

seu genoma é um requisito. Até o momento, obtivemos seqüências que somam cerca de 65% do genoma viral, utilizando uma estratégia que envolve reações de RT e RAPD para a construção de uma biblioteca de cDNA. Fragmentos de DNA amplificados a partir do uso de nove oligonucleotídeos (10 mers) foram clonados e submetidos a sequenciamento. Setenta clones foram seqüenciados, forward e reverse. As 140 seqüências, submetidas à análise no programa CAP3, geraram nove contigs, que somados chegam a 7.828 nucleotídeos. Os contigs foram submetidos à análise pelo programa BlastX, e comparados com o Database do NCBI. Análises de Dot-blot utilizando seqüências pertencentes a dois contigs mostraram que estas pertencem ao dsRNA viral e não ao DNA total de mamoeiro.

254

DIAGNOSE PRECOCE DA MELEIRA DO MAMOEIRO.
TAVARES, E. T.¹; TATAGIBA, J. S.²; VENTURA, J. A.² & SOUZA JR., M. T.¹ ('Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia & ²INCAPER E-mail: msouza@cenargen.embrapa.br) Early diagnosis of papaya sticky disease.

A "meleira" do mamoeiro (*Carica papaya* L.), relatada pela primeira vez na segunda metade da década de 80, encontra-se, hoje, presente nas principais regiões produtoras nacionais, tornando-se, em algumas delas, o principal fator limitante desta cultura. Os sintomas caracterizam-se por exsudação excessiva de látex mais fluido dos frutos, que enegrecidos devido à oxidação do látex, tornam-se impróprios para a comercialização. O agente causal, um vírus de partícula isométrica com 40-50 nm de diâmetro, possui uma única molécula de dsRNA de cerca de 12 kb, o que leva a crer que se trata de uma espécie nova. A diagnose desta doença é feita por sintomas que aparecem principalmente nos frutos, permitindo que uma planta infectada permaneça no campo vários meses antes de ser diagnosticada. Outra forma de diagnose é a extração de dsRNA a partir látex/folha, método laborioso, e que não se presta à detecção em larga escala. Visando o desenvolvimento de sistemas de diagnose precoce de "meleira" que pudesse ser usado em larga escala, nosso grupo desenvolveu um método que utiliza o látex extraído dos frutos, folhas ou caule de plantas. Látex em tampão citrato (1:1, v/v) é submetido a extração de dsRNA utilizando-se proteinase K. A presença do vírus é confirmada pela visualização do seu dsRNA em gel de agarose (1%) em 1X TBE. Com esta técnica temos conseguido resultados confiáveis a ponto de diagnosticar precocemente a "meleira" em plantas ainda jovens e em plantas assintomáticas.

255

DOENÇA AZUL DO ALGODEIRO: POSSÍVEL NÃO LUTEOVÍRUS. TAKIMOTO, J. K.; SAWAZAKI, H. E.; SOUZA-DIAS, J. A. C. & CIA, E. (IAC E-mail: ju_taki@yahoo.com.br) Cotton blue disease, a possible no luteovirus.

A doença azul do algodeiro, ou azulão, é uma virose em destaque na cotonicultura nacional. Apesar do agente causal não estar bem caracterizada ainda, transmissão por enxertia e afídeo vetor *Aphis gossypii* são comuns. Na tentativa de obtenção de métodos alternativos para detecção desta virose, testes sorológicos foram realizados com sucesso utilizando anti-soro para *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) raças PAV e RPV (http://saenzpe.inta.gov.ar/Fito/enf_azul.htm). Tentativas com anti-soro policlonal para outros luteovírus foram testados: *Potato leafroll virus* (PLRV), do kit CNPH-EMBRAPA; *Beet western yellows virus* (BWYV), do kit Agdia Inc.-USA; BYDV (raça PAV e MAV), cortesia da Dra. Jurema Schons (U. Passo Fundo-RS) e *Sugarcane yellow leaf virus* (SYLV), cortesia do Dr. Marcos Gonçalves (APTA/IB). Testes moleculares (RT-PCR) foram também efetuados com primers universais para o PLRV (SOUZA-DIAS *et al.*, 1999 – Am J of Potato Res 76:17-24; SOUZA-DIAS *et al.*, 2001 – Anais VII Sem

Nac de Bat Sem) e para o grupo luteovírus (ROBERTSON *et al.*, 1991 – J of Gen Vir 72:1743-1777). Os resultados, entretanto, têm sido negativos em plantas de algodão com sintomatologia típica (transmissão experimental). Com base nestes dados, não se pode afirmar ainda que o vírus causador da doença azul do algodeiro seja membro da família Luteoviridae. Avanços neste estudo são necessários para epidemiologia e controle dessa virose.

256

DOENÇA AZUL DO ALGODEIRO: UMA TENTATIVA DE IDENTIFICAÇÃO HISTOLÓGICA. TAKIMOTO, J. K.; QUEIROZ-VOLTAN, R. B.; SOUZA-DIAS, J. A. C. & CIA, E. (IAC E-mail: ju_taki@yahoo.com.br) Cotton blue disease: attempts toward a histological identification.

A doença azul, ou azulão do algodeiro, é uma virose com etiologia putativa para família Luteoviridae. O afídeo vetor *Aphis gossypii* é o mesmo do *Cotton anthocyanosis*, outro putativo membro da mesma família, causador do "vermelhão" do algodeiro. Na ausência de técnicas imunológicas ou moleculares, alterações anatômicas estão sendo analisadas visando diagnosticar o azulão. Para isso, lâminas permanentes de folhas adultas, sadias e infectadas foram coradas com safranina e "alcian blue". Nos testes de calose (polissacárideo constituinte do floema com maior acúmulo em luteovíroses), utilizou-se o azul de anilina em tecidos de caule. No azulão, as células do mesofilo apresentaram cloroplastos íntegros e uma sugestiva alteração química devido a uma coloração azulada ou avermelhada enquanto que no vermelhão os cloroplastos apresentaram-se destruídos e núcleos aumentados. Além disso, a possível identidade de luteovírus do azulão do algodeiro pode ser sustentada pelo maior acúmulo de calose conforme observado em tecidos de caule de plantas infectadas comparadas com sadias. Acúmulo de calose já foi utilizado na diagnose de outros luteovírus como o *Potato leafroll virus*, na cultura da batata (*Solanum tuberosum*). Aspectos histológicos, conforme observados, podem auxiliar na identificação do azulão do algodeiro, enquanto avanços imunológicos e moleculares desse vírus não ocorrem.

257

EFICIENCIA DE TRANSMISIÓN DEL MRCV POR *Delphacodes kuscheli* SEGÚN LA EDAD DEL VECTOR DURANTE LA ADQUISICIÓN. ARNEODO, J. D.¹; RAMOS, M. L.¹; OJEDA, S.²; GUZMÁN, F. A.¹; CONCI, L.¹; LAGUNA, I. G.¹ & TRUOL, G. A.¹ ('INTA - IFFIVE & ²FAMAF (UNC E-mail: arneodoj@correo.inta.gov.ar) Transmission efficiency of MRCV by *Delphacodes kuscheli* depending on vector age at acquisition.

El virus del mal de Río Cuarto (MRCV) es transmitido en forma persistente por *Delphacodes kuscheli*. En este trabajo, se estudió la capacidad del vector para adquirir y transmitir el virus en diferentes estadios.

Ninfas I, III y adultos (180 ejemplares por estadio) adquirieron el MRCV durante 48 h sobre plantas de trigo infectadas y bajo condiciones controladas. Luego, los individuos de cada estadio fueron divididos en subgrupos de tres y transferidos a plantas de trigo sanas (1 subgrupo/planta) a 3, 5, 7, 9, 12, 14, 17 y 22 días de iniciada la adquisición para inocular el virus por un período de 24 h. La presencia del MRCV en las plantas fue corroborada mediante DAS-ELISA y SDS-PAGE. Se detectaron diferencias significativas en la cantidad de subgrupos infectivos, dependiendo de que la adquisición se efectuara como ninfas I (32/60), ninfas III (20/60) o adultos (5/60). La baja eficiencia de transmisión de este último grupo, se debió principalmente a la mortalidad registrada (por la longevidad normal de los insectos en laboratorio), ya que el análisis por sondas de hibridación molecular de adultos muertos reveló un 25% de ejemplares virulíferos. La duración del período

FOL.9548

T231d

2003

ex. 15587

Fitopatol. bras. 28(Suplemento), agosto 2003

15587