

1

Confirmação da variabilidade genética entre isolados do fitoplasma do amarelecimento letal do coqueiro (praga ausente no Brasil) utilizando região que codifica genes da proteína ribossomal. Carmo LST¹; Dollet, M²; Marinho, VLA¹.¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, PqEB, CP 02372, CEP 70770-900, Brasília, DF, ²CIRAD, Montpellier, France. E-mail: marinho.vera@gmail.com. Confirmation of the genetic variability among isolates of coconut lethal yellowing phytoplasma based on the ribosomal protein genes

Para melhor conhecimento da variabilidade de isolados do fitoplasma do amarelecimento letal do coqueiro (*Coconut lethal yellowing* - LY) foram utilizados genes que codificam a proteína ribossomal-rp e mobilidade eletroforética dos ADNs heteroduplexes (HMA). Fragmentos de DNA de ± 1000 pb, cobrindo a região 3' da rps 19 e a região rpl 22 e rps 3, foi amplificado com os "primers" específicos para o LY África e Caribe e submetidos a análise por HMA. Produto de PCR amplificado com os "primers" LY-Caribe, a partir de ADN obtido de um isolado de Cuba, foi usado como referência e combinado com cada um dos produtos PCR dos outros isolados amplificados com os "primers" do LY-Caribe ou LY-África e submetidos à eletroforese em gel de poli-acrilamida a 5%. Os heteroduplexes formados sugerem que os isolados da Tanzânia são mais distantes dos isolados de Gana e Moçambique, que formaram heteroduplexes, o que caracteriza variabilidade genética entre eles. Nas amostras do Caribe houve formação de heteroduplex com o isolado da República Dominicana, sugerindo uma diversidade entre os isolados do LY Caribe. Esses resultados diferem do apresentado por Marinho et al, 2008, quando da utilização de "primers" P1 e P7, com a divulgação de dois grupos distintos para isolados da África e um grupo único formado pelos isolados do Caribe. Os resultados são preliminares e demonstram a necessidade de maiores estudos para estabelecer a variabilidade genética dos isolados do LY. Apoio FINEP.

3

Otimização de IC-PCR (Imunocaptura-PCR) para detecção de *Erwinia psidii*. Silva, CF¹, Santiago, LAAC¹; Oliveira, NPD¹; Torres, P¹; Rodrigues, DS²; Marques, ASA²; Ferreira, MASV¹.¹Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, CEP 70910-900, Brasília - DF; ²Embrapa Rec. Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, Brasil. E-mail: claudenias@gmail.com. Optimization of IC-PCR (immunocapture-PCR) for detection of *Erwinia psidii*.

A seca-dos-ponteiros, causada por *Erwinia psidii*, é uma das principais doenças da goiabeira no Brasil e sua disseminação é favorecida por mudas contaminadas. O desenvolvimento de métodos diagnósticos mais eficazes poderia reduzir a disseminação da bactéria nas áreas produtoras. O objetivo desse trabalho foi otimizar o método IC-PCR para detecção e identificação de *E. psidii* e determinar sua sensibilidade. Foi utilizado o antissoro policlonal As15.1, produzido contra a estirpe-tipo IBSBF 435. Preparou-se suspensão a partir de culturas puras de *E. psidii*, com transmitância de 8% (~108 ufc/mL) seguida de diluições seriadas até 10 ufc/mL. As etapas foram: sensibilização da microplaca de polipropileno com 100 μ L do antissoro diluído 1:200; incubação overnight a 4°C; lavagem com PBS-Tween 0,2%; adição das suspensões e incubação a 4°C overnight; lavagem final das placas com PBS-Tween e adição dos reagentes da PCR, contendo os iniciadores Ep2L/Ep2R, desenhados para *E. psidii*. Detectou-se amplificação até a concentração de 105 ufc/mL. O método foi avaliado com brotações de goiabeira inoculadas com suspensão da bactéria a 107 ufc/mL e os resultados foram positivos quando as folhas foram ligeiramente esmagadas em tampão contendo sulfato de sódio, PVP, azida sódica e albumina. Apoio: FAPDF e PIC-CNPq.

2

Escala diagramática para avaliação da mancha-aquosa do melão. Zoccoli, DM; Damasceno, JPS; Marques, ASA. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, CP 02372, CEP 70770-970, Brasília, DF, Brasil. E-mail: deborazoccoli@yahoo.com.br. Diagramatic scale for assessment of melon bacterial fruit blotch.

A mancha aquosa do melão (*Cucumis melo*), causada pela bactéria *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, é a principal doença da cultura nas regiões produtoras do Brasil. Com o objetivo de padronizar avaliações de genótipos e apoiar estudos epidemiológicos do patossistema foi estabelecida uma escala diagramática para quantificar a severidade da mancha aquosa. Em duas épocas distintas, 60 plantas foram inoculadas com suspensão bacteriana na concentração de 107 ufc/mL. Quinze dias após a inoculação, foram coletadas 50 folhas por época de plantio, com diferentes níveis de severidade da doença, para avaliação. As folhas foram fotografadas, para determinação da severidade da doença em programa computacional. Foi estabelecida uma escala descritiva com oito níveis: 0- sem sintomas; 1- até cinco lesões por folha, delimitadas pelas nervuras secundárias, $\leq 0,3$ mm; 2- mais de cinco lesões por folha, mais de uma folha por planta e diâmetro das lesões ≤ 1 mm; 3- coalescência de lesões com necrose dos tecidos foliares, em área $< 1/4$ da folha; 4- lesões afetando áreas $> 1/4$ e $< 1/2$ da mesma; 5- mais de 50% das folhas da planta com sintomas até o nível 2, ou lesões afetando área superior a 50% da mesma folha; 6- planta com folhas mortas, a bacteriose afetando mais de 50% das folhas em diferentes níveis; 7- morte da planta. Uma escala quantitativa está sendo elaborada e será validada segundo os parâmetros de precisão e acurácia. Apoio financeiro: CNPq.

4

Desenvolvimento de método para inoculação e avaliação da reação de genótipos de soja à pústula bacteriana. Soares, RM. Embrapa Soja, Cx. Postal 231, 86001-970, Londrina, PR, Brasil. E-mail: rafael@cnpso.embrapa.br. Development of method for inoculation and evaluation of soybean genotypes reaction to bacterial pustule

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método prático e consistente para inocular e avaliar a reação de genótipos de soja à pústula bacteriana, causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*. O método de inoculação utilizou um pincel tamanho 3/4" - 19 mm, umedecido em suspensão da bactéria (108 ufc.mL-1), que foi passado na superfície inferior do primeiro trifólio das plantas, 15 dias após a emergência. Foram inoculadas 24 cultivares de soja em casa de vegetação. A avaliação foi feita 10 dias após a inoculação. Para comparação, foi realizado teste utilizando a inoculação da bactéria através de pulverização da suspensão nas plantas. A reação foi classificada em suscetível (S), moderadamente resistente (MR) ou resistente (R). Nas cultivares suscetíveis, ocorreu encharcamento nos tecidos feridos, com formação de pústulas ao redor, circundadas por halo amarelo. Nas moderadamente resistentes os sintomas foram mais suaves e de evolução mais lenta que nas suscetíveis. E, nas cultivares resistentes, no tecido ferido pelo pincel, ocorreu apenas secamento e morte do tecido, sem desenvolvimento do patógeno. O método mostrou-se eficiente e mais severo que a inoculação com pulverização e foi denominado "método do pincel".