

dro de papa. Se inocularam con una suspensión bacteriana plantas de zapallo criollo con 7 y 18 días post-siembra. Se reprodujeron los síntomas a los 4 y 7 días respectivamente, reasiliéndose la bacteria. Los resultados obtenidos concuerdan con los descritos por Lelliot, R. y Stead, D. por lo que se identificó como causante de esta enfermedad a *Xanthomonas campestris* pv. *cucurbitae*. Este es el primer reporte de *X. campestris* pv. *cucurbitae* como agente patogénico en el Uruguay.

## 489

EFEITO DE FONTES DE NITROGÊNIO EM COMPONENTES DA RESISTÊNCIA À FERRUGEM DO CAFEIEIRO (*Hemileia vastatrix*). J.C.R. PEREIRA<sup>1</sup>, R. SILVA-ACUNHA<sup>2</sup>, A.A. PEREIRA<sup>2</sup> & F.B. GUIMARÃES<sup>2</sup>. (1CPAA/EMBRAPA/Depto. de Fitopatologia, UFV, 36571-000, Viçosa, MG, 2Depto de Fitopatologia, UFV, 36571-000, Viçosa, MG). The effect of nitrogen sources on resistance components to coffee rust (*Hemileia vastatrix*).

A ferrugem do cafeieiro (*Hemileia vastatrix* Berk et Br) constitui-se na mais importante doença dessa cultura no Brasil. O objetivo desse trabalho foi de avaliar o efeito de fontes de nitrogênio em componentes da resistência a *H. vastatrix*. As fontes foram constituídas por duas formulações N-NH<sub>4</sub> (sulfato de amônia e uréia) e duas formulações N-NO<sub>3</sub> (nitrato de sódio e nitrocálcio). As fontes foram fornecidas na concentração de 2 g.l<sup>-1</sup> a intervalos regulares de 28-30 dias, aplicando-se 100 ml.vg so<sup>-1</sup>, durante 120 dias. Dez dias após a última aplicação as plantas foram inoculadas com a raça II de *H. vastatrix*. Avaliaram-se os componentes área foliar lesionada pela ferrugem (AFLF), esporulação.cm<sup>2</sup> (ESPOR) e período latente médio (PLM). Os dados obtidos foram comparados por meio de contrastes ortogonais e testados pelo teste F. Os resultados obtidos evidenciaram efeito de fontes N-NH<sub>4</sub>, N-NO<sub>3</sub> em relação a teste munha, que apresentou maior AFLF, ESPOR é menor PLM. Entre as fontes, N-NH<sub>4</sub> diferiu de N-NO<sub>3</sub>, sendo que as fontes amoniacais proporcionaram maior PLM e menor ESPOR, com tudo não ocorreu diferença para o componente AFLF. A fonte sulfato de amônia ampliou menos 22 dias e reduziu o ESPOR em pelo menos 99% (4,28x10<sup>6</sup> para 6,73x10<sup>2</sup> esporos.cm<sup>2</sup> de área foliar). Em geral as fontes N-NH<sub>4</sub> e/ou N-NO<sub>3</sub> reduziram significativamente a componente AFLF, em relação a testemunha. Os resultados obtidos nesse trabalho apontam para a possibilidade de utilizar-se de adubação nitrogenada parcelada, principalmente sulfato de amônia, no sentido de induzir resistência parcial à *H. vastatrix*. Esta estratégia é atraente em termos de redução de custo e proteção ambiental.

## 490

HOSPEDABILIDADE DO FEIJOÃO COMUM (*PHASEOLUS VULGARIS*) AO NEMATÓIDE DE CISTO DA SOJA (*HETERODERA GLYCVINES*). BECKER, W.F.<sup>1</sup>; DIAS, W.P.<sup>2</sup>; FERRAZ, S.<sup>2</sup>. (1EPAGRI, Est. Exp. Caçador, C.P.591, 89500-000 Caçador, SC; 2UFV, Depto. Fitopatologia 36571-000 Viçosa, MG) Host suitability of snap bean to the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*).

O feijão comum, em algumas regiões do Brasil, é cultivado em sistema de rotação ou sucessão com a soja. Esta condição impõe o conhecimento comportamental dos cultivares de feijão, em relação ao Nematóide de Cisto da Soja (NCS), em razão de sua constatação, no país, em 1992. Vinte cultivares e/ou linhagens de feijão comum (*P. vulgaris*) foram avaliados quanto a reação ao NCS, raça 3, em condições de casa de vegetação. Após seleção em sementeira, uma plântula com 20mm de radícula foi transplantada para vasos plásticos de 1000 cm<sup>3</sup> contendo terraço esterilizado. Dois dias após, inoculou-se cada plântula com 4 ml de uma suspensão contendo 500 ovos/ml, distribuídos em dois orifícios junto ao colo de planta. Para cada tratamento fez-se dez repetições. A avaliação, realizada 29 dias após a inoculação, conforme escala proposta por ANAND *et al* (Crop Sci, 28:563-64, 1988), mostrou que os cvs. Ouro Negro, Rico 23 e a linhagem 2177 comportaram-se como medianamente suscetíveis e a linhagem 2300 como medianamente resistente. Os demais materiais apresentaram reação de suscetibilidade, sendo que em 'Ouro 1919', 'Vermeilho 2157' e na linhagem 2206, a população de fêmeas de *H. glycines* foi superior à produzida em soja 'FT-Cristalina' usada como padrão suscetível. Outros cvs disponíveis no banco de germoplasma da UFV estão sendo avaliados.

## 491

EFEITO DO ETANOL NA INTERAÇÃO SORGO - *Colletotrichum graminicola*. J.C.R. PEREIRA<sup>1</sup>, F.B. GUIMARÃES<sup>2</sup>, D.F.A. ARARIBE<sup>2</sup>, U.G. BATISTA<sup>2</sup> & A.A. XAVIER<sup>2</sup>. (1CPAA-EMBRAPA/Depto de Fitopatologia, UFV, 36570-000, Viçosa, MG; 2Depto de Fitopatologia, UFV, 36571-000, Viçosa, MG). Effect of ethanol on the interaction sorghum - *C. graminicola*

Genótipos de sorgo apresentam resistência juvenil a *C. graminicola* e essa resistência é, aparentemente, conferida pela presença de altas concentrações de cera sobre a cutícula o que impede a quantidade e a duração do molhamento foliar necessário à infecção. Nesse trabalho conduziram-se dois ensaios visando avaliar a capacidade saponificante do etanol em plantas de sorgo, cultivar Br 009. No primeiro avaliaram-se o efeito do etanol a 2,5% na suspensão de inóculo e no segundo a 2,5% na suspensão de inóculo a 4% em pulverização prévia a inoculação (2,0 hs antes). Inocularam-se plantas com 8, 16, 24, 32 e 40 dias (1º ensaio) e 12, 20, 28, 36 e 42 dias (2º ensaio) de idade. As avaliações basearam-se na severidade (escala com valor variando de 1 a 5) e foram efetuados oito dias após as inoculações. Os resultados obtidos mostraram que o etanol, independente da forma de aplicação (na suspensão de inóculo ou pulverização prévia) permitiu que *C. graminicola* infectasse as

plantas independentes da idade da planta. Ao passo que as plantas da testemunha só se comportaram como suscetíveis a partir dos 32 dias. Plantas com 8 ou 12 dias, apresentaram o maior número de lesões no colmo e na bainha. Baseado nesses resultados infere-se que a utilização do etanol pode constituir-se em alternativa para reduzir tempo e espaço em casa de vegetação, nos trabalhos de avaliação de genótipos de sorgo com relação a resistência a *C. graminicola*.

## 492

TRANSGENIC TOBACCOS CONTAINING THE VPg-PROTEINASE CODING REGION ARE RESISTANT TO A GFLV INFECTION. ROGÉRIO MARGIS<sup>1,2</sup> and LOTHAIRE PINCK<sup>1</sup>. (1BMP, 12 rue du Gén. Zimmer, 67084 Strasbourg, France. 2LBMV, Dept. Bioq. Inst. Química, UFRJ, Ilha do Fundão, 21949-900, Rio de Janeiro, RJ). Obtenção de resistência à infecção pelo GFLV em tabacos transgênicos portadores dos cistrons da VPg e da proteinase viral.

Grapevine fanleaf nepovirus (is bipartite plus stranded RNA virus. Its genome is expressed as polyproteins that are cleaved by a 24-KDa viral encoded proteinase. *Nicotiana benthamiana*, a tolerant host for GFLV, was transformed with the sequence corresponding to the VPg-proteinase (VPgPRO) coding region of GFLV RNA1. Genomic integration and effective transcription of VPgPRO were screened by PCR and RT-PCR of genomic and total RNA, by using specific VPg and PRO primers and restriction analysis of amplified products. The VPg-proteinase expression on transgenic homozygotic plants was verified by bidimensional electrophoresis. Virus infection detected by northern-immunoblotting showed that all control plants were infected 12 days after inoculation, 47% of transgenic F1 plants were infected 12 days after inoculation, 90% at the 18th day and 100% at the 36th day after inoculation. The homozygous F2 generation obtained from a F1 clone, presenting a very low viral level at the 36th day after inoculation, demonstrated a complete resistance against GFLV infection even after 36 days of inoculation.

## 493

CLONAGEM E EXPRESSÃO DE FITOCISTATINAS DE ARROZ E MILHO EM SISTEMA HETERÓLOGO DE E.COLI. EMERSON M. REIS e ROGÉRIO MARGIS. (LBMV, Dept. Bioq., Inst. Química, UFRJ, Ilha do Fundão, 21949-900, Rio de Janeiro, RJ). Cloning and expression of rice and maize phytoalexins on a *E. coli* heterologous system.

Os cDNAs correspondentes a fitocistatinas do arroz (OCII) e do milho (ZC7) foram modificadas por mutagenese via PCR. Os produtos obtidos por PCR diferem dos cDNAs iniciais pela deleção da sequência nucleotídica correspondente aos amino ácidos N-terminais até a sequência consenso "LARFAV". O produto de PCR foi clonado no sítio BamHI do vetor de expressão pQE13. Diversos clones de *E. coli* XL1 com construções pQ13OCII e pQ13ZC7 foram testados quanto a expressão das fitocistatinas induzida por adição de IPTG. A análise das proteínas totais de bactérias induzidas, demonstrou a síntese de uma proteína majoritária na região de 10-KDa em géis de PAGE-SDS. A fração solúvel do extrato bruto das bactérias induzidas demonstrou a presença de uma atividade inibidora à papaina. Os inibidores foram purificados a homogeneidade através de eletroforese preparativa e cromatografias de troca iônica, gel filtração e fase reversa. Os inibidores purificados serão utilizados para testes *in vitro* em um sistema de lisado de reticulócito, a fim de testar seu potencial de inibição de proteíneas cisteínicas de origem viral, como as presentes em carla-, clostero-, como-nepo-, e potyvirus.

## 494

AVALIAÇÃO DE SETE ISOLADOS DE *Diaporthe phaseolorum* f.sp. *meridionalis* INOCULADOS EM DIFERENTES GENÓTIPOS DE SOJA\*. D.G. PEREIRA<sup>1</sup>, T. SEDIYAMA<sup>1</sup>, C.D. CRUZ<sup>2</sup>, J.L.L. GOMES<sup>1</sup> & R. DE C. TEIXEIRA (1Dept. de Fitotecnia; 2Dept. de Biologia Geral, 36571-000, Univ. Federal de Viçosa, Viçosa, M.G.). Evaluation of seven isolates of *Diaporthe phaseolorum* f.sp. *meridionalis* inoculated in different soybean genotypes.

Avaliou-se o comportamento de genótipos de soja quanto a resistência ao *Diaporthe phaseolorum* f.sp. *meridionalis*. Testaram-se sete isolados: CH08, proveniente do CNPSo/EMBRAPA (PR) e CHM 101, CHM 105, CHM 106, CHM 107, CHM 108 e CHM 109, provenientes de Minas Gerais, com 16 genótipos (FT-Cristalina, Doko-RC, UFV-10, UFV-15, FT-Estrela, IAC-8, Garimpo, Santa Rosa, FT-Seriema, UFV-1, UFV-5, Numbaira, IAC-12, FT-Cometa, FT-11 e BR-15). A técnica de inoculação utilizada foi a adaptada por YORINORI (1991) do método do palito-de-dente colonizado com micélio do fungo, descrito por CRALL (1952) e KEELING (1982). O ensaio foi conduzido em casa-de-vegetação, com nebulizadores, inoculando-se as plantas no estádio V<sub>1</sub> (15-17 dias após a semeadura). Foram avaliados o vigor da planta e a extensão da lesão, por meio de notas visuais, 10, 20, 30 e 40 dias após a inoculação. A interação genótipo x isolado mostrou-se significativa a 1% de probabilidade pelo teste F, exceto na primeira avaliação para a variável nota visual de plantas.

\* Parte do projeto financiado, pela CAPES, CNPq e FAPEMIG.