

611

COMPARAÇÃO DO TÍTULO DO VÍRUS DA TRISTEZA DOS CITROS DE PLANTAS MATRIZES DE LARANJA EM CONDIÇÕES DE CAMPO, EM TELADO E EM BORBULHEIRA. D.R. STACH-MACHADO<sup>1</sup>, G.W. MÜLLER<sup>2</sup>, L.C.F. DIAS<sup>1</sup>, L.A. PERONI<sup>1</sup> & M.A. MACHADO<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Dept. de Microbiologia e Imunologia/UNICAMP; <sup>2</sup>Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC, Cx. Postal 04, CEP 13490-970, Cordeirópolis-SP). Comparison of CTV concentration in sweet orange plants from field, greenhouse and boudwood increasing block.

O sistema de produção de borbulhas e de manutenção de plantas matrizes de citros sob condições protegidas, com cobertura plástica ou telada, impõem às plantas grande oscilação de temperatura. Valores próximos a 48 oC podem ser registrados no verão. É conhecido que o *Citrus tristeza virus* (CTV), entre vários outros, pode ser eliminado dos tecidos em crescimento por termoterapia contínua. A questão que tem sido levantada é se o CTV poderia também ser eliminado em plantas mantidas em condições protegidas e de alta temperatura, com consequência para a estabilidade dos complexos protetivos. O objetivo desse trabalho foi o de comparar os títulos de CTV em brotações jovens e maduras de plantas matrizes no campo, em telados à prova de afídeos e em plantas de borbulheiras com cobertura plástica. Foram avaliadas, por DAS-ELISA com anticorpos monoclonais universais, as variedades 'Hamlin', 'Valência', 'Natal' e 'Pera'. Em todas as plantas foi detectado CTV, com o título variando entre variedades e entre brotações jovens e maduras. De modo geral, brotações jovens e vigorosas apresentam título menor. Não houve diferença no título de CTV entre plantas mantidas no campo e em condições protegidas, o que indica que as condições de temperatura não favorecem a eliminação do vírus.

Apoio: FAPESP e CNPq.

612

DESAFIO COM ISOLADO SEVERO DO VÍRUS DA TRISTEZA DOS CITROS (CTV) EM LARANJA 'PERA'. M.A. MACHADO, A.A. SOUZA, M.A.F. CORAT & G.W. MÜLLER. (Centro de Citricultura Sylvio Moreira – IAC Cx. Postal 04 CEP: 13490-970 Cordeirópolis-SP). Challenge with severe isolates of citrus tristeza virus in sweet orange 'Pera'. Limão 'Cravo', quando enxertado com laranja 'Pera', é suscetível ao complexo severo 'Capão Bonito' (CB) do *Citrus tristeza virus*; tangerina 'Cleópatra' apresenta tolerância. Na proteção cruzada, ao lado de características do vírus, as variedades copa e porta-enxerto também afetam a seleção de isolados dentro de uma mistura. O objetivo desse trabalho foi o de desafiar o complexo protetivo 'Pera IAC' do CTV com o complexo 'CB', inoculado com pulgão ou por enxertia, em plantas de laranja 'Pera', livres do vírus, e enxertadas em limão 'Cravo' e tangerina 'Cleópatra'. Mantidas em casa-de-vegetação as plantas foram avaliadas quanto a crescimento, presença e intensidade de caneluras e padrão dos complexos de CTV por SSCP do gene do capsídeo. Somente plantas de 'Pera' em 'Cravo', principalmente quando inoculadas via borbulhas com o complexo 'CB', mostram sintomas severos de tristeza. Quando sozinho o complexo 'Pera IAC' mostrou o mesmo padrão SSCP, independente do porta-enxerto e da forma de inoculação. O complexo 'CB' sofre alterações em função da forma de inoculação e do porta-enxerto. Quando desafiadas as plantas mostram padrão de SSCP misto, sugerindo seleção e mistura de isolados em ambos os complexos.

Apoio: FAPESP e CNPq

613

DETECTION AND IDENTIFICATION OF GEMINIVIRUSES INFECTING SOYBEAN AND ASSOCIATED WEEDS IN BRAZIL. R.N. MELLO<sup>1</sup>, A.M.R. ALMEIDA<sup>2</sup> & F.M. ZERBINI<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Dep. de Fitopatologia/BIOAGRO, UFV, Viçosa, MG, 36571-000, zerbini@mail.ufv.br; <sup>2</sup>Embrapa Soja, Cx. Postal 231, Londrina, PR, 86001-970). Detecção e identificação de geminivírus infectando soja e plantas invasoras associadas. Although soybean plants with geminivirus-like symptoms are often

found in the field, studies of incidence and losses have not been carried out. The soybean can be naturally infected by at least three geminiviruses: BGMV, EMV and SGMV. In this work, 32 samples of soybean, bean and weeds with virus-like symptoms, and 11 samples of symptomless soybean, were collected during Feb-Jul 1999 at Paraná, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul and Goiás, four of the main soybean-producing Brazilian states. Total DNA was extracted and viral infection was verified in the samples by PCR, using universal primers for the *Begomovirus* genus. This analysis indicated that fifteen samples were infected by a geminivirus. Direct sequencing of PCR products revealed that BGMV was infecting the bean samples, and LeMV was infecting *Leonurus sibiricus* and soybean. EMV and SGMV were not found. Two possibly new viral species were found, one infecting soybean and *Sida* sp. and the other infecting *Sida* sp. Further characterization of these new viruses is being carried out. No infection was detected in symptomless soybeans. The low incidence of geminivirus-like symptoms in the field during the time when samples were collected can be explained by the unusual low incidence of whiteflies during the 98/99 growing season.

Financial support: PRODETAB, CAPES, CNPq

614

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE UM ISOLADO BRASILEIRO DO *Maize rayado fino virus*. P.R. MELO<sup>1</sup>; E. OLIVEIRA<sup>2</sup>; R.O. RESENDE<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Lab. Mic. Elet., Dpto. de Biol. Cel., Universidade De Brasília, CEP 70910-900; <sup>2</sup>Embrapa CNPMS Caixa Postal 151, CEP 35701-970, Sete Lagoas-MG, e-mail: rresende@unb.br) Molecular characterization of a brazilian isolate of *Maize rayado fino virus*.

O *Maize rayado fino virus* é o membro-tipo do gênero *Marafivirus* de vírus de plantas que também inclui o *Oat blue dwarf virus* (OBDV) e o *Bermuda grass etched-line virus* (BELV). Sua ocorrência é restrita às Américas, podendo causar perdas de 10 a 40 % no peso da espiga madura em genótipos locais de milho e de até 100 % em cultivares introduzidas (BUSTAMANTE *et al.*, Plant Dis., 82(1):50, 1998). Este trabalho teve como objetivo a caracterização molecular de um isolado brasileiro do MRFV, bem como o aprimoramento da técnica de PCR para a sua detecção. Plantas apresentando sintomas do MRFV foram coletadas na área experimental da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas (MG), processadas para a extração de dsRNA e submetidas a RT-PCR. O fragmento amplificado de 633 pb, correspondente ao gene da capa proteica e parte região 3' não traduzida do vírus, foi clonado e sequenciado. Essa seqüência foi comparada com a de 14 isolados do MRFV provenientes da América do Norte, Central e do Sul e foi observada uma identidade de nucleotídeos variando de 90 a 96 %. O isolado brasileiro apresentou maior homologia com um isolado do Peru (95,7 %). A nível de aminoácidos a identidade variou de 89 a 96 %, sendo que a maior homologia foi observada com dois isolados da Costa Rica (95,7 %).

615

VIROSE DO MOSAICO COMUM DO MILHO NO BRASIL: CARACTERIZAÇÃO E INCIDÊNCIA. PAULA R. DE MELO<sup>1</sup>; E. OLIVEIRA<sup>2</sup>; R.O. RESENDE<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Lab. Mic. Elet., Depto. de Biol. Cel., Universidade de Brasília, CEP 70910-900; <sup>2</sup>Embrapa CNPMS, Cx. Postal 151, CEP 35701-970, Sete Lagoas-MG, e-mail: rresende@unb.br). Characterization and incidence of potyvirus-induced mosaic in maize crops of Brazil.

O vírus mosaico comum do milho pode ser causado por 4 potyvírus distintos: SCMV (*Sugarcane mosaic virus*), MDMV (*Maize dwarf mosaic virus*), JGMV (*Johnsongrass mosaic virus*) e SrMV (*Sorghum mosaic virus*) (SHUKLA *et al.*, Phytopathology, 79(2): 223, 1989). No entanto, essa classificação é baseada em estirpes da Austrália e EUA, e o status taxonômico dessas espécies ocorrendo em outros países, não está definido. O objetivo deste trabalho foi caracterizar as espécies de potyvírus que causam o mosaico comum do milho no Brasil, verificar sua ocorrência em regiões produtoras, e gerar métodos específicos para a detecção desses patógenos. Folhas de

milho com sintoma de mosaico foram coletadas em Guaíra (SP), Jardinópolis (SP), Itumbiara (GO), Santa Helena (GO) e Sete Lagoas (MG). A partir de RNA total dessas amostras e utilizando primers específicos para as 4 espécies do complexo, foi possível amplificar um fragmento de 1072 pb em amostra de Jardinópolis. Esta sequência apresentou maior índice de similaridade de nucleotídeos (86,2 %) e aminoácidos (88,8 %) com a estirpe SCMV-MDB. Análise de hibridização, com sonda não radioativa identificou a presença dessa estirpe em 92 % das amostras analisadas. Estes resultados indicam que a estirpe SCMV-MDB pode ser o principal agente etiológico desta virose no Brasil.

616

**PADRÕES DE SSCP DO CTV EM CLONES DE LARANJA 'PERA' DESAFIADOS COM O COMPLEXO 'CAPÃO BONITO' NO CAMPO.** G.W. MÜLLER, M.A. MACHADO, A.A. SOUZA, M.A.F. CORAT & J. TEÓFILO SOBRINHO. (Centro de Citricultura Sylvio Moreira, IAC, Cx. Postal 04, CEP 13490-970, Cordeirópolis/SP.) SSCP patterns of citrus tristeza virus in sweet orange 'Pera' challenged by the complex 'Capão Bonito' in the field.

Complexos severos do vírus da tristeza dos citros (*Citrus tristeza virus*, CTV), como o 'Capão Bonito' (CB), ocorrem no Estado de São Paulo afetando laranja 'Pera'. Pré-imunização com isolados protetivos é uma estratégia de controle geral. Porém, não são conhecidos isolados eficientes para proteção ao complexo 'CB'. Em condições de alta pressão de inóculo do complexo 'CB', foram plantados 27 clones de laranja 'Pera', que entre outros objetivos, estão sendo avaliados para o potencial protetivo de diferentes complexos do CTV. As plantas são avaliadas quanto ao crescimento, produção, sintomas de tristeza e padrão de CTV, avaliado por SSCP do gene do capsídeo. Após um ano e meio no campo, foram observados oito padrões distintos de SSCP, sendo quatro exclusivos para quatro clones, e padrões que agrupam dois, quatro, seis e onze clones. O padrão 'CB' não é único mesmo entre as plantas originalmente infectadas com esse complexo. Embora possa ser deduzida a ocorrência de um isolado comum em todas as plantas, existem variações entre eles possivelmente associada a inoculação cruzada por pulgões. Padrões de isolados considerados protetivos também já se apresentam misturados com outros componentes. Ainda não é possível estabelecer relação direta entre o padrão do vírus com o clone de laranja 'Pera' ou com as outras variáveis avaliadas.

Apoio: FAPESP e CNPq

617

**DIAGNÓSTICO BIOLÓGICO E SEROLÓGICO DO VÍRUS DA TRISTEZA DOS CITROS (CTV) EM MATRIZES NO NOROESTE DE SÃO PAULO.** G.W. MÜLLER<sup>1</sup>, M.A. MACHADO<sup>1</sup> & D.R. STACH-MACHADO<sup>2</sup>. (<sup>1</sup>CCSM/IAC, Cx. Postal 04, 13.490-970, Cordeirópolis, SP; <sup>2</sup> Depto Microbiologia e Imunologia/UNICAMP). Biological and serological detection of citrus tristeza virus (CTV) in mother trees in the northwestern of São Paulo State, Brazil.

O *Citrus tristeza virus* ocorre como mistura de estirpes, cuja composição final é função da variedade hospedeira, do pulgão preto e de condições ambientais. Assim, seleções regionais de plantas matrizes ou seleções de complexos potencialmente protetivos devem ser avaliados quanto a virulência e ocorrência de estirpes severas. Essa avaliação é feita por indexação biológica em limão 'Galego' e, complementarmente, por serologia com anticorpos monoclonais (MAB). Nesse trabalho matrizes comerciais de laranja ('Hamlin', 'Valência', 'Westin', 'Natal' e 'Pera') da região noroeste de São Paulo foram indexadas biológica e serologicamente com cinco monoclonais para CTV. Todas as plantas mostraram-se infectadas com o vírus, sendo a reação mais severa nas indexações de 'Valência' e 'Hamlin'. Os complexos de CTV estavam em alto título em todas as plantas. Um dos componentes do complexo 'Capão Bonito' pode ser detectado em baixa concentração, porém de modo geral, o padrão de CTV obtido não diferiu daquele da 'Pera' IAC (fraco e protetivo) utilizado como padrão.

Apoio: FAPESP e CNPq

618

**MELHORIA NA DETECÇÃO DO VÍRUS DO NANISMO AMARELO DA CEBOLA EM ALHO ATRAVÉS DA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE.** N.T.G. MULLER<sup>1</sup> & J. DANIELS<sup>2</sup>. (<sup>1</sup> Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Fitotecnia, Cx. Postal 354, 96010-900 Pelotas, RS, e-mail: nil@urisan.tche.br; <sup>2</sup> Embrapa Clima Temperado, Cx. Postal 403, 96001-970 Pelotas, RS, FAX: (53) 2758220), e-mail: daniels@cpart.embrapa.br). Improvement on *Onion yellow dwarf virus* detection in garlic through the polymerase chain reaction.

O aumento da produtividade do cultivo de alho no Brasil, depende da melhoria da qualidade da 'semente', em geral afetada por diversas doenças, entre as quais destacam-se as viroses. Para produção de material propagativo livre de vírus, é preciso dispor de métodos práticos e precisos de diagnose. Neste trabalho testou-se uma metodologia mais simples para a detecção do vírus do nanismo amarelo da cebola (*Onion yellow dwarf virus*-OYDV) em bulbos de alho, através da técnica de transcrição reversa e reação em cadeia da polimerase (reverse transcription-polymerase chain reaction - RT-PCR). Foram utilizados os iniciador es desenhados por Takaichi *et al.* (Plant Dis. 82: 694. 1998), mas a metodologia de preparo das amostras foi simplificada, utilizando o método de imuno-captura, descrito por Rhowani *et al.* (Plant Dis. 82: 880. 1998), bem como a metodologia de RT-PCR, realizando as reações enzimáticas em um tubo, através do método Titan (Titan™ One Tube RT-PCR System, Boehringer, Mannheim, Alemanha). Os resultados obtidos possibilitam planejar a utilização destas metodologias para a detecção de outros vírus que afetam a espécie, inclusive para os que ainda não dispõem de métodos práticos de diagnose.

619

**CHARACTERIZATION OF A BRAZILIAN ISOLATE OF APPLE STEM GROOVING VIRUS BASED ON COAT PROTEIN GENE ANALYSIS.** O. NICKEL<sup>1</sup>; T.V.M. FAJARDO<sup>1</sup>; G.B. KUHN<sup>1</sup> & W. JELKMANN<sup>2</sup>. (<sup>1</sup> Embrapa Uva e Vinho, Cx. Postal 130, 95700-000, Bento Gonçalves-RS, <sup>2</sup> BBA, D-69221, Dossenheim, Germany). Caracterização de um isolado brasileiro de ASGV baseada na análise do gene da capa protéica. ASGV is disseminated worldwide in fruit trees such as apple, pear, apricot and cherry, usually as a latent infection in most commercial cultivars. This study aimed at the molecular characterization of a Brazilian isolate of ASGV (UV01) infecting apple plants in Santa Catarina. RNA extracted from infected leaves was used as template for RT-PCR using specific primers. The amplified fragment was purified, cloned and sequenced. Using the primers 5641 and 6395r (Yoshikawa *et al.* Virology 191: 98. 1992), a 755 bp DNA fragment comprising the complete coat protein (CP) gene and part of the 3' non-coding region, was successfully amplified. The ORF representing the ASGV CP gene contained 714 nucleotides, thereby coding for a protein of 237 amino acids (aa) with a predicted  $M_r$  of about 27 kDa. This gene product corresponds in size to the CP protein of similar viruses. The nucleotide sequence of the CP gene of ASGV UV01 was compared with published sequences, and 93.3 % and 90.9 % identity was found with CTLV (Citrus tatter leaf virus) and ASGV from other geographical regions, respectively. When the deduced aa sequence of the CP gene of ASGV UV01 was aligned with other isolates, 98.7 % and 97.9 % identity was observed with CTLV and ASGV, respectively. These results indicate a small variability among isolates from distinct regions. ASGV and CTLV may be considered strains of the same virus rather than different Capilloviruses.

620

**DETECTION AND PARTIAL CHARACTERIZATION OF AN ISOLATE OF GRAPEVINE VIRUS B IN CORKY BARK-AFFECTED GRAPEVINES.** O. NICKEL<sup>1</sup>; C.M. CHAGAS<sup>2</sup>; T.V.M. FAJARDO<sup>1</sup> & G.B. KUHN<sup>1</sup>. (<sup>1</sup> Embrapa Uva e Vinho, Cx. Postal 130, 95.700-000, Bento Gonçalves, RS; <sup>2</sup> Instituto Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves 1252, 04014-002, São Paulo, SP). Detecção e caracterização parcial de um isolado de Grapevine virus B em videiras infectadas com o intumescimento dos ramos da videira.

The isolate of Grapevine virus B (GVB) was obtained by indexing