

inibição do crescimento bacteriano promovido pelos produtos. O sulfato de esteptomicina teve efeito inibidor a partir de 50 ppm, enquanto o ASM não promoveu redução no crescimento da bactéria nas concentrações avaliadas.

772

DEVELOPMENT OF A DIAGNOSTIC TEST BASED ON THE POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) TO DETECT *Ralstonia solanacearum* IN TUBERCULO-SEED AND INFECTED SOIL. SAENZ, E. C.¹; BORDA, C. C.²; GUTARRA, L.³ & PRIOU, S.³ (¹USP - Instituto de Química, ²UNESP/FCA & ³International Potato Center E-mail: esaenz@iq.usp.br) Desenvolvimento de um teste diagnóstico baseado na reação em cadeia da polimerase (PCR) para detectar *Ralstonia solanacearum* em tubérculo-semente e solo infectado.

Ralstonia solanacearum biovar 2 (race 3), the causal agent of potato brown rot, is responsible for severe losses to many important crops. Sensitive and specific methods to detect latent pathogen populations in seed tubers or in the environment are needed to avoid further spread of the bacterium. We developed a sensitive and specific assay for the detection of *R. solanacearum*, based on a Double-PCR protocol, using identified primers P759/P760, which define one fragment of 281 bp. A common limitation of the PCR technology is the inhibition of the thermostable DNA polymerase enzymes by compounds present in many plants and soil extracts, leading to false negatives or low detection sensitivities. We improved this method sensitivity by adding an enrichment procedure with centrifugation steps + enrichment during 48 h in liquid SMSA. The enrichment step allowed to improve the sensitivity of PCR in tubers seed and soil extract. Our results showed that PCR inhibitory compounds found in seed tubers are removed by a NFW wash and that the method can detect bacterial suspension down to 10-20 cells ml⁻¹. However, in soil extract this test has the capability of being more sensitive, specific with a double-PCR. PCR diagnostic tests for *R. solanacearum* have been developed which with time can be used in the routine screening.

773

CONTROLE DA MANCHA AQUOSA DO MELÃO MEDIANTE A UTILIZAÇÃO DE ACIBENZOLAR-S-METHYL. SALES JR., R.; NUNES, G. H. S.; PEREIRA, E. W. L.; NASCIMENTO, I. J. B.; NASCIMENTO, M. T. A.; FREITAS, L. S. & AMARO FILHO, J. (ESAM E-mail: jrui@hotmail.com) Control of Bacterial fruit blotch of melon by utilization of Acibenzolar-S-Methyl.

O melão, um dos principais itens de exportação do RN, vem sendo acometido nos últimos anos pelo ataque de *Acidovorax avenae* subsp. *citullii* (Aac), provocando enormes perdas ao cultivo. Este trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência de Acibenzolar-S-Methyl (ASM) no controle de Aac. O presente ensaio constou de dois tratamentos, com e sem ASM. O mesmo foi utilizado na dosagem de 1g/20L de água. A área experimental de cada tratamento foi de 0,27 ha (1 talhão), não havendo repetições. Um total de seis aplicações, com intervalo semanal foram efetuadas a plantas de melão, cv. Goldex da empresa Top Seed, com 17 dias do plantio. O produto ASM foi utilizado como adjuvante ao tratamento bactericida padrão da agroindústria. No momento da colheita foram efetuadas duas avaliações: nº de frutos de melão atacados por Aac e produtividade estimada por ha. Os resultados obtidos apresentaram um total de 15 e 312 frutos afetados com Aac nas áreas com e sem ASM, respectivamente. A produtividade média obtida nos dois tratamentos foi de 16.909 e 12.855 Kg, respectivamente, sendo esses valores estimados por ha. A diferença da produtividade obtida na área com ASM foi na ordem de 4 toneladas de frutos. Sendo assim, pode-se concluir que a utilização de ASM apresenta-se como uma excelente medida de controle para Aac.

774

UTILIZAÇÃO DE ACIBENZOLAR-S-METHYL COMO INDUTOR DE RESISTENCIA EM MELOEIRO A *Acidovorax avenae* subsp. *citullii*. SALES JR., R.; NUNES, G. H. S.; PEREIRA, E. W. L.; NASCIMENTO, I. J. B.; NASCIMENTO, M. T. A.; FREITAS, L. S. & AMARO FILHO, J. (ESAM E-mail: jrui@hotmail.com) Utilization of Acibenzolar-S-Methyl on melon plants as pathogens resistance inductor to *Acidovorax avenae* subsp. *citullii*.

A bactéria *Acidovorax avenae* subsp. *citullii* (Aac) agente causal da mancha-aquosa do melão é um dos principais problemas de ordem fitopatológica neste cultivo na estação das chuvas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de Acibenzolar-S-Methyl (ASM) mediante aplicação foliar em plantas de meloeiro como indutor de resistência a Aac. O ensaio constou de dois tratamentos, com e sem ASM. Sendo utilizada a dosagem de 1g/20L de água. Cada parcela apresentou uma área de 0,5 ha (1 talhão), não havendo repetições. As aplicações, em um total de 6, realizadas semanalmente, tiveram início em plantas de melão, cv. Gold Mine da empresa Petoseed, aos 11 dias do plantio. Ambos tratamentos receberam tratamento bactericida padrão da agroindústria durante o ciclo da cultura. Ao final do ensaio foi avaliado em cada tratamento as perdas produzidas por Aac, nº de frutos atacados, e a produtividade média obtida em caixas de melão. Os resultados obtidos apresentaram um total de 213 e 1718 frutos afetados com Aac nas áreas com e sem ASM, respectivamente. Um total de 586 e 127 caixas de melão de 13 Kg foram produzidos, respectivamente. Em valores estimados de produtividade por ha, observa-se que há uma redução de perdas na ordem de 12 toneladas de frutos embalados, quando utilizado o produto ASM. Dessa forma conclui-se que a utilização de ASM é totalmente viável no controle de Aac.

775

SELEÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS VISANDO A PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E BIOCONTROLE DA MURCHA BACTERIANA DO TOMATEIRO. SILVA, R. P. & SOARES, A. C. F. (UFBA E-mail: acsoares@ufba.br) Selection of rhizobacteria for growth promotion and biological control of tomato bacterial wilt.

O estudo de rizobactérias associadas à cultura do tomate é importante visto que esta é uma cultura suscetível a diversos patógenos. Objetivou-se avaliar o efeito de rizobactérias no crescimento de mudas de tomateiro e no biocontrole da murcha bacteriana do tomateiro. Foram testados dezenove isolados de rizobactérias, previamente selecionados como potenciais agentes de promoção de crescimento e/ou controle biológico, na Escola de Agronomia da UFBA. Sementes de tomateiro da cultivar 'Santa Clara' foram microbiolizadas por embebição (1h) nas suspensões bacterianas e plantadas em solo estéril e não estéril em casa de vegetação. O teste de biocontrole foi conduzido em infectário com solo infestado com *Ralstonia solanacearum*. Onze isolados promoveram o maior crescimento das mudas, em solo não-estéril. Para o isolado TR145B, observou-se aumentos de 59%, 49% e 27% na massa seca da parte aérea, da raiz e no diâmetro do caule, respectivamente. Contudo, esses isolados bacterianos não se mostraram eficientes no controle da murcha bacteriana do tomateiro.

776

EFEITO DE COMPLEXOS NUTRITIVOS DE Si, Ca, B, K E AMINOÁCIDOS EM TRATAMENTO DE SEMENTES E APLICAÇÕES FOLIARES NO CONTROLE DO CRESCIMENTO BACTERIANO DO FEIJOEIRO (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*). SILVA, R. P. da¹; DANTAS, G. G.¹; SILVA, I. D.¹; BATISTA, F. S.²; LOBO JR., M.³ & OTTONI, G.¹ (¹UFMG, ²BIOAGRO & ³Embrapa Arroz e Feijão E-mail: ricperesilva@hotmail.com) Effect

of Si, Ca, B, K and aminoacids nutritive complexes on seed treatments and foliar applications in the control of bean bacterial blight (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*).

O papel do Si na redução de doenças de arroz, tomate e cana-de-açúcar já tem sido evidenciado em aplicações de escória siderúrgica que contém Si para calagem. Existem produtos comerciais que fornecem complexos nutritivos para trat^o de sementes e pulverizações foliares que parecem ter efeito na redução de doenças. Este trabalho teve por objetivo observar o efeito da aplicação de enraizadores, Si, Ca, B, K e aminoácidos na redução do cretamento bacteriano do feijão. Os tratamentos foram T₁: Complexo nutritivo Biocksil, com 17% de Si extraído de rochas, aplicado em pulv. foliares aos 15 (1 kg/ha), 30 (1,5 kg/ha) e 40 (2,0 kg/ha) dias após o plantio; T₂: Complexo nutritivo radicular Nobrico Star, enraizador aplicado no trato de sementes (100 ml/100 kg de sem.); T₃: Biocksil + compl. nutritivo foliar com aminoácidos, Ca e B (Aminolon Ca e B), 1 l/ha na pré-floração+Lombrico K (1 l/ha na formação das vagens); T₄: Nobrico Star + Biocksil + Aminolon Ca e B + Lombrico K; T₅: Aminolon Foliar 12%, compl. nutritivo foliar (1 l/ha)+ Nobrico Star + Biocksil + Aminolon Ca e B + Lombrico K; T₆: Testemunha. Foi avaliada a% de área foliar com sintomas para a obtenção da curva do progresso da doença. Houve diferença significativa nos tratamentos T₅ e T₂ em relação à testemunha, o que mostrou o efeito positivo do enraizador e dos complexos nutritivos na redução da doença.

777

ACTINOMICETOS NO BIOCONTROLE DA MURCHA BACTERIANA DO TOMATEIRO. SOARES, A. C. F.¹; LIMA, J. L.¹; FERNANDES, M. C. A.² & LEDO, C. A. S.³ (¹UFBA, ²Pesagro-RJ & ³Embrapa Mandioca e Fruticultura E-mail: acsoares@ufba.br) Actinomycetes for the biological control of tomato bacterial wilt.

A murcha bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*, é a mais importante fitomoléstia de origem bacteriana da cultura do tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) no Brasil. Este trabalho teve o objetivo de avaliar o potencial de actinomicetos para o controle biológico da murcha bacteriana do tomateiro. Mudanças produzidas em solo natural com sementes de tomateiro 'Santa Clara', microbiolizadas com suspensão de esporos de actinomicetos, foram transplantadas para os infectários de *R. solanacearum* da Escola de Agronomia (AGRUFBA), em Cruz das Almas-BA e da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio de Janeiro (PESAGRO) em Seropédica-RJ. Na AGRUFBA, não se observou um efeito significativo de biocontrole. Na PESAGRO, observou-se diferença significativa entre os tratamentos, com relação ao período sem sintomas de murcha, permitindo a separação dos isolados de actinomicetos em dois grupos (A e B), pelo teste de Scott Knott. As plantas tratadas com os actinomicetos do grupo B, permaneceram sem sintomas por um período entre 60 e 75 dias. Os resultados obtidos na PESAGRO, permitiram a seleção de seis isolados como potenciais agentes de biocontrole da murcha bacteriana do tomateiro.

778

EFEITO DE FILTRADOS DE BASIDIOCARPOS DE *Lentinula edodes* NA EXPRESSÃO DE LESÕES CAUSADAS PELO Tobacco mosaic virus (TMV) EM FUMO E NA MULTIPLICAÇÃO IN VITRO DE *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*. TONUCCI, N. M. & PASCHOLATI, S. F. (ESALQ/USP E-mail: nmtonucc@esalq.usp.br) Effect of fruiting body filtrates of *Lentinula edodes* on the expression of lesions caused by TMV in tobacco and on in vitro multiplication of *X. campestris* pv. *passiflorae*.

Lentinula edodes (shiitake) vêm sendo estudado para o controle de doenças de plantas. Nesse sentido procurou-se verificar o efeito do cogumelo na infectividade do TMV e dos filtrados autoclavados

no crescimento in vitro de *X. c. pv. passiflorae* (mancha oleosa em maracujazeiro). Para os testes com TMV, plantas de fumo foram pulverizadas com filtrados a 10% (v/v), exceto meia-folha/planta, na qual efetuou-se a inoculação mecânica com TMV (0,01 mg/ml). A avaliação foi feita ao 4º dia contando-se o número das lesões/folha. No teste com a bactéria, 1 ml da suspensão bacteriana mais filtrados autoclavados (120 °C / 15 min) ou não autoclavados, a 20% (v/v), foram colocados em tubos de ensaio, os quais foram incubados no escuro a 27 °C / 24 h. Retiraram-se, então, alíquotas de 0,25 ml a partir de cada tubo, plaqueando-as sobre meio NA. As placas foram incubadas por 48 h a 27 °C, quando avaliou-se o crescimento bacteriano. Os resultados mostraram que as preparações reduziram o número de lesões causadas pelo TMV em meias-folhas de fumo e ocasionaram a inibição total do crescimento bacteriano in vitro. Quando os filtrados foram autoclavados a atividade inibitória da multiplicação da bactéria foi completamente perdida.

779

CARACTERIZAÇÃO DE *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* ATRAVÉS DE REP, ERIC E BOX-PCR. TRINDADE, L. C. & FERREIRA, M. A. S. V. (UnB E-mail: ltrindad@unb.br) Characterization of *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* by REP, ERIC and BOX-PCR.

O cancro bacteriano da videira, causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Xcv) foi constatado em parreirais de Pernambuco, Bahia e Piauí em 1998, causando sérios prejuízos. Este trabalho teve como objetivo caracterizar 41 isolados de Xcv, coletados entre 1998 e 2001, através de PCR com primers específicos para as seqüências repetitivas REP, ERIC e BOX. Os perfis genômicos gerados (um total de 63 bandas variando de 190 a 3054 pb) foram analisados em conjunto e utilizados na construção de uma matriz de similaridade segundo o coeficiente de Jaccard e agrupados por UPGMA. Algumas bandas com valor diagnóstico foram identificadas. A análise permitiu agrupar os isolados em 5 subgrupos a 56% de similaridade, sendo que 87,8% dos isolados pertenciam ao mesmo subgrupo. Neste subgrupo, cinco isolados, coletados em Pernambuco em 1998, tiveram similaridade superior a 90% em relação ao isolado tipo, NCPPB 2475, oriundo da Índia. rep-PCR mostrou-se reproduzível e eficiente para caracterizar a variabilidade em Xcv, podendo também ser útil como uma técnica adicional para identificação da bactéria.

780

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DE ANTI-SORO POLICLONAL NA DETECÇÃO DE *Pectobacterium* sp. TUMELERO, A. I. & DENARDIN, N. D. (UPF E-mail: norimar@upf.tche.br) Sensibility and application of polyclonal antiserum for detection of *Pectobacterium* sp.

A detecção e a identificação de *Pectobacterium* sp. em tubérculos de batata-semente aparentemente sem contaminação é de suma importância para evitar a disseminação dessa bactéria. Entre os métodos de detecção mais empregados estão os sorológicos. Objetivando detectar pectobactérias em tubérculos semente, avaliaram-se a sensibilidade e a especificidade de três anti-soros de espécies de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum* (Pca), *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc), de *P. chrysanthemii* (Pch) e de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* atípica (Pcca), e da mistura das três, bem como verificou-se a reação cruzada entre seis gêneros de bactérias, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, *X. axonopodis* pv. *malvacearum*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. glicinea*, *Agrobacterium tumefaciens* e *Actinomyces* sp. A sensibilidade e a especificidade dos anti-soros foram avaliadas, após a obtenção da IgG do soro, pela técnica de ELISA - Enzyme Linked Immunosorbent Assay. Os resultados obtidos para sensibilidade e para especificidade dos anti-soros evidenciam 80% de sensibilidade e