

891

Duplo PCR para detecção simultânea de begomovírus e crinivírus em tomateiro. Barbosa, JC¹; Pazim, RA¹; Rezende, JAM¹. ¹Dept. Entomol., Fitopatol. e Zool. Agrícola, ESALQ/USP CEP 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil. E-mail: jcbarnos@esalq.usp.br. Duplex PCR for simultaneous detection of begomovirus and crinivirus in tomato.

No Brasil plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) podem ser infectadas por diferentes espécies de begomovírus e por um crinivírus (*Tomato chlorosis virus* - ToCV), recentemente constatado em São Paulo, Espírito Santo, Goiás e Minas Gerais. Esses vírus têm em comum a transmissão pelo aleyrodídeo *Bemisia tabaci* biótipo B e podem ocorrer em infecções mistas. Esse trabalho teve por objetivo estabelecer um protocolo para a detecção simultânea desses vírus por PCR. RNA e DNA totais foram extraídos, separadamente, de tomateiros sabidamente infectados por begomovírus e ToCV. cDNA foi sintetizado a partir do RNA total com primer específico para os crinivírus que infectam o tomateiro [HS12 - 5' cc(gt)ccacaaa (a/g)tcgta 3']. O cDNA mais o DNA total foram usados em uma reação de PCR com primers específicos para o ToCV (ToC5 - 5' ggttggat ttg-gtactacattcagt 3' / ToC6 - 5' aaactgcctgcatgaaagtctc 3') e para o DNA-A de begomovírus (PAL1v1978 - 5' gcatctgcaggccacaty gtcttgcngt 3' / PAR1c715 - 5' gattctgcagttatrttctccatcca 3'). Os produtos da PCR foram fragmentos de aproximadamente 463 pb e 1.300 pb, correspondentes as regiões do RNA do ToCV e do DNA-A de begomovírus, respectivamente. Esses fragmentos foram seqüenciados e confirmaram as identidades dos vírus em análise por duplo PCR. Há necessidade de validação do teste em amostras com infecção dupla em campo.

893

Obtenção de linhagens de feijão-caupi com resistência múltipla a vírus adaptadas ao Estado do Rio de Janeiro. Barros, GB¹; Oliveira, CRR²; Nogueira, MSR²; Silva, SAM¹; Freire Filho, FR²; Brioso, PST¹. ¹Laboratório Oficial de Diagnóstico Fitossanitário/Área de Fitopatologia/DEF/IB/UFRRJ, CP 74585, CEP 23851-970, Seropédica, RJ; ²Embrapa Meio-Norte. E-mail: gislannebio@yahoo.com.br. Obtaining of cowpea lineages with multiple resistance to virus adapted to the State of Rio de Janeiro.

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) é uma importante fonte de proteína vegetal. No Estado do Rio de Janeiro, o cultivo desta leguminosa vem apresentando grande perspectiva de renda para os agricultores; no entanto, a mesma é afetada por viroses. Visando a obtenção de linhagens de feijão-caupi com resistência múltipla ao CPSMV (*Cowpea severe mosaic virus*) e ao CABMV (*Cowpea aphid borne mosaic virus*) foram realizados cruzamentos entre 'Capela', resistente ao CABMV (proveniente da Embrapa Meio-Norte) e a linhagem RJ-04-48, resistente ao CPSMV (proveniente do Laboratório Oficial de Diagnóstico Fitossanitário - UFRRJ). As sementes F2, obtidas por autofecundação a partir da Geração F1, foram semeadas em copos descartáveis contendo solo autoclavado, em gaiolas com tela anti-afídeo. As plantas F2 foram inoculadas mecanicamente, seis dias após o plantio, com os isolados virais. Treze progênies se comportaram como resistentes aos dois vírus. Essas progênies serão submetidas à retrocruzamentos com o parental recorrente até obter progênies homocigóticas e, conseqüentemente, a obtenção de linhagens que sejam resistentes aos dois vírus e com tipo de grãos aceito pelos produtores e consumidores do Estado. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq.

892

Ocorrência da leprose dos citros no estado de Roraima. Halfeld-Vieira, BA¹; Marsaro Júnior, AL¹; Kitajima, EW²; Pereira, JA³; Freitas-Astúa, J^{3,4}; Navia, D⁵. ¹Embrapa Roraima, CP 133, Boa Vista, RR; ²NAP/MEPA - ESALQ/USP; ³Centro APTA Citros Sylvio Moreira-IAC, Cordeirópolis, SP; ⁴Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, BA; ⁵Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. E-mail: halfeld@cpafrr.embrapa.br. Occurrence of citrus leprosis in the State of Roraima.

A citricultura vem crescendo em importância em Roraima e novas pragas e doenças têm sido relatadas no Estado. Foram observadas folhas, ramos e frutos de laranja doce nos municípios de Boa Vista e Alto Alegre exibindo lesões circulares cloróticas e necróticas típicas de leprose. Nessas plantas foi constatada também a presença do ácaro *Brevipalpus phoenicis*, vetor do vírus da leprose dos citros C (CiLV-C). Regiões de tecido lesionado foram utilizadas para extração de RNA total e análise ao microscópio eletrônico de transmissão (MET). Para a RT-PCR foram utilizados dois pares de primers que amplificam regiões específicas do CiLV-C, uma do gene codificador da proteína de movimento (mp) e outra da p29. Foram observadas bandas de fragmentos de DNA dos tamanhos esperados em RT-PCR e a presença partículas virais e viroplasmas característicos em MET em duas amostras sintomáticas. Este é o primeiro relato da presença da leprose dos citros no Estado de Roraima. Apoio Financeiro: Embrapa. Bolsista CNPq.

894

Caracterização molecular do gene da proteína capsial do *Prune dwarf virus*. Fajardo, TVM¹; Poppe, JK²; Eiras, M³; Nickel, O¹. ¹Embrapa Uva e Vinho, CP 130, CEP 95700-000, Bento Gonçalves, RS, Brasil; ²Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, UERGS, Bento Gonçalves, RS; ³CPDSV, Instituto Biológico, São Paulo, SP. E-mail: thor@cnpuv.embrapa.br. Molecular characterization of the *Prune dwarf virus* coat protein gene.

O vírus do nanismo da ameixeira (*Prune dwarf virus*, PDV) (*Bromoviridae*, *Iarvirus*) é um dos principais patógenos da cultura do pessegueiro em vários países, incluindo o Brasil. Também pode infectar outras espécies de *Prunus* como a ameixeira, nectarineira, cerejeira, amendoeira e damasqueiro. O objetivo deste trabalho foi caracterizar o gene da proteína capsial (CP) do isolado de PDV, obtido de pessegueiro cv. Marli, proveniente de Bento Gonçalves (Pinto Bandeira), RS. O RNA total foi extraído com kit comercial e a RT-PCR foi conduzida conforme protocolo-padrão, utilizando-se os oligonucleotídeos 1214-1235 (viral) e 1849-1870 (compl.) baseados na seqüência NC_008038 (GenBank). O fragmento amplificado (657 pb) foi clonado, dois clones seqüenciados e as seqüências obtidas comparadas a outras do banco de dados GenBank. A seqüência de nucleotídeos do gene da CP do isolado MC1 foi depositada no GenBank (FJ360750). As identidades verificadas entre o isolado MC1 e 24 isolados deste vírus variaram de 92,2-95,5%, para nucleotídeos, e de 94,4-96,7% para aminoácidos deduzidos, compreendendo várias hospedeiras de diferentes origens geográficas. A maior identidade foi verificada com o isolado PD8 de cerejeira da Turquia (EF524271). O conhecimento da variabilidade viral é importante para a definição da diagnose e controle da doença.