

COMPARAÇÃO PATOGENICA E CULTURAL ENTRE ISOLADOS DE *Alternaria solani* DO TOMATE E DA BATATA. M.I. FANCELLI, H. KIMATI - (ESALQ/USP, C.P. 09 - 13400 - Piracicaba, SP). Pathogenic and cultural comparisons among tomato and potato isolates of *Alternaria solani*.

Testes de patogenicidade de isolados de *Alternaria solani* do tomate e da batata em tomateiro mostraram que somente isolados congêniais conseguem reproduzir os sintomas típicos da doença. Adicionalmente, estes isolados apresentaram, em relação aos da batata, menor capacidade de hidrolisar amido, maior frequência de setores resistentes aos fungicidas iprodione e polioxina, maior crescimento em meio de cultura e maior dificuldade de esporulação *in vitro*.

Em vista destas diferenças, sugere-se a nomenclatura *Alternaria solani* fsp. *lycopersici* N.F. para os isolados do tomate.

100

ANÁLISE ISOENZIMÁTICA DE ISOLADOS DE *Phomopsis* sp. E *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* ISOLADOS DE SOJA. A.M.R. ALMEIDA¹; A. ALFENAS²; G.C. PASSADOR² & J. T. YORINORI¹. ¹Centro Nacional de Pesquisa de Soja, 86001, Londrina, PR; ²Departamento de Fitopatologia, UFV, 36570, Viçosa, MG. Isoenzyme analysis of isolates of *Phomopsis* sp. and *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* from soybean.

Isolados de *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* têm apresentado grande variabilidade quanto à patogenicidade em genótipos de soja. Determinaram-se, neste trabalho, os perfis isoenzimáticos de isolados do patógeno com diferenças em patogenicidade. Micélio liofilizado de *Phomopsis* sp. e *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* foi macerado em tampão Tris-HCl 0,6173M, pH 6,8 na presença de nitrogênio líquido. O extrato foi centrifugado a 12000g por 30 min., a 10 °C e o sobrenadante utilizado para eletroforese em gel de poliacrilamida (gel empilhador 4,5%, Tris-HCl, 0,06173M, pH 6,8; gel separador 10%, Tris-HCl 0,03776M, pH 8,9) a eletroforese foi, inicialmente, desenvolvida a 100V e quando a zona frontal do azul de bromofenol atingiu o gel separador o aparelho foi ajustado para 200V, mantidos até o final da corrida. Após a eletroforese, os géis foram corados para detecção de malato desidrogenase (MDH-EC 1.1.1.37), álcool desidrogenase (ADH-EC 1.1.1.1), polifenoloxidase (PPO-EC 1.14.18.1), peroxidase (PO-EC 1.11.1.7), superóxido dismutase (SOD-EC 1.15.1.1) e esterase (α , β -EST-EC 3.1.1.1). Apenas α e β -esterases produziram regiões de atividade capazes de diferenciar os isolados, em três grupos distintos. Confirmam-se observações anteriores de variabilidade entre as duas formas anamórfica (*Phomopsis* sp.) e teliomórfica (*Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*) dos isolados a partir das reações de patogenicidade observadas.

101

USO DE NASH NÃO RADIOATIVO NA DETECÇÃO DE PSTVd EM GERMOPLASMA DE BATATA (*Solanum tuberosum* L.) "IN VITRO". MARINHO, VERA LUCIA DE A. (CENARGEN/EMBRAPA, C.P. 02372, 70849 Brasília/DF). Detection of PSTVd in Germplasm of potato "in vitro" using non-radioactive NASH.

Em 1991, foi requerido à Área de Conservação de Germoplasma do CENARGEN, 100 acessos de batata (*Solanum tuberosum*) que seriam usados no programa de melhoramento genético desenvolvido na Seção de Raízes e Tubérculos do Instituto Agronômico de Campinas. Este germoplasma "in vitro", provenientes de diversos países, foi então enviado ao laboratório de virologia da Área de Intercâmbio e Quarentena de Germoplasma (AIQG/CENARGEN) para ser analisado quanto a presença de vírus e viróides, para posteriormente ser enviado ao requisitante. A metodologia utilizada para detecção do "potato spindle tuber viroid" (PSTVd) foi hibridização de ácido nucleicos (NASH), não radioativo (*). O método consiste no uso de uma sonda de DNA, complementar ao RNA do viroide, marcada com biotina. A hibridização se visualiza em membrana de nitro-celulose através de uma reação enzimática. A intensidade da coloração arroxeadada, característica de reação positiva, é diretamente proporcional à concentração do viróide na amostra. Das 100 amostras testadas, duas, provenientes dos Estados Unidos e Peru, estavam contaminadas com o referido viróide. O PSTVd ainda não foi detectado em plantações de batata no Brasil e para isso faz-se necessário uma metodologia eficiente de detecção para evitar a entrada e/ou disseminação do mesmo em nosso país.

* Kit gentilmente cedido pelo Centro Internacional de la Papa (CIP)

102

ENZYMATIC cDNA AMPLIFICATION OF TOMATO SPOTTED WILT VIRUS FROM INFECTED TOMATO AND PEPPER PLANTS. M.E.N. FONSECA¹, T.NAGATA², L.S. BOITEUX². (1. CENARGEN/EMBRAPA 02972, 70770, Brasília (DF), and 2. CNPH/EMBRAPA CP 0218, 70.359, Brasília (DF), Brasil. Amplificação enzimática do DNA complementar (cDNA) do vírus do vira-cabeça do tomateiro em plantas infectadas de tomate e pimentão.

Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to amplify a cDNA of tomato spotted wilt virus (TSWV) S RNA segment from infected tomato and pepper plants. Two DNA primers (20 nucleotides in length) were designed based on data from two previously sequenced TSWV isolates. Those primers (derived from the nucleocapsid protein gene sequence) were used for cDNA synthesis and specific amplification of TSWV. RNAs extracted from purified nucleocapsids and healthy plants were used as controls. DNA fragments of expected size (c.a. 700 bp) were obtained from both purified TSWV RNAs and partially purified nucleic acids from infected plants. These products were absent from extracts of uninfected tissues submitted to RT-PCR. The procedure was found to be very simple for a rapid and sensitive detection of TSWV on those hosts. RT-PCR could be used for studies on epidemiology, genetic variability of TSWV, and also as support to disease resistance breeding programmes.

103

USO DA REAÇÃO DE POLIMERASE EM CADEIA (PCR) NA IDENTIFICAÇÃO DE VARIABILIDADE NO VIRUS DO MOSAICO DOURADO (VMDF) NO BRASIL. (J.C. FARIA¹ & D.P. MAXWELL². (EMBRAPA/CNP Arroz e Feijão, C.P. 179, 74000 Goiânia, GO; Dept of Plant Pathology, University of Wisconsin, Madison, WI 53706, USA). The use of polymerase chain reaction (PCR) in the identification of variability in the bean golden mosaic virus (vmdf) in Brazil.

Amostras de feijoeiro com sintomas típicos da doença, bem como de plantas daninhas com sintomas de infecção por geminivírus, das proximidades de campos de feijão com alta incidência de mosaico dourado foram coletadas e herbarizadas, para uso posterior. Foram analisadas amostras dos Estados de Goiás, São Paulo, Paraná e Pernambuco. Foram feitas a amplificação e clonagem de cerca de 25% do genoma viral das amostras. As análises das seqüências do ácido nucléico indicaram baixa variabilidade do vírus nas amostras de feijoeiro comum, enquanto uma amostra proveniente de feijão fava, coletada no Estado de Pernambuco foi mais variável. O VMDF difere em 30-35% da seqüência de DNA dos isolados da Guatemala e República Dominicana, enquanto estes diferem entre si por apenas cerca de 3-6% da seqüência.

104

SEROLOGIA E ELETROFORESE DE *EXSEROHILUM TURCICUM* (PASS.) LEONARD & SUGGS, ISOLADO DE MILHO, SORGO E CAPIM-MASSAMBARÁ* E.E. BACH¹ & H. KIMATI² (¹Seção de Bioquímica Fitopatológica, Instituto Biológico, C.P. 7119, 01051, São Paulo, SP; ²ESALQ/Depto. Fitopatologia, Piracicaba, SP). Serology and electrophoresis of *Exserohilum turcicum* isolated from maize, sorghum and Johnson grass

Os antígenos extraídos de conídios de isolados de *Exserohilum turcicum* de milho (do Brasil e dos Estados Unidos), sorgo e capim massambará e analisados