

em Ciências Biológicas/UFES<sup>1</sup>, Av Marechal Rondon s/n, São Cristóvão/SE; (Embrapa Tabuleiros Costeiros<sup>2</sup>, Caixa Postal 44, 49025-040, Aracaju, SE). [jcosta@cpatc.embrapa.br](mailto:jcosta@cpatc.embrapa.br). Genetic variability on *Phyllachora torrendiella* e *Sphaerodothis acrocomiae* disclosed by ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis).

Os fungos *Phyllachora torrendiella* (Batista) Subileau e *Sphaerodothis acrocomiae* (Montagne) von. Arx & Muller são patógenos do coqueiro (*Cocos nucifera* L.) causando a lixa pequena e lixa grande, respectivamente, ocasionando enfraquecimento dos folíolos e levando a queda prematura dos frutos. Este trabalho teve como objetivo analisar a similaridade genética entre estes patógenos procurando caracterizar sua filogenia por análise de DNA Ribossomal. Para isso foram obtidos 7 isolados de lixas originários das variedades de coqueiro Anão Vermelho da Malásia, Anão Vermelho dos Camarões, Anão Verde Jiqui, Anão Vermelho Gramame, Anão Amarelo Gramame, Gigante da Malásia e Anão Amarelo Malásia. Destes foram extraídos esporos individuais que foram cultivados em meio de cultura contendo glucos (0,5%), tiamina (0,1CEg/ml), riboflavina (0,05CEg/ml), piridoxina (0,5CEg/ml), pantotenato de cálcio (0,2CEg/ml), inositol (0,4CEg/ml), ácido nicotínico (0,2CEg/ml), elementos essenciais e soluções de sais (Holliday, 1979), com pH ajustado em 3. Estes permaneceram sob gitação contínua por quinze dias a 130 rpm à 25 ± 2°C. Os micélio formados foram secos com o auxílio de uma bomba a vácuo, sendo posteriormente armazenados em freezer a -20°C. A extração do DNA genômico foi realizada a partir do método de Roeder & Broda (1985). Utilizou-se a técnica ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restrictict on Analysis) para análise da região 18S, amplificada com os 2 prime s, NS1 e NS4. Os produtos amplificados foram digeridos utilizando-se *Hinf* I, *Msp* I e *Hae* III como enzima de restrição. A análise do dados foi realizada a partir do gel de Agarose a 1,4% + 10ng/CEg de Brometo de Etídio a 110 V, fotodocumentada em sistema Polaroyd. A enzima *Hinf* I revelou baixa similaridade genética entre os fungos indicando serem organismos geneticamente distintos.

\*Bolsista PQ do CNPq.

Apoio CNPq e FINEP

090

ROLE OF THE *Pth1* GENE IN APPRESSORIUM MATURATION IN *Magnaporthe grisea*. M. CRISTINA de FILIPPI<sup>1</sup>, JANNA BECKERMAN, CARLOS CORTES, JIM SWEIGARD, BARBARA VALENT and DANIEL EBBOLE<sup>2</sup>. (Embrapa Arroz e Feijão, Caixa Postal 179, 75375, Goiânia,GO)<sup>1</sup>. [cristina@cnpaf.embrapa.br](mailto:cristina@cnpaf.embrapa.br) (Plant Pathology & Microbiology, Texas A&M University, College Station, TX)<sup>2</sup>

*M. grisea pth1* mutants form defective appressoria, which are unable to generate sufficient cellular turgor to penetrate the host leaf surface. The deduced protein sequence from these gene display extensive internal homology within the leucine-rich repeat and are most closely related to *Grr1p* in *S. cerevisiae*. The phenotype of the *pth1* mutant was characterized and compared with its orthologue from *N. crassa*. *pth1* mutants were able to infect plant only after wound inoculation. The appressorial resistance to osmotic pressure from *pth1* mutant was statistic different from wild type strains. The amount of glycogen and lipid were quantified in the conidia, during germination and during appressorium formation with glycogen and lipid specific dyes. The *N. crassa* orthologue gene *nfb1* complemented the *M. grisea pth1* mutation. The complemented strain recovered the ability to form normal appressoria, and penetrate the leaf surface for further colonization of the tissue. This suggests that the biochemical function of *pth1* has not evolved specifically to play a role in appressoria development. This result points out the principle that pathogenic fungi may adapt functions used for non-pathogenic processes for roles in pathogenesis.

091

SOBREVIVÊNCIA DE LASIODIPLODIA THEOBROMAE EM RESTOS CULTURAIS DE COQUEIRO. MÔNICA SOUZA DA COSTA<sup>1</sup> E JEFFERSON LUIS DA SILVA COSTA<sup>2\*</sup> - (Estudante de Graduação em Ciências Biológicas/UFES<sup>1</sup>, Av Marechal Rondon s/n, São Cristóvão/SE; Embrapa Tabuleiros Costeiros<sup>2</sup>, Caixa Postal 44, 49025-040,

Aracaju, SE). [jcosta@cpatc.embrapa.br](mailto:jcosta@cpatc.embrapa.br). Survival of *Lasiodiplodia theobromae* on Crop Residues of Coconut.

O fungo *Lasiodiplodia theobromae* Pat. (Griffon & Maubl), agente etiológico da queima das folhas, é um dos responsáveis pela redução da produtividade de coqueiros no Brasil. O manejo ou eliminação da palhada é incipiente e considerada onerosa. Sua utilidade profilática como redutor de fonte de inóculo de doenças tem sido questionada pelos produtores. Desta forma, objetivou-se neste trabalho estudar o período de sobrevivência de *L. theobromae* em restos culturais de coqueiro. Utilizaram-se folíolos senescentes que apresentavam os sintomas da doença em sua fase terminal. No interior da tampa da caixa tipo gerbox foi fixado um papel toalha umedecido, de modo a formar uma câmara úmida, e sobre este, segmentos de folíolos de aproximadamente 6cm de comprimento, originários do campo e com sintomas severos da doença. Na superfície interna da base da caixa foram fixadas três fitas plásticas tipo Melinex, para coleta dos esporos liberados por esses folíolos. As fitas foram untadas com solução adesiva a base de Gelvatol 10% e sobre esta foi aplicada uma camada de vaselina mais parafina dissolvidas em tolueno. Foram montadas um total de 12 caixas, que ficaram expostas a uma temperatura de 28°C ± 2°C e umidade interna da caixa superior a 85%. Quatro dessas caixas foram submetidas a um regime contínuo de luz (24 horas); quatro, sob escuro contínuo e quatro, expostas a um regime de fotoperíodo 12x12 horas. A cada três dias as fitas eram retiradas das caixas gerbox e remontadas em lâminas para quantificação de esporos em microscópio óptico. O experimento foi repetido por duas vezes. Constatou-se que o patógeno presente nos restos culturais, constituídos por folíolos senescentes de coqueiro, liberou esporos por até quinze dias após a sua incubação. Estes resultados preliminares indicam que a palhada do coqueiro pode servir de fonte de inóculo para a queima das folhas.

\*Bolsista PQ do CNPq.

092

BIOACTIVE INHIBITION OF APPRESSORIUM FORMATION IN *Magnaporthe grisea*. M. CRISTINA de FILIPPI<sup>1</sup>, DANIEL EBBOLE<sup>2</sup>, CARLOS GONZALEZ<sup>2</sup>. Embrapa Arroz e Feijão, Caixa Postal 179, 75375, Goiânia,GO)<sup>1</sup>. [cristina@cnpaf.embrapa.br](mailto:cristina@cnpaf.embrapa.br)

*Magnaporthe grisea*, rice blast agent causes losses all around the world. Molecular biology offers powerful tools to develop anti-blast agents with new and specific modes of action with environmental safety in mind. Many plant pathogenic fungi differentiate a highly specialized infection structure, the appressorium. The signalling pathway controlling the pheromone response in *S. cerevisiae*, and the environmental and chemical response on *M. grisea* leading to appressorium formation share the same pathways based on cAMP and MAP Kinase. The main objective of this work was to identify a bioactive hexapeptide capable of blocking appressorium formation on artificial inductive surface. The specific objectives were to identify chemicals able to overcome the inhibitory effect of the hexapeptide; test the effect of the hexapeptide on mutants for appressoria formation with known genetic lesions; study the effect of the hexapeptide on the signalling pathway for appressorium formation. The hexapeptide D-CYRFTW is able to block appressorium formation in artificial hydrophobic surface, and projected the same blocking effect when tested against field isolates. The effect of D-CYRFTW can be blocked by the chemicals cAMP and 1, 16-hexadecanediol. Among the mutants for appressorium formation, DA-99 was shown to be resistant to the blocking effect of D-CYRFTW. *MagB*<sup>942</sup> proved to be susceptible to the blocking effect of D-CYRFTW. The results of these studies indicate that the peptide acts above adenylate cyclase and/or at the level of the G-alpha subunit, preventing activation of cAMP signaling in response to surface cues. Preliminary studies of total PKA activity revealed changes in PKA activity during the time course of appressorium development.

093

IDENTIFICATION AND FUNCTIONAL ANALYSIS OF SECRETED PROTEINS FROM *Magnaporthe grisea*. GUODONG LU<sup>1</sup>, CRISTINA FILIPPI<sup>2</sup>, DAN LI<sup>1</sup> and DANIEL EBBOLE<sup>1</sup> <sup>2</sup>(Department of Plant