

GER-016

Otimização na obtenção e regeneração de protoplastos de *Colletotrichum lindemuthianum*. Ishikawa FH, Barcelos QL, Souza EA, Dias ES. Departamento de Biologia, UFLA, Lavras, MG, Brasil. E-mail: francinehi@hotmail.com.br. Isolation and regeneration of *Colletotrichum lindemuthianum* protoplasts.

Protoplastos são ferramentas biológicas importantes no estudo de fungos filamentosos. O objetivo deste trabalho foi otimizar o isolamento e regeneração de protoplastos de *Colletotrichum lindemuthianum* visando a utilização na transformação genética. Isolado LV 115 (raça 65) de *C. lindemuthianum* foi avaliado quanto a obtenção de protoplastos em diferentes estabilizadores osmóticos (tipo e concentração), tempo de digestão, quantidade de enzima e idade micelial. Maior produção de protoplastos foi obtida utilizando-se micélio com 48 horas, com estabilizador osmótico NaCl 0,6M em tampão fosfato 0,01M (pH 5,5). O tempo de digestão ideal foi de 3 horas e concentração da enzima *Lysing Enzymes* (Sigma) foi de 30 mg/mL. Após a obtenção dos protoplastos em condições adequadas, a suspensão de protoplastos foi examinada quanto a capacidade de regeneração da parede celular em meio acrescido de diferentes estabilizadores, sendo os melhores resultados obtidos em Sacarose e Manitol. Apoio Financeiro: CNPq e FAPEMIG.

GER-017

Reação de genótipos de guaranazeiro à antracnose no Amazonas. Araújo JCA, Pereira JCR, Gasparotto L, Arruda MR. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, Brasil. E-mail: cristino.araujo@cpa.embrapa.br. Reaction of genotypes of guaraná to anthracnose on the Amazonas State - Brazil.

A antracnose, causada por *Colletotrichum guaranicola*, é a doença mais severa do guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*). A precipitação pluvial e a umidade relativa, prevalentes no Amazonas, são fatores da alta incidência e severidade da doença no Estado, induzindo perdas significativas e contribuindo para a instabilidade da produção, até mesmo de cultivares resistentes. Assim, objetivou-se avaliar a severidade da antracnose de guaranazeiro nos genótipos CMA 347, CMA 372 e CMU 952. Utilizou-se escala diagramática com os seguintes valores: 0%, 1%, 5%, 10%, 15%, 25%, 50% e 75%, do limbo foliar lesionado. As avaliações foram feitas em setembro de 2007, período seco, e abril de 2008, período chuvoso, utilizando-se 10 plantas de cada genótipo, tomadas ao acaso, em plantio comercial do município de Presidente Figueiredo. Obtiveram-se os seguintes valores de severidade média para as duas avaliações: CMU 952 - 21,02% (8,0% a 35%) e 14,10% (0,25% a 55,0%); CMA 347 - 2,52% (0,0% a 8,75%) e 6,47% (0,0% a 32,5%); CMA 372 - 1,37% (0,25% a 6,5%) e 18,85% (0,0% a 62,75%), respectivamente. Dessa forma, os genótipos CMA 347 e CMA 372 comportaram-se como resistentes e o CMU 952, como moderadamente resistente. A maior variação de valores de severidade no CMA 372 pode indicar uma resistência não estável. Apoio financeiro: Agropecuária Jayoro Ltda.

GER-018

Soil DNA extraction method for *V. dahliae* PCR detection. Clemente GF, Laich F, Quiroz F, Escande A. Unidad Integrada Balcarce (INTA - FCA, UNMdP). C.C. 276 (7620) Balcarce, Bs As, Argentina. E-Mail: gclemente@balcarce.inta.gov.ar. Método de extração do DNA para a detecção de *V. dahliae* em solo por PCR.

The *V. dahliae* wilt is an endemic and very important disease of sunflower in Argentina. Because of its monocyclic nature is important to quantify the soil inoculum (microesclerotia) to manage this disease. Some culture media based tests (which are time consuming and make difficult to differentiate *V. dahliae* from the non pathogen *V. tricorpus*) and PCR tests to detect *V. dahliae* were reported. Our objective is to develop a reliable, easy and useful soil DNA extraction method for *V. dahliae* PCR detection. From field soil samples with sunflower wilt history (90% disease incidence) soil aliquots were taken and hydrated in skim milk solution (0,4 %). DNA was extracted using a modified Volossiuk et al (1998) protocol testing the use of common phenol buffer instead the phenol buffer plus M-cresol and Hidroxyquinoline, the centrifugation before to add the extraction buffer and 50 °C sample incubation. *V. dahliae* DNA were add to some soil samples in order to check DNA degradation. PCR reactions with *Verticillium* sp. primers and nested PCR reactions with *V. dahliae* primers were carried out testing target volumes from first PCR into the second one. There were no differences between phenol types or incubation; but centrifugation before the addition of extraction buffer had positive results on PCR tests (450 bp characteristic band was obtained). The centrifugation separates the soil debris and prevents PCR interferences. There were not differences between target volumes in nested PCR. These results improve a soil DNA extraction process to develop future experiments. Financial Support: INTA, PNCER2344.

GER-019

Aumento da ocorrência de morte de pessegueiros devido ao inverno rigoroso e irregular no ano de 2007 no Rio Grande do Sul. Ueno B. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. E-mail: berueno@cpact.embrapa.br. Increase of peach tree dying occurrence due to severe and irregular winter in the year of 2007 in Rio Grande do Sul State.

O pessegueiro, no sul do Rio Grande do Sul, vem enfrentando nos últimos anos, o problema de morte de plantas, mais conhecida como morte precoce do pessegueiro (MPP), uma síndrome que envolve vários fatores abióticos e bióticos. Foi realizado um levantamento de agosto a outubro em pomares de pessegueiro da região de Pelotas em 2007, onde se visitou 30 propriedades, que representam 680.000 plantas. O frio intenso e irregular do inverno de 2007 intensificou a MPP. No geral, a incidência de MPP foi maior nas cultivares 'Sensação', 'Precocinho', 'Granada' e 'Jubileu', embora tenha ocorrido em outras cultivares com menor intensidade. Houve casos de talhões com mortandade de plantas acima de 80%. Nas inspeções de campo foi detectado que havia muita variabilidade na incidência de plantas mortas dentro de um mesmo talhão, esse fato foi atribuído ao porta-enxerto, pois a maioria das sementes utilizadas para obtê-los era uma mistura de caroços de diferentes cultivares não identificadas. Somente em 3 casos foi possível identificar o porta-enxerto, 'Cerrito' e 'Morro Redondo' com alta incidência de morte de plantas e 'Turquesa' sem problemas, apesar de estar em um talhão com muita planta morta. Baseando nessas informações, um programa de seleção massal de porta-enxerto, em pomares com problemas, está sendo iniciado na Embrapa Clima Temperado.