

## MICOLOGIA

266

### **Método eficiente de isolamento direto de *Microcyclus ulei* a partir de amostras de folhas de *Hevea brasiliensis* coletadas em campo.**

Efficient method to direct isolation of *Microcyclus ulei* from samples of *Hevea brasiliensis* leaves collected on field.

**Gonçalves, R. C.<sup>1</sup>, Vallim, J. H.<sup>2</sup>, Ker, A.<sup>3</sup>**

<sup>1,2</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Unidade Embrapa Acre, <sup>3</sup>Universidade Federal De Rondônia. E-mail: rivadalve@cpafac.embrapa.br

*Microcyclus ulei* causa a doença mal-das-folhas-da-seringueira. Este fungo é de difícil isolamento e cultivo em cultura pura. O uso do método de isolamento direto de *M. ulei* para BDA (Batata Dextrose Agar) relatado na literatura tem resultado em insucessos no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Acre, para a obtenção de isolados deste fungo a partir de amostras coletadas no campo. Nestas amostras, são obtidas, frequentemente, colônias do fungo *Cladosporium fulvum*, bactérias e leveduras. O método de isolamento direto a partir de suspensão concentrada de esporos da fase assexuada (*Fusicladium heveae*) em papel filtro, semeados em agar com antibiótico, aumenta as chances de obtenção de isolados, mas é altamente dispendioso em relação ao primeiro e, requer sucessivas repicagens em curto intervalo de tempo. Para selecionar um método eficiente de obtenção de cultura pura de *M. ulei*, a partir de amostras coletadas no campo, os meios M4, M6, M8, BDA, Agar + 50 ppm de cloranfenicol, Agar + 100 ppm de cloranfenicol, Agar + 150 ppm de cloranfenicol foram preparados em dez tubos inclinados com tampa de algodão para cada meio, colocando-se 5 mL de meio em cada tubo com auxílio de uma pipeta automática. As soluções do antibiótico cloranfenicol e do complexo amino-vitamínico-mineral foram adicionadas a cada tubo após autoclavagem e resfriamento do meio de cultura até a temperatura de  $40 \pm 2$  °C. Folhas com lesões de *M. ulei* foram coletadas em sacos de papel pardo e trazidas ao laboratório para exame. Após a seleção das folhas com lesões cobertas de conídios do fungo alvo em microscópio estereoscópico no aumento de 50X, fez-se a operação de transferência de conídios das lesões com um estilete de ponta fina flambada e esfriada em meio agarizado, dentro da câmara de fluxo desligada. Em seguida, os tubos foram colocados em câmara de germinação com temperatura controlada a 25 °C, no escuro. A avaliação dos tubos aos 60 dias após a transferência de conídios resultou na obtenção de 01 isolado de *M. ulei* no meio M4 e sete isolados no meio M6. Nos demais meios de cultura, não foram obtidos isolados puros de *M. ulei*. Por outro lado, em todos os demais tubos houve crescimento de fungos contaminantes, sendo identificado *Cladosporium fulvum* na maioria dos tubos. Concluiu-se que o método de isolamento direto para BDA, M4, M8 e Agar com antibiótico teve baixa eficiência na obtenção de isolados de *M. ulei* neste tipo de amostra. O método de isolamento direto utilizando-se o meio M6 inclinado resultou em grande número de isolados puros e é o melhor método para a atividade de isolamento de *M. ulei* a partir de amostras de campo.

Apoio: CNPq.