodos

Os trabalhos foram conduzidos nas instalações da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, com apoio das Unidades da Embrapa Rondônia, Acre, Amazônia Oriental e Amazônia Ocidental e de outras instituições públicas e privadas (CEPLAC, IAC, Michelin, Morais Ferrari e Fazenda Triângulo). Foram realizadas inspeções nas diversas áreas de cultivo de seringueira do país, onde se coletaram folhas da planta contendo estromas de *M. ulei* parasitados com *D. pulvinata*. Coletaram-se, também, folhas jovens contendo a fase conidial de *M. ulei*, com vistas à obtenção de culturas do patógeno.

Os isolamentos de *D. pulvinata* foram realizados em meio de batata-dextrose-ágar (BDA), pelo método direto. A incubação se deu à temperatura de 25° C sob fotoperíodo de 12 horas. As identificações foram feitas com base nas características culturais e na morfologia de conídios e de conidióforos. Foram identificados 54 isolados pertencentes à espécie *D. pulvinata* (Quadro 1).

Para o isolamento de *M. ulei*, empregou-se meio específico (10g de sacarose, 20g de ágar, 2g de KH₂PO₄, 50mg de Cloranfenicol, 2mL de Panvit, e água destilada até completar o volume de 1000mL) e incubação no escuro, até o desenvolvimento das colônias, seguindo-se repicagem para meio indutor de esporulação (Mattos, 1998).

Os isolados, após preservação pelas técnicas de liofilização, criopreservação e congelamento a ultrabaixa temperatura (-80°C), foram incorporados à coleção de fungos para controle biológico da Embrapa - Recursos Genéticos e Biotecnologia. Cada isolado será mantido sob estas três condições, com vários acessos, possibilitando testes de viabilidade periódicos. Os isolados de *M. ulei* foram preservados em óleo mineral.

Agradecimentos

Este trabalho foi realizado com o apoio de colegas de diversas Unidades da Embrapa e de outras instituições, quais sejam: CEPLAC, IAC, Michelin, Morais Ferrari e Fazenda Triângulo. Expressamos a eles nossos agradecimentos e, também, ao Fundo Nacional do Meio Ambiente (FNMA), pelo auxílio financeiro concedido.

Quadro 1. Isolados de *Dicyma pulvinata* procedentes de diferentes regiões de cultivo de seringueira.

Código	Clone de Origem	Local de Coleta	Data de coleta	Data de preservação
CG 677	Pé franco	Ouro Preto do Oeste, RO	08/98	13/01/99
CG679	FX 3899	Ouro Preto do Oeste, RO	08/98	13/01/99
CG680	PB 235	Itiquira, MT	11/98	01/02/99
CG681	-	Belém, PA	11/98	29/12/98
CG682	-	Manaus, AM	07/93	14/01/99
CG683	-	São Francisco, PA	11/98	29/12/98
CG732	-	Manaus, AM	03/98	11/02/99
CG733	FX 3899	S. J. do Rio Claro, MT	07/98	14/01/99
CG734	CHINE	Ituberá, BA	06/98	11/02/99
CG761	PB 260	Ituberá, BA	06/98	18/02/99
CG762	IRCA A-41	Ituberá, BA	06/98	11/02/99
CG763	-	Santo Antônio, AC	08/98	13/01/99
CG764	-	Brasiléia, AC	08/98	11/02/99
CG765	FX 985	Una, BA	06/98	11/02/99
CG766	FX 3864	Rio Branco, AC	08/98	13/01/99
CG767	MDX 49	Ituberá, BA	06/98	11/02/99
CG770	FX 3899	Ouro Preto do Oeste, RO	08/98	11/02/99
CG771	IAN 717	Ouro Preto do Oeste, RO	08/98	13/01/99
CG772	FX 56	Ituberá, BA	06/98	11/02/99
CG773	PB 311	Ponte de Lacerda, MT	11/98	12/02/99
CG774	FX 3899	Ponte de Lacerda, MT	11/98	18/02/99
CG775	IAN 717	Ponte de Lacerda, MT	11/98	28/01/99
CG776	-	Belém, PA	11/98	28/01/99
CG777	IAN 713	Nova Maringá, MT	11/98	03/02/99
CG778	IAN 3997	S. J. do Rio Claro, MT	11/98	29/01/99
CG779	IAN 3087	S. J. do Rio Claro, MT	11/98	29/01/99
CG780	FX 3810	Nova Maringá, MT	11/98	04/02/99
CG781	Pé Franco	Nova Maringá, MT	11/98	29/01/99
CG782	Pé Franco	S. J. do Rio Claro, MT	11/98	28/01/99
CG783	FX 3864	S. J. do Rio Claro, MT	11/98	04/02/99
CG784	IAN 713	Nova Maringá, MT	11/98	04/02/99
CG785	Pé franco	Una, BA	06/98	02/02/99
CG786	PR 228	Ituberá, BA	06/98	18/02/99
CG787		São Francisco, PA	11/98	12/02/99
CG788	FX 3899	S. J. do Rio Claro, MT	11/98	12/02/99
CG789	IRCA 19	Itiquira, MT	11/98	02/02/99
CG790	RRIM 728	Itiquira, MT	11/98	02/02/99
CG791	-	Rio Branco, AC	08/98	04/02/99
CG792	Pé franco	S. J. do Rio Claro, MT	11/98	11/02/99
CG793	PB 324	Ituberá, BA	06/98	11/02/99
CG794	GT1	Itiquira, MT	19/11/98	01/02/99
CG795	RO 38	Ituberá, BA	24/06/98	18/02/99
CG796	PB 330	Ituberá, BA	24/06/98	18/02/99
CG797	IAN 717	Ouro Preto do Oeste, RO	26/08/98	12/02/99
CG798	FX 4098	Una, BA	23/06/98	11/02/99
CG799	Pé franco	S. J. do Rio Claro, MT	24/11/98	03/02/99
CG800	RRIM 600	S. J. do Rio Claro, MT	25/11/98	02/02/99
CG801	YAN 873	Nova Maringá, MT	24/11/98	12/02/99
CG802	Pé franco	Itiquira, MT	19/11/98	04/02/99
CG803	IRCA 130	Itiquira, MT	19/11/98	12/02/99
CG804	FX 3864	Ponte de Lacerda, MT	21/11/98	12/02/99
CG805	RRIM 600	Ponte de Lacerda, MT	21/11/98	12/02/99
CG806	FX 3899	Ji-Paraná, RO	26/08/98	11/02/99

Referências Bibliográficas

GASPAROTTO, L.; FERREIRA, F.A.; LIMA, M.I.P.M., PEREIRA, J.C.R.; SANTOS, A.F. Enfermidades da Seringueira no Brasil. Manaus; EMBRAPA - CPAA. 1990. 169pp. (Circular Técnica, 4).

JUNQUEIRA, N.T.V.; GASPAROTTO, L. Controle biológico de fungos estromáticos causadores de doencas em seringueira. IN: Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. Jaguariúna, SP. EMBRAPA/CNPDA, p.307-322. 1991.

MATTOS, C.R.R. Meios de cultura com água de coco verde para esporulação de Microcyclus ulei. Fitopatol. Bras. v.24, p.470. 1999.

MITCHELL, J.K.; SMITH, D.H.; TABER, R.A. Potential for biological control of Cercosporidium personatum leafspot of peanuts by Dicyma pulvinata. Canadian Journal of Botany, v 65, p. 2263-2269. 1987.

PERESSE, M.; PICARD, D.L.E. Hansfordia pulvinata, mycoparasite destructeur du Cladosporium fulvum. Mycopathologia v. 71, pp. 23-30. 1980.

Ministério da Agricultura,



Comunicado Exemplares desta edição podem ser adquiridos na: Técnico, 81 Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Serviço de Atendimento ao Cidadão Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) -Brasília, DF. CEP 70.770-900 - Caixa Postal 02372 PABX: (61) 448-4600 Fax: (61) 340-3624 http://www.cenargen.embrapa.br

1ª edição

1ª impressão (2003): 150 unidades

e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

Comitê de Presidente: José Manuel Cabral de Sousa Dias publicações Secretário-Executivo: Maria José de Oliveira Duarte Membros: Antônio Costa Allem

Expediente

Marcos Rodrigues de Faria Marta Aquiar Sabo Mendes Sueli Correa Marques de Mello Vera Tavares Campos Carneiro

Supervisor editorial: Maria José de Oliveira Duarte Normalização Bibliográfica: Maria Alice Bianchi Editoração eletrônica: Alysson Messias da Silva