

0918

Avaliação de métodos rápidos para extração de DNA de fungos fitopatogênicos. Silva, L. P.¹; Nogueira, L. R.²; Degenhardt, J.³; Ueno, B.³; Moura, A. B.¹. ¹UFPEL, Depto. de Fitossanidade, C.P. 354, 96010-900, Pelotas, RS; ²UERGS, Fac. Eng. Biotecnologia, C.P. 97573-011 Santana do Livramento, RS. ³Embrapa Clima Temperado, C.P. 403, 96001-970, Pelotas, RS. E-mail: lufiaps@yahoo.com.br. Evaluation of rapid methods for DNA extraction from phytopathogenic fungi.

Na extração de DNA de fungos, normalmente, usa-se nitrogênio líquido e várias etapas de purificação, tornando o processo lento. Assim, protocolos mais rápidos são importantes para agilizar o processo em avaliações com PCR, que não exigem DNA de alta pureza. O objetivo desse trabalho foi avaliar três protocolos de extração rápida de DNA genômico, [(A) Saitoh et al., J. Gen. Plant Pathol. 72:348-350, 2006; (B) Cenis, Nucleic Acids Res. 20:2380, 1992; e (C) Liu, et al., J. Clin. Microbiol. 38:471, 2000], para cinco fungos (*Amphobotrys ricini*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum* sp., *Rhizoctonia solani* e *Cytospora* sp.), hospedeiros, respectivamente, de mamona, poinsétia, morango, maçã e pêssego. Micélios crescidos em meio BDA foram raspados e colocados em microtubos de 1,5 mL. O produto da extração foi quantificado em gel de agarose e fluorômetro. O melhor método de extração foi o B, obtendo-se a maior quantidade de DNA para todos os isolados. Nos demais, não foi possível detectar DNA para alguns fungos. Porém, quando fez-se a amplificação com primers universais ITS1 e ITS4, não houve diferença entre os métodos, apesar da pouca quantidade isolada, esta foi suficiente para detectar ampliações com PCR. O método A, no entanto, mostrou-se mais vantajoso por ser mais rápido.

0919

Rendimento e reação de cultivares de feijoeiro comum em área com ocorrência de fitonematóides e murcha de Fusarium. Machado, V.O.F.*; Lobo Júnior, M.¹. ¹Embrapa Arroz e feijão. * bolsista CNPq. E-mail valeria@cnpaf.embrapa.br. Yield and reaction of common bean cultivars to phytonematodes and Fusarium wilt in a field trial.

As nematoses e a murcha de Fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*) são causadoras de perdas elevadas de produtividade no feijoeiro comum, que podem ser potencializadas pela ação conjunta dos patógenos. Objetivou-se avaliar a resistência de 17 cultivares de feijoeiro comum em Montes Claros de Goiás, onde detectou-se previamente a presença de *Meloidogyne* spp. Em DBC com 4 repetições foram avaliadas a produtividade das cultivares e a incidência da murcha de Fusarium. Através do número de galhas estabeleceu-se notas de 0 a 5 (Taylor & Sasser, 1978), sendo consideradas resistentes as cvs. com notas até 2, e suscetíveis as com notas acima de 3. As cvs. Jalo Precoce, Pérola, BRS Pitanga, BRS Marfim, BRS 7762 Supremo, BRS Campeiro, BRS Horizonte, BRS Vereda, BRS Timbó, BRS 9435 Cometa e BRSMG Pioneiro foram suscetíveis e Aporé, BRS Requite, BRS Radiante, BRS Grafite, BRS Pontal e BRS Valente foram resistentes a *Meloidogyne* spp. As cvs. BRS 9435 Cometa, BRS Horizonte, BRS 7762 Supremo e BRS Vereda apresentaram acima de 80% de murcha de Fusarium. Maiores produtividades foram obtidas na BRS Marfim (1756 kg/ha), BRS Radiante (1553 kg/ha) e BRS Grafite (1512 kg/ha). As cultivares suscetíveis aos dois patógenos foram BRS 7762 Supremo (499 kg/ha), BRS 9435 Cometa (543 kg/ha), BRS Vereda (738 kg/ha) e BRS Horizonte (993 kg/ha), onde foram obtidas as menores produtividades.

0920

Fitonematóides associados à cultura do feijoeiro comum cultivado em áreas de Cerrado. Machado, V.O.F.*; Lobo Júnior, M.¹. ¹Embrapa Arroz e feijão. * bolsista CNPq. E-mail valeria@cnpaf.embrapa.br. Phytonematodes associated to common bean crops in the Brazilian Cerrados.

No período de setembro de 2005 a abril de 2007 foram analisadas amostras de solo e raiz provenientes de diferentes lavouras de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) na região de Cerrado, obtidas em 12 municípios no Estado de Goiás e 3 municípios no Estado de Minas Gerais. Um total de 59 amostras foram processadas pelas técnicas de Jenkins (1964) e Coolem & D'Herde (1972) e identificadas em nível de gênero através de observação ao microscópio ótico em lâmina de Peters. Quantificou-se os gêneros *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus*

spp., *Helicotylenchus* spp., *Aphelenchus* spp. além de saprófitas. Dentre os principais fitonematóides registrados para o feijoeiro comum, *Pratylenchus* spp. ocorreu em 100% das amostras analisadas, com populações variando de 2 a 5000 indivíduos/10g de raiz, sendo *P. brachyurus* a espécie prevalente. Outros gêneros frequentes foram *Aphelenchus* spp. *Helicotylenchus* spp. e *Meloidogyne* spp., respectivamente em 96%, 84% e 78% das amostras. Nematóides saprófitas ocorreram em 57%. Nas amostras de solo, os gêneros *Pratylenchus* spp. e *Helicotylenchus* spp. ocorreram em 71%, *Meloidogyne* spp. em 46%, *Aphelenchus* spp. em 59% e saprófitas em 86% das amostras. Os resultados sugerem que o gênero *Pratylenchus* spp. pode ter importância maior do que a esperada, e tanto a ocorrência de danos quanto a reação de cultivares a este gênero merecem ser investigadas.

0921

Potencial biocontrolador de bactérias na inibição *in vitro* de *Colletotrichum acutatum* da pimenta vermelha. Silva, A. S.¹; Silva, L. P.²; Ueno, B.³. ¹UFPEL, FAEM, C.P. 354, 96010-900, Pelotas, RS; ²UFPEL, Depto. de Fitossanidade, C.P. 354, 96010-900, Pelotas, RS; ³Embrapa Clima Temperado, C.P. 403, 96001-970, Pelotas, RS. E-mail: alinescheer@bol.com.br. Biocontrol potential of bacteria isolates to inhibit *in vitro* *Colletotrichum acutatum* from red pepper.

Nesse trabalho objetivou-se avaliar a antibiose *in vitro* de bactérias sobre dois isolados (20 e 58) de *Colletotrichum acutatum* obtidos de pimenta vermelha do RS. As bactérias testadas eram contaminantes de placas com meio de cultura cultivado com isolados de *Colletotrichum* spp., que inibiam o crescimento do fungo. No ensaio de antibiose *in vitro* usaram-se discos de 4 mm contendo bactérias com 72 h de incubação, que foram colocadas nas quatro extremidades, a 3 cm do centro da placa de Petri com meio BDA. Testaram-se 74 isolados de bactérias com três repetições cada. Após 48 h, as placas foram expostas à luz ultravioleta por 15 min.; em seguida repicou-se para o centro das mesmas placas discos de micélio dos fungos, sendo estes incubados cinco dias em BOD, com fotoperíodo de 12 h e 25°C. A avaliação foi feita medindo-se o diâmetro do fungo, onde zonas de inibição foram consideradas indicadoras de antibiose. Mais de 90% das bactérias testadas mostraram inibição superior a 30% no crescimento micelial, sendo que para o isolado 20, 18 bactérias foram capazes de inibir mais de 50%. Os resultados mostraram o potencial biocontrolador desses isolados bacterianos. Bioensaios estão sendo planejados para testar a perspectiva do uso dessas bactérias a campo.

0922

Antibiose de isolados bacterianos sobre *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* e *X. axonopodis* pv. *citri*. Silva, A. S.¹; Silva, L. P.²; Ueno, B.³. ¹UFPEL, FAEM, C.P. 354, 96010-900, Pelotas, RS; ²UFPEL, Depto. de Fitossanidade, C.P. 354, 96010-900, Pelotas, RS; ³Embrapa Clima Temperado, C.P. 403, 96001-970, Pelotas, RS. E-mail: alinescheer@bol.com.br. Antibiosis of bacterial isolates against *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* and *X. axonopodis* pv. *citri*.

Doenças causadas por *X. arboricola* pv. *pruni* (Xap) no pessegueiro e *X. axonopodis* pv. *citri* (Xac) em citros são agravadas em climas tropicais. O controle químico ou a erradicação são onerosos e danosos ao meio ambiente, sendo o controle biológico uma alternativa. Objetivou-se avaliar o efeito de antibiose de diferentes bactérias sobre Xap e Xac. Foram testados 65 isolados bacterianos contaminantes de placas contendo colônias de *Colletotrichum* spp. O teste de antibiose utilizou a metodologia da camada sobre-camada. Placas de Petri contendo meio 523 foram semeadas com isolados antagonistas bacterianos em pontos equidistantes (avaliou-se 5 isolados/placa) e incubados por 48 h a temperatura de 28°C. As culturas de Xac e Xap (patógenos desafiantes) foram multiplicadas em meio líquido por 48 h sob agitação. Após este período depositou-se 1 mL de clorofórmio sobre papel filtro colocado na parte interna da tampa das placas invertidas por 30 min. A seguir, as placas ficaram semi-abertas por mais 30 min. Depois colocou-se em cada placa uma sobre-camada de meio semi-sólido 523 (0,5% ágar), na temperatura fundente de ±45°C, com 10⁷ UFC da bactéria desafiante. Após 48 h avaliaram-se as placas para detecção de halos de inibição do crescimento do patógeno. Todas as bactérias antagonistas testadas formaram halo de inibição em maior ou menor grau, mostrando o potencial delas para uso no biocontrole de Xap e Xac.