



PREVALÊNCIA DOS VÍRUS CsVMV (*Cassava vein mosaic virus*) E CsCMV (*Cassava common mosaic virus*) EM REGIÕES PRODUTORAS DE MANDIOCA NO BRASIL

Emanuel Felipe Medeiros Abreu¹, Layanna Rebouças de Santana Cerqueira Antônio Marcio Fernandes³

¹Analista da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Caixa Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas, BA.

E-mail: emanuel.abreu@embrapa.br

² Estudante de Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 44380-000, Cruz das Almas, BA. E-mail: lay_annal@hotmail.com

³ Estudante de Biomedicina da Faculdade Maria Milza - FAMAM, 44380-000, Cruz das Almas, BA. e-mail: marciofernandes14@hotmail.com

Temática: Fitopatologia

Resumo

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma cultura de importância social para mais de 400 milhões de pessoas. Possui propagação vegetativa, apresentando inconvenientes como disseminação de vírus que causam degeneração das manivas. No Brasil destacam-se os vírus do mosaico comum (CsCMV) e mosaico das nervuras (CsVMV). O objetivo desse trabalho foi avaliar a prevalência dos vírus CsVMV e CsCMV em regiões produtoras de mandioca no Brasil. Foram coletados 2.829 amostras foliares de mandioca nos estados da Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Minas Gerais, Paraíba e Piauí. Para detecção do CsCMV foi realizado teste de ELISA indireto. A avaliação ocorreu através da leitura da absorbância e considerou-se positiva as amostras que apresentaram leitura duas vezes superior ao extrato das plantas sadias utilizadas como controle negativo. A detecção do vírus CsVMV foi realizado através do teste de PCR. A prevalência de amostras positivas foi de 10,53% para o vírus do CsCMV, encontrado em 298 plantas das 2.829 analisadas. Para o CsVMV a prevalência foi de 1,63%, encontrado em 46 do total de plantas. O vírus mais prevalente nos campos de mandioca avaliados foi o CsCMV atingindo 69,5% das localidades avaliadas.

Palavras Chave: Indexação, disseminação, ELISA, PCR.

Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma cultura de grande importância social por ser a principal fonte de carboidratos para mais de 400 milhões de pessoas, principalmente em países em desenvolvimento (Michels *et al.*, 2004). No Brasil, a mandioca é cultivada basicamente por pequenos agricultores com uso de poucos insumos (Lorenzi, 2003), o que a torna mais importante do ponto de vista econômico e social, principalmente para as regiões norte e nordeste.

Segundo Iwanaga e Iglesias (1994, citado por Silva, 2011, p.1) a mandioca é uma cultura de propagação tipicamente vegetativa, multiplicando-se através de manivas, o que apresenta inconvenientes como disseminação de doenças sistêmicas como os vírus que causam degeneração das manivas. No Brasil destaca-se o vírus do mosaico comum (*Cassava common mosaic virus*), o vírus do mosaico das nervuras (*Cassava vein mosaic virus*) e o vírus do 'couro de sapo' (*Cassava frogskin disease*).

O vírus do mosaico das nervuras pertence à família *Caulimoviridae* e gênero *Cavemovirus* (Costa; Kitajima, 1972). Seus sintomas são caracterizados por cloroses entre as nervuras (Otsubo; Chigeru 2003). O vírus é transmitido por material propagativo e por ferramentas utilizadas para o corte das manivas (Fukuda, 1993). O



CsCMV, mosaico comum, pertencente a família Flexiviridae e gênero *Potexvirus* (Soares et al., 2009) e seus sintomas são clorose da lâmina foliar e retorcimento dos bordos das folhas, principalmente em formação (Fukuda, 1993). O vírus causa infecção, interferindo na fotossíntese, comprometendo o crescimento das raízes e a produtividade da cultura (Costa; Kitajima, 1972).

A utilização de variedades resistentes tem sido a principal estratégia para controle de viroses de plantas uma vez que se trata de uma medida eficiente, econômica, de fácil utilização e que não agride o ambiente (Melo 2010).

O objetivo desse trabalho é avaliar a prevalência dos vírus CsVMV e CsCMV em regiões produtoras de mandioca no Brasil.

Material e Métodos

Foram coletadas 2.829 amostras foliares de mandioca assintomáticas em sete estados de acordo com a tabela 1. As amostras foram acondicionadas em embalagens individuais, identificadas, e levadas ao Laboratório de Virologia da Embrapa Mandioca e fruticultura, Cruz das Almas – BA, no qual foram analisadas por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) e teste de ELISA indireto.

Tabela 1. Origem, quantidade de localidades, variedades e amostras analisadas.

ESTADO	LOCALIDADES	VARIEDADES	AMOSTRAS
ALAGOAS	1	3	600
BAHIA	12	24	903
CEARÁ	2	3	160
MARANHÃO	2	7	730
MINAS GERAIS	3	5	90
PIAUI	2	2	181
PARAIBA	1	3	75

Para detecção do vírus CsCMV (Mosaico comum) foi realizado o teste de ELISA indireto (Silva, 2011). Foram maceradas 0,2 g de tecido vegetal em 1000 µL de Tampão Carbonato. Retirou-se 100 µL e sensibilizou-se cada cavidade da placa de poliestireno, em seguida foi mantida em câmara úmida, na geladeira, em overnight. No dia seguinte, removeu-se as amostras lavando a placa três vezes com tampão de lavagem, tendo intervalos de cinco minutos entre as lavagens e adicionou-se 100 µL solução bloqueio e posteriormente foi colocada no agitador por uma hora. Em seguida lavou-se a placa três vezes, adicionou-se 100 µL Solução Anti-soro Específico CsCMV e colocou em câmara úmida na geladeira em overnight. No terceiro dia, acrescentou-se 100 µL a cada cavidade da placa com a solução do conjugado (Goat Anti-Rabbit IgG) e colocada na estufa a 37 °C por quatro horas. Lavou-se a placa cinco vezes com tampão de lavagem e adicionou-se 100 µL Tampão Revelador (4-Nitrofenil fosfato, Diltomolamina) nos poços.

A detecção do vírus CsVMV (Mosaico das nervuras) foi realizado através do teste de PCR (Sambrook & Russell, 2001). A análise iniciou-se com a extração do DNA total das amostras a partir de 200 mg de tecido foliar. O método de extração utilizada foi de acordo com Dellaporta et al. (1983). A amplificação via PCR foi realizada em um termociclador, empregando um volume final de 25 µL. As condições de amplificação compreenderam uma desnaturação inicial de 94°C por três minutos, uma segunda etapa com 36 ciclos de 45s a 94°C, 30s a 50°C e 50s a 72°C e extensão final a 72°C por sete minutos. Os resultados das amplificações foram avaliados por meio de eletroforese em gel de agarose 1%.



Resultados e Discussão

Para as análises de PCR inicialmente foram testados os controles positivos e estes apresentaram amplificação com fragmentos específicos de 750pb utilizando os primers CsVMV HS F (GAG TGA GTA GTT TCT TAA TTC TTC) e CsVMV HS R (CTA TCA GCT AAA TTT TCT CTA GC) específicos para detecção do vírus. Das 2.829 amostras analisadas, 46 apresentaram-se positivas para o vírus CsVMV.

A avaliação do ELISA indireto ocorreu através da leitura da absorbância em uma leitora de placas com filtro de 405 nm. O limite adotado para distinguir amostras infectadas das sadias consistiu no valor médio de absorbância das amostras sadias vezes dois e meio ($\bar{x} C - x 2,5$), resultados acima desse valor são considerados positivos. Das 2.829 plantas avaliadas, 298 apresentaram-se positivas para o vírus CsCMV.

Para a análise dos dados foi calculado o percentual de plantas infectadas com vírus pelo total de plantas analisadas por localidade e pelo total global de plantas avaliadas (Tabela 2).

Tabela 2. Origem, total de amostras e porcentagem de prevalência do CsVMV e CsCMV

ESTADO	TOTAL DE AMOSTRAS	POS CsVMV	% POS CsVMV	POS CsCMV	% POS CsCMV
BAHIA	993	24	2,41%	195	19,6%
CEARÁ	160	08	5%	79	49,4%
MARANHÃO	730	00	0%	08	1%
PIAUI	181	13	7,18%	00	0%
PARAIBA	75	01	1,33%	00	0%
MINAS GERAIS	90	00	0%	02	2,22%
ALAGOAS	600	00	0%	14	2,33%

A análise global de prevalência de amostras positivas foi de 10,53% para o vírus do CsCMV, tendo sido encontrado em 298 plantas das 2.829 analisadas. Para o CsVMV a prevalência foi de 1,63%, tendo sido encontrado em 46 das 2.829 plantas analisadas. Quando comparado à prevalência, o vírus do mosaico comum mostrou-se mais prevalente, presente em 69,5% das localidades amostradas do que o vírus do mosaico das nervuras, encontrado em 43,5% das localidades. Nota-se existir uma menor incidência do CsVMV nas análises, fato já descrito por Kimati et al. (1997), onde ele afirma que o CsVMV possui baixa incidência nos plantios de mandioca. Porém isso não invalida a necessidade de controlar a disseminação deste, uma vez que, estudos indicam que um ataque severo pode reduzir a produtividade do plantio em até 30%, ou afetar a qualidade do produto, especialmente o teor de amido na raiz (Otsubo; Chigeru 2003). Já o CsCMV destaca-se com uma maior frequência nas análises, já constatado por Costa; Kitajima (1972), onde eles dizem que o CsCMV, é possivelmente o vírus mais frequente e importante em todas as regiões produtoras de mandioca.

Conclusão

Os estudos revelaram que o vírus mais prevalente nos campos de mandioca das regiões produtoras avaliadas é o *Cassava common mosaic virus* (CsCMV) com 10,53% de prevalência de plantas infectadas, atingindo 69,5% das localidades avaliadas.



Bibliografia

- COSTA, A.S.; KITAJIMA, E.W. *Cassava common mosaic virus*. CMI/AAB. **Description Plant Viruses**, 90:4, 1972
- DELLAPORTA, S.L.; WOOD, J.; HICKS, J.B. A plant mini preparation: version II. **Plant Molecular Biology Report**, v.1, p.19-20, 1983.
- FUKUDA, W. M. G.; FUKUDA, C.; DIAS, M. C.; XAVIER, J. J. B. N.; FIALHO, J. F. Variedades. In: SOUZA, L. S.; FARIAS, A. R. N.; MATTOS, P. L. P.; FUKUDA, W. M.G. (Ed.). **Aspectos socioeconômicos e agronômicos da mandioca**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2006. p. 433-454
- IWANAGA, M.; IGLESIAS, C. Cassava genetic resources management at CIAT. In: International network for cassava genetic resources, 1, 1992, Cali. **Proceedings**. Rome: International Plant resources Institute. 1994. p. 77-86 apud SILVA, J. N. **Deteção sorológica e molecular do *Cassava common mosaic virus* em mandioca na região noroeste do Paraná**. 2011. 59f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Estadual do Maringá, Maringá. 2011.
- KIMATI. et al. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Ceres, 1997. p. 471. V.2.
- LORENZI, J.O. **Mandioca**. Campinas: CATI. 2003. 116 p. (Boletim Técnico, 245).
- MELO, E. A., **Incidência do mosaico dourado em genótipos de fava (*Phaseolus lunatus*)** Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo- AL, 2010.
- MICHELS, I.; CARVALHO, M. da C.; MENDONÇA, C. G. **Mandioca**. Campo Grande, MS: Ed. UFMS, 2004, 190p.
- OTSUBO, A. A.; CHIGERU, F. **Cultivo da mandioca na região centro sul do Brasil**. In: Embrapa Mandioca e Fruticultura. **Sistemas de Produção**, v. 7ISSN 1678-8796, Jan/2003.
- SAMBROOK, J.; RUSSEL, D. W. 2001. **Molecular Cloning**. 3rd edition. 3 vol. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- SANTOS, A. A.; KITAJIMA, E. W. Mosaico das nervuras no estado do Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, p. 5-11, 1990.
- SILVA, J. N. **Deteção sorológica e molecular do *Cassava common mosaic virus* em mandioca na região noroeste do Paraná**. 2011. 59f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Estadual do Maringá, Maringá. 2011.
- SOARES, M.B.B. et al. Disseminação do Vírus do Mosaico Comum em área de mandioca (*Manihot esculenta* crantz.). In: **XIII CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA**. Botucatu-SP, 2009.



16º CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA
1º CONGRESSO LATINO-AMERICANO E CARIBENHO DE MANDIOCA