

plantas da variedade myssoure na Fazenda Água Limpa, da Universidade Federal de Uberlândia. As matrizes para o estabelecimento do sistema de produção de mudas foram originárias de Janaúba-MG. Esta anomalia estava associada a sintomas de mosaico foliar, presença de pontos necróticos e redução no tamanho do cacho. Com o objetivo de constatar o quadro infeccioso, instalou-se um experimento com cucurbitáceas (melão eldorado, abobrinha caserta, melancia, pepino caipira e pepino japonês) e mudas de bananeira das variedades myssoure, prata-anã e marmelo. Retirou-se o extrato de folhas jovens de bananeira infectadas da variedade myssoure em tampão fosfato 0,01 M, pH=7,0, acrescido de sulfato de sódio a 0,01M e inoculou-se as diferenciais, bem como mudas de bananeira em tamanho "chifrinho". Após as inoculações, constatou-se a presença dos sintomas de mosaico nas diferenciais bem como infecção apenas na variedade myssoure. Infere-se a vulnerabilidade ou maior susceptibilidade desta variedade ao vírus, pois mesmo em condições de campo, não ocorreu infecção na variedade prata-anã. Testes de ELISA confirmaram a presença do vírus CMV.

621

ELIMINAÇÃO DO "PEANUT MOTTLE VIRUS" EM PLÂNTULAS DE AMENDOIM (*Arachis hypogaea* L.) CULTIVADAS *IN VITRO*. G. PIO-RIBEIRO¹; L. C. NASCIMENTO¹; L. WILLADINO¹; G. P. ANDRADE¹; & R. C. SANTOS². ¹UFRRPE, Dep. Agron. - Fitossanidade, 52.171-900 - Recife - PE, ²CNPA-EMPRA, Cx. Postal 108, Campina Grande-PB e-mail: ¹pio@elogica.com.br Elimination of peanut mottle virus (PeMoV) in peanut (*Arachis hypogaea* L.) plants cultivated *in vitro*

Muitos vírus causam doenças no amendoim, destacando-se o PeMoV por possuir uma vasta distribuição geográfica, apresentar sintomatologia discreta em amendoim, ser patogênico de outras leguminosas importantes e infectar diferentes espécies silvestres de *Arachis*. A eliminação de vírus em vegetais cultivados em condições, controladas têm sido feita visando a manutenção e intercâmbio de germoplasma sadios, bem como a produção de material básico para a multiplicação e uso comercial. Uso de antivirais em cultivo *in vitro* tem auxiliado na obtenção de material propagativo livre de vírus através da adição dos mesmos em meio de cultura. O Ribavirin ou Virazole (RBV) parece ser no momento o antiviral que oferece maiores possibilidades de uso em trabalhos de eliminação de fitovírus, sem a necessidade de outros tratamentos curativos. A partir de plântulas de amendoim infectadas com PeMoV mantidas *in vitro*, foram obtidas 16 microestacas com aproximadamente 1,5 cm contendo 1 a 2 gemas, as quais foram inoculadas em meio de cultura MS suplementado com RBV autoclavado (oito estacas) e esterilizado por filtração (oito estacas) na concentração de 20mg/L. Após incubação durante 30 dias, a 25 ± 2° C e fotoperíodo de 16 h, utilizando-se lâmpadas fluorescentes, as plantas foram indexadas por ELISA indireto. Dos tratamentos com RBV autoclavado, observou-se a eliminação de vírus em 25 % das plantas e no tratamento com RBV filtrado 44,4 % estavam livres de vírus.

* Bolsista CNPq

** Bolsista CAPES

622

INCIDÊNCIA DE COURO DE SAPO EM MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz) NO ESTADO DO PARÁ. L.S. POLTRONIERI.; D.R. TRINDADE.; F.C. ALBUQUERQUE.; E.M.R. CARDOSO & P.E. MEISSNER FILHO. Embrapa Amazônia Oriental, Caixa Postal, 48, 66.095-100, Belém, PA. Fax (091) 226.9845, e-mail: poltroni@cpatu.embrapa.br. Identification of "frog skin disease" on cassava in the state of Pará, Brazil

Nos últimos anos, provavelmente devido a introdução de germoplasma de mandioca de várias regiões do Brasil, tem surgido doenças até então não registradas no Estado do Pará. Recentemente, amostras de raízes e de caule de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) provenientes de área de produtor do município de São Francisco do Pará e do banco de germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental em Belém, PA, foram enviadas ao laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura para identificação de uma provável doença, causando perdas significativas na produção de raízes. Através da extração de RNA de fita dupla, análise dos extratos em gel de agarose e poliacrilamida, a doença foi confirmada como sendo de causa virotica, conhecida por "couro de sapo" ou "Frog skin disease" (FSD). A doença foi constatada pela primeira vez em 1971, na Colômbia. No Brasil foi registrada atacando mandioca nos Estados do Amazonas e Bahia (Fukuda, C. I Congresso Latino Americano de Raízes Tropicais, 105, 1992). A doença pode causar perdas de 50 a 100% e se caracteriza pelos sintomas hiperplásticos tipo verrugose que tornam as

raízes finas com zona cortical grossa, quebradiça, enrugada e fendas retículo-alveolares. Como consequência, ocorre uma baixa produção e sem valor comercial. A doença não apresenta sintomas na parte aérea das plantas e a caracterização do agente causal ainda não foi bem definida. Na Colômbia, o vírus cassava X vírus (CsXV) e um agente de mosaico tem sido encontrado em plantas com sintomas de FSD. O vírus é transmitido por estacas retiradas de plantas doentes, enxertia e ferramentas contaminadas.

623

THREE NEW GEMINIVIRUSES IN TOMATO IN THE STATE OF PERNAMBUCO. S. G. RIBEIRO¹, I. C. BEZERRA², R. O. REZENDE³, M. F. LIMA⁴, L. V. RESENDE⁵, & A. C. DE AVILA². ¹CENARGEN/EMBRAPA, SAIN Parque Rural, 70770-900, Brasília, DF, E-mail: simone@cenargen.embrapa.br; ²CNPq/ EMBRAPA, BR 060 Km 09, C.P. 0218, 70359-700, Brasília, DF; ³Universidade de Brasília, Departamento de Biologia Celular, 70919-970, Brasília, DF; ⁴CPATSA/EMBRAPA, C.P. 23, 56300-000, Petrolina, PE; ⁵IPA, Av. Gal. San Martin, 1371, C.P. 1022, 50761-001, Recife, PE). Três novos geminivírus em tomate no estado de Pernambuco.

Tomato is one of the vegetable crops most important in Brazil and the state of Pernambuco has the greatest planted area of industrial varieties. Geminivirus-associated diseases are becoming an important problem in tomato production in our country, and since 1996, geminiviruses-like symptoms were observed in many areas in Pernambuco. Samples with symptoms of leaf mottling, mosaic, distortion and curling were collected in fields from Petrolina and Pesqueira. Dot blot hybridization with a probe consisting of full-length DNA-A components of BG MV-Br and BG MV-GA showed positive reaction, indicating geminivirus infection. PCR using degenerate primer pairs PAL1v1978/PAR1c715 and PAL1v1978/PAR1c496, which specifically amplify part of the component A of whitefly-transmitted geminiviruses, amplified a fragment of approximately 1.4 and 1.1 kb, respectively. Fragments obtained from one sample of each area were cloned and partially sequenced. Sequence comparisons of part of the coat protein (AV1) and replication associated (AC1) genes divided the clones into three distinct groups. Sequence identities of group TGV-PE1 (5 clones) ranged from 92 to 99% in AV1 and 94 to 98% in AC1, indicating that they were clones of the same virus. Sequence of group TGV-PE2 (1 clone) was 82-85% identical in AV1 and 80-84% in AC1 to TGV-PE1. Group TGV-PE3 (1 clone) had identity of 75-78% in AV1 and 81-84% in AC1 when compared with TGV-PE1 and 74% in AV1 and 80% in AC1 when compared with TGV-PE2 indicating that TGV-PE2 and TGV-PE3 possibly represent two different viruses, distinct from each other and from TGV-PE1. These results suggest at least three novel geminiviruses associated to tomato plants in the State of Pernambuco. Furthermore, these viruses are present in mixed infections as TGV-PE1 and TGV-PE2 are present in a plant from Petrolina and TGV-PE1 and TGV-PE3 are present a sample from Pesqueira.

624

PRODUCTION OF cDNA PROBES FOR THE SPECIFIC DETECTION OF VIRUSES ASSOCIATED WITH THE VIRAL COMPLEX OF CUCURBITS. R. S. RICHARDS, M.R. BARBIERI, E. MACIEL-ZAMBOLIM, M.G. CARVALHO e F. M. ZERBINI. (Dep. de Fitopatologia/ Bioagro, UFV, Viçosa, MG, 36571-000). Produção de sondas de cDNA para a detecção específica de vírus associados ao complexo viral das cucurbitáceas.

Pumpkin (*Cucurbita moschata*) and zucchini squash (*C. pepo*) samples, collected in fields located in Igarapé and Uberlândia (Minas Gerais state) reacted strongly against antisera to zucchini yellow mosaic potyvirus (ZYMV), papaya ringspot potyvirus, watermelon strain (PRSV-W), and squash mosaic comovirus (SqMV) in Western blot assays. Once viral identity was confirmed in individual samples, viral RNA was extracted, and cDNA was synthesized by reverse transcription. Fragments of the viral genome were PCR-amplified, using specific primer pairs for each virus, designed based on sequences available at GenBank. These primers directed the amplification of the amino terminal region of the capsid protein (CP) gene of ZYMV and PRSV-W (293 and 371 bp, respectively), and the region between the large and small CP genes of SqMV (557 bp). These fragments were cloned into pBLUESCRIPT KS+, recombinant plasmids were transformed into *E. coli* DH5+, and the fragments were entirely sequenced. For all three viruses, homologies were greater than 90% with the sequences of the respective virus available at Genbank. These clones were used as probes in hybridization tests, allowing the detection of each virus separately, with no cross-reactivity.

Financial support: FINEP, CNPq, CAPES, FAPEMIG