

811

**Deteção de *Stenocarpella* sp., em sementes de milho inoculadas, por meio da técnica de PCR.** Barrocas, EN<sup>1</sup>; Machado, JC<sup>1</sup>; Almeida, MF<sup>1</sup>; Botelho, LS<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Fitopatologia—UFLA, CP 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG. Email: ellenoly@gmail.com. Detection of *Stenocarpella* sp. in infected seeds of maize by PCR technique.

Sementes de milho infectadas por *Stenocarpella* sp. são importantes fonte de inóculo das podridões do milho em novas áreas de cultivo, além de serem organismos produtores de micotoxina, causadores de grãos ardidos. O número de sementes infectadas dentro de um lote e sua manifestação assintomática pode comprometer o diagnóstico preciso desses patógenos. Seu método de detecção baseia-se na observação das sementes submetidas ao teste de incubação em substrato de papel ou meio agarizado, que podem requerer uma incubação mais prolongada. O objetivo nesse trabalho foi checar a aplicação da técnica de PCR, partindo-se de 'primers' já disponíveis para *S.maydis*, usando-se para isto sementes infectadas artificialmente pela técnica de condicionamento osmótico. A inoculação das sementes foi realizada pela exposição das mesmas às colônias de *Stenocarpella* por 72 horas sob condições controladas e gerando níveis de infecção de zero, 1, 2, 10, 20 e 100 %. Os 'primers' utilizados foram sensíveis para detectar até 2% de sementes infectadas, mas não foram sensíveis o suficiente para distinguir as duas espécies de *Stenocarpella*. A técnica, PCR, foi sensível para detectar o patógeno tanto em cultura pura como em associação com sementes. A concentração necessária para a detecção de *Stenocarpella* sp. em cultura pura foi de 200 pg de DNA. Trabalho desenvolvido com apoio da FAPEMIG e CNPq.

813

**Obtenção de protoplastos de *Stenocarpella maydis* e sua transformação por meio de marcadores tipo GFP.** Siqueira, CS<sup>1</sup>; Botelho, LS<sup>1</sup>; Pedrozo, R<sup>1</sup>; Machado, JC<sup>1</sup>; Figueira, AR<sup>1</sup>; Barrocas, EN<sup>1</sup>. <sup>1</sup>DFP/Patologia de Sementes – UFLA, CP 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil. E-mail: kerolpet@gmail.com. Obtaining of protoplasts *Stenocarpella maydis* and transformation through markers type GFP.

Um dos principais fungos que se associam às sementes de milho é *Stenocarpella maydis*, agente causal de podridões. Torna-se então, importante a realização de estudos dos mecanismos de infecção e da dinâmica de transmissibilidade deste fungo veiculado por sementes de milho. Para isso, uma ferramenta importante tem sido a transformação de fungos por meio de marcadores moleculares, como o GFP e neste trabalho o objetivo foi a obtenção de protoplastos e este tipo de transformação para o referido fungo. Os protoplastos foram obtidos do fungo crescido em meio líquido BD, sendo o seu micélio seco e colocado juntamente com a enzima (*lyzing enzyme*) em diferentes estabilizadores osmóticos: sacarose, sorbitol, MgSO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>Cl, NaCl, KCl. Para transformação, a concentração de 0,2-5x10<sup>8</sup> protoplastos/mL foi acrescida do plasmídeo e misturada ao meio de regeneração. Os protoplastos íntegros e em quantidades significativas foram obtidos de crescimento por 48-56 hs com o uso do estabilizador KCl. O fungo transformado cresceu devidamente na presença do antibiótico Hlgromicina B e após exame em microscópio de epifluorescência, apresentou fluorescência; sendo seu crescimento e características morfológicas *in vitro* semelhantes aos isolados de *S.maydis* não transformados Trabalho realizado com apoio do CNPq, FAPEMIG e CAPES.

S240

812

**Transformação de *Sclerotinia sclerotiorum* com os genes marcadores GFP e RFP.** Botelho, LS<sup>1</sup>; Machado, JC<sup>1</sup>; Figueira, AR<sup>1</sup>; Barrocas, EN<sup>1</sup>. <sup>1</sup>DFP/UFLA, CP 3037, CEP 37200-000, Lavras – MG. E-mail: luabotelho@hotmail.com. Transformation of *Sclerotinia sclerotiorum* with GFP and RFP gene markers

*Sclerotinia sclerotiorum* é um dos principais patógeno em muitas espécies vegetais em todo o mundo, causando prejuízos na cultura do feijão e soja. A doença "mofo branco" causa redução de estande, debilitação e morte das plantas e pode ser transmitido por sementes. Para investigar a dinâmica e mecanismos de transmissão do referido patógeno via sementes, este trabalho teve como objetivo a transformação genética do mesmo utilizando-se de genes marcadores de expressão tipo GFP (*Green Fluorescent Protein Gene*) e (*Red Fluorescent Protein Gene*) que codificam proteínas que fluorescem quando excitadas a 558 e 395nm, respectivamente. Para obtenção dos transformantes foram seguidos protocolos já descritos em literatura com algumas adaptações. Na obtenção dos protoplastos foi utilizado micélio do fungo com 5 dias de idade, produzido em meio de cultura BDA, ao qual foram adicionados 10 mg da Lyzing enzima para cada 3 mL de solução osmótica NaCl/KCl (0.7M), sob agitação a 75 rpm por 3 horas a 28°C. Os plasmídeos utilizados foram multiplicados com sucesso em células competentes e a extração e purificação do DNA foram verificadas através da eletroforese. Após a transformação, observação das colônias dos isolados foram realizadas com auxílio de microscópio confocal/fluorescência, pelos quais foi possível comprovar a incorporação dos marcadores fluorescentes tipo GFP e RFP. Trabalho em desenvolvimento com apoio da FAPEMIG e CNPq.

814

**Avaliação de sementes de soja tratadas com fungicidas, inseticidas e micronutrientes.** Fernandes, NC<sup>1</sup>; Lobo Jr, M<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Universidade Federal de Goiás/UFG, CP 131, CEP 74001-970, Goiânia, GO, Brasil. <sup>2</sup>Embrapa Arroz e Feijão, C.P. 179, CEP 75375-000, Santo Antônio de Goiás, GO, Brasil. E-mail: nathyagro@hotmail.com. Evaluation of soybean seeds treated with fungicides, insecticides and micronutrients.

O objetivo do trabalho foi avaliar o desempenho de diferentes cultivares de soja tratadas com produtos fitossanitários e micronutriente. As cultivares 'Valiosa' e 'MSoy 6101' foram submetidas aos seguintes tratamentos: DNF012(30ml); DNF012(45ml); DNF012 + Nitrofosktopt (30ml+100ml); DNF012 + Nitrofosktopt (45ml+100ml); Basfoliar CoMolHC + Nitrofosktopt (40ml+100ml); DNF012 + Nitrofosktopt + MaximXL + Standak(30ml +100ml+200ml+ 100ml); DNF012 + Nitrofosktopt +MaximXL+ Cruiser(30ml + 100ml + 200ml + 200ml); DNF012 + Nitrofosktopt + (Vitavax + Thiram) + Derosal + CropStar (30ml + 100ml + 250ml + 100ml + 20ml) ;DNF012 + Nitrofosktopt + (Vitavax + Thiram) + Derosal + Standak (30ml + 100ml + 250ml + 100ml + 100ml) e testemunha/100kg sementes. Todos os tratamentos foram submetidas aos testes de sanidade, germinação, vigor e velocidade de emergência. Em ambas as cultivares, os tratamentos com micronutrientes + fungicidas foram os melhores no controle de fungos de armazenamento, obtendo menor velocidade de emergência as testemunhas e o 6° tratamento (Scott-Knott 5%). Para a cv. Valiosa maior vigor e controle de até 100% de *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani* nos tratamentos com DNF 012, Basfoliar CoMol HC, Nitrofosktopt e fungicidas. Em sementes da cv. MSoy 6101, os fungicidas conferiram um melhor controle de *R. solani*, porém menor germinação, vigor e velocidade de emergência, sendo os mesmos melhores nos 4 primeiros tratamentos.

Tropical Plant Pathology 34 (Suplemento), agosto 2009