

46

CHARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE ESTIRPES DE *PHYTOPHTHORA PARASITICA*, ISOLADAS DE PLANTAS CÍTRICAS NO ESTADO DE SÃO PAULO. C. I. AGUILAR-VILDOSO¹, J. L. AZEVEDO², E. FEICHTENBERGER³ & J. POMPEU JR.¹ (¹IAC/CCSM, C.P.04, 13490-970, Cordeirópolis, SP; ²USP/ESALQ, Dept. Genética, C.P.83, 13400-970, Piracicaba, SP; ³IB/LRS, rua Antônio Gomes Morgado 340, 18013-440, Sorocaba, SP). Genetic characterization of *Phytophthora parasitica* strains isolated from citrus plants in São Paulo State-Brazil.

Embora *Phytophthora parasitica* seja responsável por uma das doenças mais devastadoras da citricultura, a sua genética é pouco conhecida. No presente trabalho 16 culturas monozoospóricas de *P. parasitica* originárias do Estado de São Paulo, foram estudadas quanto às suas características morfológicas, culturais, moleculares (RAPD) e sensibilidade ao fungicida metalaxyl. Todos os isolados foram identificados como *P. parasitica* com base nas características morfológicas, culturais e fisiológicas. Houve diferenças estatísticas entre os isolados quanto às dimensões no comprimento (c), largura (l) e relação c/l de esporângios obtidos em meio cenoura-ágar a 25 °C; assim como na capacidade de produção de clamidósporos no mesmo meio. Alguns isolados iniciaram crescimento após 10 dias a 100 ppm de metalaxyl, mas detectou-se tolerância ao metalaxyl na concentração de 10 ppm na maioria dos isolados, o que vem a demonstrar que há genótipos com alguma tolerância ao produto no Estado de São Paulo. Essa tolerância teve uma distribuição independente do local de isolamento. A análise molecular com a técnica de RAPD não foi suficientemente sensível para detectar grupos com similaridade genética com essa característica, entretanto ela conseguiu distinguir entre os isolados. Detectou-se uma relativa baixa diversidade genética entre eles, apesar de serem provenientes de diferentes pontos do Estado. Houve diferenças mesmo entre aqueles obtidos da mesma cultura original.

Apoio: Fundação IAC/CAPES.

47

INOCULAÇÃO DE *PHYTOPHTHORA PARASITICA* EM CAULES DE PLÂNTULAS DE VARIEDADES CÍTRICAS, PELO MÉTODO DO PALITO. C. I. AGUILAR-VILDOSO¹** & J. POMPEU JR.¹. (CCSM/IAC, C.P.04, 13490-970, Cordeirópolis, SP). *Phytophthora parasitica* inoculated in seedling's stems from citrus varieties by pick assay with toothpick.

É de grande importância determinar a tolerância a *Phytophthora* de entradas e híbridos no programa de melhoramento de porta-enxertos de citros. Essa determinação serve como uma seleção prévia, contribuindo na redução dos custos dos experimentos e na posterior avaliação de outras características de interesse agrônomo. A técnica de inoculação com palitos colonizados com fungos patogênicos vem tendo sucesso em outras culturas. Neste experimento foram avaliadas as condições e os efeitos da inoculação com *P. parasitica* em plântulas de porta-enxertos de citros. As variedades foram o limão Cravo Limeira (*Citrus limonia*), o trifoliata Limeira (*Poncirus trifoliata*), o citrumelo Swingle (*C. paradisi* x *P. trifoliata*) e a tangerina Sunki (*Citrus sunki*). As sementes foram tratadas com hipoclorito de sódio 2% e acondicionadas em tubetes contendo vermiculita, até atingirem aproximadamente dez cm de altura. Palitos de dente previamente fervidos e posteriormente autoclavados foram acondicionados em placas de Petri, contendo discos de meio cenoura-ágar, com ou sem micélio de *P. parasitica*, para uso no controle da técnica e do patógeno, respectivamente. Após 10 dias os palitos foram utilizados. As condições avaliadas foram controle (somente a plântula), com palito sem o patógeno, com palito colonizado e com palito colonizado em câmara úmida. O método foi diferencial entre as variedades testadas. A melhor condição foi com câmara úmida, onde houve diferenças estatísticas entre as variedades. A ordem de susceptibilidade do maior para o menor foi: tangerina Sunki, limão Cravo, trifoliata Limeira e Citrumelo Swingle. Essa técnica é de grande potencial para avaliar seleções de citros, devido a sua simplicidade, rapidez de resposta e ocupar pouco espaço para a sua realização.

Apoio: Fundação IAC

48

COLLETOTRICHUM EM CITROS: SENSIBILIDADE A FUNGICIDAS E CARACTERIZAÇÃO VIA PCR (POLIMERASE CHAIN REACTION). N. L. NOGUEIRA¹; J. C. V. RODRIGUES^{1,2}; H. S. PRATES³ & L. W. MEINHARDT¹. (¹CENA/USP, C.P. 96, 13400-970, Piracicaba, SP; ²Centro de Citricultura "Sylvio Moreira", Cordeirópolis, SP; ³CATI/SAA, C.P. 960, 130370-001, Campinas, SP). *Colletotrichum* in Citrus: sensibility to fungicides and characterization via PCR (Polymerase Chain Reaction).

Isolados do fungo *Colletotrichum* foram obtidos a partir de cálices e flores de distintas variedades cítricas (laranjeira, lima ácida, limão) coletados em diferentes regiões citricolas do Estado de São Paulo. Com as culturas puras dos isolados foram realizados testes de sensibilidade in vitro (meio de cultura BDA) aos fungicidas benomyl, chlorotalonil, tebuconazole e captan nas

concentrações de 0, 1, 10, 100 mg/l. Utilizou-se meio líquido (BDA + extrato de malte) para o crescimento dos isolados monospóricos do fungo de que posteriormente extraiu-se o DNA para a reação de PCR (*Polymerase Chain Reaction*). A reação de PCR foi conduzida em termociclador Perkin-Elmer utilizando-se 100 mg de DNA do fungo e 25-30 pmols dos primers específicos. Os primers utilizados foram Calnts2 x Its4 e Cglt1 x Its4 (BOYLE & LEW, TIB 11:8,1995), para diagnóstico respectivamente de *C. acutatum* e *C. gloeosporioides*. Nos testes de sensibilidade verificou-se diferenças significativas entre o crescimento dos isolados dentro de Benomyl e Tebuconazole. Isolados com menor sensibilidade ao Benomyl foram mais sensíveis ao Tebuconazole. A utilização de PCR permitiu verificar a ocorrência de isolados das espécies *C. acutatum* e *C. gloeosporioides* entre os isolados, com o predomínio da última espécie. Na análise de algumas colônias integrais do fungo (sem obtenção de isolados monospóricos) via PCR verificou-se a amplificação de fragmentos correspondentes às duas espécies, indicando a sua ocorrência conjunta no campo.

Suporte: Fundecitrus, CNPq.

49

REAÇÃO DE ESPÉCIES DE *PIPER* A DOIS ISOLADOS DE *NECTRIA HAEMATOCOCCA* F. SP. *PIPERIS*. E. C. ALBUQUERQUE¹, M. L. R. DUARTE¹, R. L. B. STEIN¹ & T. ENDO². (EMBRAPA-Amazônia Oriental, C.P. 48, 66095-100, Belém, PA; ²EMBRAPA/JICA). Responses of *Piper* species to colonization by two *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* isolates.

Fontes de resistência à fusariose causada por *Nectria haematococca* (*Fusarium solani* f. sp. *piperis*) dentro da população de *P. nigrum* ainda são desconhecidas. Visando detectar fontes de resistência em genótipos de Piperaceas nativas, mudas de 10 espécies de *Piper* spp. e de *P. nigrum* (Testemunha), foram inoculadas com dois isolados do patógeno oriundos de *P. nigrum* e *P. aduncum*, através de incisões na haste e plantio em solo infestado. O inóculo consistiu de discos de colônias do patógeno oriundo de *P. nigrum* cultivados em substrato contendo farelo de trigo e solo na proporção de 4:1 (v/v) por 25 dias. Cerca de 5g de inóculo/kg foram misturadas ao solo dos vasos, antes do plantio das mudas. Foram utilizadas 15 mudas por espécie. Porções da colônia dos isolamentos de *Piper aduncum* e de *P. nigrum* foram inseridas nas hastes das plantas, inoculando-se cada isolado em quatro mudas, por espécie. Os resultados mostraram que nenhuma das espécies nativas cultivadas em solo infestado apresentou sintomas da doença durante o período de 110 dias de condução do ensaio, enquanto que em mudas de pimenta-do-reino os índices de infecção foram de 33,3%, 53,3%, 80% e 100% após 50, 70, 90 e 110 dias, respectivamente. Não foram observadas descoloração vascular nem podridão radicular nas espécies nativas, enquanto que as plantas de pimenta-do-reino foram totalmente destruídas. Na haste das plantas de pimenta-do-reino e de algumas espécies nativas ocorreu necrose dos tecidos. O isolado da pimenta-do-reino foi mais virulento nesse hospedeiro, causando a morte das plantas. A evolução da infecção de ambos isolados, em *Piper* spp., estacionou depois de 30 dias. A necrose na haste foi mais acentuada nas espécies *P. aduncum* e *P. hispidinervium*, enquanto *P. arboreum*, *P. tuberculatum*, *P. colubrinum* e *P. hispidum* foram menos infectadas.

50

SOBREVIVÊNCIA DE MICÉLIO E ESCLERÓDIOS DE *RHIZOCTONIA SOLANI* TRATADOS COM *TRICHODERMA* SPP., SOB RESTOS DE CULTURA DE *EUCALYPTUS A. C. ALLENAS*¹, S. Kunieda de Alonso¹, L. A. Maffia¹ e R. C. Sartório² (¹DFP/Bioagro - UFV, 3671 - 000, Viçosa, MG e ²Aracruz Celulose, Rd. Aracruz/Barra do Riacho, Km 25, 29197-000 - Aracruz-ES). Survival of mycelium and sclerotia of *Rhizoctonia solani* treated with *Trichoderma* spp. in *Eucalyptus* debris.

Estudou-se a sobrevivência de *R. solani* na forma de micélio e escleródios. Para isso, ramos contendo escleródios e folhas lesionadas colocados em sacos de náilon foram mantidos sob restos de poda de eucalipto em condições de jardim clonal. A sobreviv. do patóg. foi monitorada, mensalmente, ao longo de 12 m, mediante plaqueamento de escler. e fragm. de folhas em, AA 2%. Enquanto a sobreviv. de micélio permaneceu = 100%, a de escler. caiu p/ cerca de 26% aos 12 m. Paralelamente, folhas lesion. e ramos com escler. do patóg., imersos em susp. a 10⁹ con./mL de *T. longibrachiatum* (UFV-1) e *T. inhamatum* (UFV-2 e -3) e em calda de captan (1200 ppm) + NaOCl (800 ppm de Cl₂) foram mantidos nas mesmas condições em jardim clonal e plaqueadas em AA, aos 25 d do trat.. Amostras infectadas s/ fungic. e s/ antagonista serviram de test. Não se constatou influência dos antagon. na sobreviv. do patóg. na forma micelial. Todavia, redução significativa e contínua na viabilidade de escleródios, foi observada equiparando-se ao trat. fungicida e não diferiu entre os 3 isolados de *Trichoderma* testados. Sobre os escler. plaqueados não-germinados, observou-se esporulação de *Trichoderma*. Redução progressiva e contínua na sobreviv. de escler. da test. foi inferior a quaisquer dos tratamentos.