

528

AVALIAÇÃO ISOENZIMÁTICA DE COLLETOTRICHUM GUARANICOLA. S.M. DE VÉRAS¹, L. GASPAROTTO¹ & M. MENEZES². (¹Embrapa/CPAA, C.P. 319, 69011-970, Manaus, AM; ²Departamento de Agronomia -Fitossanidade/UFRPE, 52171-900, Recife, PE). Isoenzymatic avaliation of Colletotrichum guaranicola.

O fungo *Colletotrichum guaranicola* destaca-se como o agente etiológico da principal doença do guaranazeiro, a antracnose. Objetivando fazer a avaliação isoenzimática, através de análises eletroforéticas de proteínas totais, esterase e fosfatase ácida, nove isolados de *C. guaranicola* foram cultivados em meio líquido BD, durante sete dias sob regime de luz contínua à 25°C. A análise eletroforética permitiu observar uma variabilidade isoenzimática dos nove isolados nos três sistemas analisados. Entretanto, os isolados ISO-1 e ISO-2, bem como ISO-8 e ISO-9 mostraram estreita semelhança entre si com relação às características fenotípicas tanto para proteínas totais, como nas atividades das enzimas esterase e fosfatase ácida. Os demais isolados comportaram-se diferentemente, mas sempre guardando certa relação entre eles, indicada pela presença de bandas isoenzimáticas comuns. É provável tratar-se de variantes dentro da população de *C. guaranicola*.

529

OTIMIZAÇÃO DE MÉTODOS PARA EXTRAÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES DE MICÉLIO FÚNGICO. M.A.G. BARBOSA¹, K.G. REHN² & M.MENEZES¹ (¹UFRPE-DEPA/FITOSSANIDADE 52171-900, Recife - PE; ²UFPE, Depto. de Bioquímica, CCB, 51210-970, Recife, PE). Optimization of methods to extract extracellular enzymes from fungal mycelia.

A produção de enzimas extracelulares é considerada um mecanismo essencial da virulência de fungos fitopatogênicos e antagonistas biocontroladores. No entanto, nem sempre é possível detectar tais enzimas no meio de cultivo *in vitro*, porque o crescimento do fungo no seu hospedeiro *in vivo* pode ser impedido com inibidores enzimáticos ou imunoglobulinas anti-enzimáticas. Este paradoxo pode ser explicado por adsorção das enzimas extracelulares ao micélio. Foram estudados os isolados CH1, CH2, CH3 e CH5 de *Cladosporium herbarum*, que causa verrugose em maracujazeiro e os isolados T11 (*Trichoderma polysporum*), T15 (*T. koningii*), T25 (*T. harzianum*) e TR2 (*T. viride*). A lipase foi dosada por fotometria e medição de halos turvos no meio de cultivo com Tween 20. A esterase foi visualizada com substrato cromogênico após a eletroforese das isoformas em gel de poliacrilamida. Todas as referidas atividades enzimáticas foram encontradas em concentrações maiores no extrato após lavagem do micélio com EDTA (2 mM, pH 7,4) ou vários outros detergentes (8 mg/ml): Triton X-100, Brij 35, Tween 20 e desoxicolato de sódio do que as observadas no meio de cultivo. A atividade adsorvida variou entre 50 % (esterases em *C. herbarum*) a 80 % (lipase no isolado T₂₅). A viabilidade das células não foi afetada pela lavagem; portanto não é provável a extração de enzimas intracelulares. Os padrões das esterases extracelulares nos extratos com EDTA foram diferentes entre os isolados e variaram com o tempo de cultivo, permitindo assim uma caracterização adicional dos isolados. As isoformas mais profusas no meio nem sempre foram as mais abundantes nos extratos.

530

PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF SEVERAL LOCULOSACOMYCETES INFERRED FROM 18S rDNA SEQUENCES. D.M.W. SILVA-HANLIN^{1,2} & R. T. HANLIN². (¹UFRPE-DEPA/Fitossanidade, 52171-900, Recife-PE, silvhan@truenet.com.br; ²University of Georgia, Plant Pathology, 30602-7274, Athens, GA - USA). Relações filogenéticas de vários loculoascomicetos inferidas de sequências do 18S rDNA.

Phylogenetic analyses of partial sequences (1002 basepairs) from the nuclear encoded small subunit ribosomal DNA (18S rDNA) was performed to determine the phylogenetic relationships of the loculoascomycetes, *Botryosphaeria*, *Guignardia*, *Leptosphaerulina*, *Didymella*, *Venturia*, and *Sporormiella*. The DNA was extracted following the CTAB protocol. PCR amplification of the 5' two-thirds of the 18S rRNA gene was carried out using the primers NS1 and NS6. The primers NS1, NS2, NS3, and NS4 were used to selectively sequence both DNA strands. The sequences were aligned using the "Pileup" program, available from the GCG package. Phylogenetic trees and distance matrices were obtained using the programs PAUP 3.1.1 and MEGA 1.02, respectively. The subclass Loculoascomycetidae is paraphyletic as it is taxonomically circumscribed. *Botryosphaeria* and *Guignardia* are the closest relatives, however their ordinal placement could not be resolved. *Leptosphaerulina* clustered within the Pleosporales, rather than within the Dothideales with high confidence from bootstrap values. The placement of *Didymella* and *Venturia* corresponds to the families Pleosporaceae and Venturiaceae, respectively, with high statistical support. *Sporormia* and *Sporormiella* are genera in the same family of the order Pleosporales. The use of pseudoparaphyses to delimit the orders Pleosporales and Dothideales is questioned since this structure does not seem to reflect phylogenetic groups.

*Parte da dissertação de doutorado apresentada à University of Georgia.

531

VERRUGOSE DO JUAZEIRO: UMA NOVA DOENÇA CAUSADA POR PHYLLACHORA SP. EM PERNAMBUCO. D.M.W. SILVA-HANLIN¹, M. MENEZES¹ & R. T. HANLIN². (¹UFRPE-DEPA/FITOSSANIDADE, 52171-900, RECIFE-PE, silvhan@truenet.com.br; ²UNIVERSITY OF GEORGIA-PLANT PATHOLOGY, 30602-7274, ATHENS,GA-USA). Juazeiro tar spot: a new disease caused by Phyllachora sp. in Pernambuco.

Folhas de juazeiro (*Zizyphus joazeiro* Mart.) apresentando sintomas típicos de verrugose, foram coletadas no Campus da UFRPE, em Recife-PE. Os peritécios se apresentam imersos em um clipeo escuro, mais ou menos circular, isolado ou agregado, anfígeno, podendo atingir até 3 mm de diâmetro, e geralmente circundado por um halo amarelo. Os ascos, 112,2-(134,2)-158,4 µm x 16,5-(20,5)-26,4 µm são parafisados, unitunicados, elipsóides e de pedicelo curto, com reação amilóide do poro apical negativa (J-). Os ascosporos medem 42,9-(77,6)-99,0 µm x 3,3-(3,7)-6,6 µm, são em número de oito por ascó, hialinos, unicelulares, filiformes e levemente curvos, afilando-se em uma das extremidades, sem envoltório mucilaginoso. As características morfológicas apresentadas pelo patógeno se enquadram nas do gênero *Phyllachora*, exceto pela presença de ascosporos filiformes, típicos do gênero *Ophiodothella*. No entanto, difere de *Ophiodothella* pela presença de espermiócitos e pela aparência superficial do clipeo. É possível que este fungo seja intermediário entre *Phyllachora* e *Ophiodothella*. Até que o conceito de espécie dentro de cada um destes gêneros seja melhor definida, o agente da verrugose do juazeiro será por hora acomodado no gênero *Phyllachora*, justificando assim a criação de uma nova espécie para incluir fungos phyllachoraceos com sintomas característicos deste gênero, mas formadores de ascosporos filiformes.

532

LEVANTAMENTO DE NEMATÓIDES NA CULTURA DO FEIJÓEIRO. J.H. ALVES & M.A.dos. SANTOS. (UFU, Departamento de Agronomia, 38400-902, Uberlândia, MG). Survey of nematodes on bean.

O nematóide de cisto da soja apresenta-se amplamente distribuído na região de Iraí de Minas e circunvizinhos. Sabendo-se que o cultivo do feijoeiro é uma atividade agrícola de grande expressão econômica nessa região e que não existe no Brasil, relato de ocorrência desse nematóide na cultura, objetivou-se realizar um levantamento de ocorrência. O levantamento abrangeu dois mil hectares de cultivo de feijoeiro sob pivô central nos municípios mineiros de Iraí de Minas, Romaria e Nova Ponte, na safra de fevereiro a maio de 1997. As propriedades foram divididas em talhões de 40 ha. Em cada talhão coletaram-se 15 amostras simples e, após homogeneização, obteve-se uma amostra composta. Ao todo foram coletadas 50 amostras compostas. Estas amostras foram processadas pelas técnicas da flutuação centrífuga em solução de sacarose e do peneiramento e papel de filtro. Os fitonematóides encontrados foram: *Heterodera glycines*, *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*, *Paratylenchus*, *Aphelenchus*, *Tylenchus*. A constatação da presença de *Heterodera glycines* em área com cultivo de feijoeiro é preocupante. O nematóide multiplica bem no feijoeiro e poderá tornar-se um problema sério nessa cultura como é para a soja.

533

AVALIAÇÃO DE DANOS CAUSADOS À SOJA POR DIFERENTES NÍVEIS POPULACIONAIS DE HETERODERA GLYCINES NO SOLO. II. P.J.M.ANDRADE¹, G.L.ASMUS¹ & A.G.CAVALCANTI². (¹EMBRAPA/CPAA, C.P. 661, 79804-970, Dourados, MS; ²Agropecuária Ribeirão Ltda., C.P.38, 79550-000, Chapadão do Sul, MS). Damage to soybeans caused by different population levels of Heterodera glycines in the soil. II.

O Nematóide de Cisto da Soja (NCS) apresenta-se como um dos maiores problemas fitossanitários para a cultura. Visando relacionar os níveis populacionais de NCS com danos, foram avaliados os efeitos de 6 diferentes níveis populacionais (0; 1; 3; 6; 10 e 17 cistos viáveis/100 cm³ de solo) sobre o rendimento de grãos de soja. O experimento foi instalado em área não infestada. Foram utilizadas caixas de contenção de madeira de 2x3 m com 0,35 m de altura, dos quais 0,20 m ficaram abaixo do nível do solo. A camada superficial (0,15 m) de área infestada foi recolhida, transportada para o local do ensaio e misturada ao solo retirado do interior das caixas em diversas proporções para obtenção das populações desejadas. Semeou-se soja "Paiguás" no espaçamento de 0,40 m. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos e seis repetições. Foram avaliados o peso seco da parte aérea, o peso de 100 sementes e rendimento de grãos. Observou-se reduções expressivas no peso seco da parte aérea, a partir de 1 cisto/100 cm³ de solo. O peso de 100 sementes não foi afetado pelos diferentes níveis de cisto no solo. As populações de 1; 3; 6; 10 e 17 cistos/100 cm³ de solo proporcionaram reduções no rendimento de grãos de 15; 12,5; 18,5; 20,0 e 45,5%, respectivamente.