



**15^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
24 e 25 de agosto de 2011
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA**

**TRANSMISSÃO DE *Piper yellow mottle virus* POR MEIO DE PODAS EM PLANTAS DE
PIMENTEIRA-DO-REINO**

Késsia de Fátima da Cunha Pantoja¹; Cristiane Melo de Sousa²; Alessandra de Jesus Boari³

¹Bolsista DTI-EMBRAPA. E-mail: kessiapantoja@yahoo.com.br

²Bolsista Pibit CNPq, Aluna do curso de Agronomia da UFRA. E-mail:cris.ufra@hotmail.com

³Pesquisadora, Embrapa Amazônia Oriental. E-mail:ajboari@gmail

Resumo: A pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) pode ser infectada pelo vírus *Piper yellow mottle virus* (PYMoV) que pode causar grandes perdas na produção. Os sintomas causados por este vírus são clorose, mosqueado, clareamento de nervuras, deformação foliar, nanismo e redução da produção de frutos. O PYMoV é transmitido por cochonilhas, mas é disseminado principalmente por meio de mudas infectadas, geradas por propagação vegetativa (estacas). Estas estacas geralmente são obtidas da própria lavoura do produtor rural por meio de tesoura de poda ou facões. Muitas espécies virais podem ser transmitidas via tratos culturais, como a poda. Entretanto, até o momento não há relato sobre este tipo de transmissão para o PYMoV nesta cultura. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a transmissão do PYMoV por meio de podas de plantas infectadas pelo PYMoV. Foi feita a contaminação de tesoura de poda cortando estacas de plantas infectadas pelo PYMoV e em seguida poda de 19 mudas de pimenta-do-reino. Estas foram mantidas por um período de cerca de 3 meses em estufa e em seguida teve o ácido nucléico (DNA e RNA) extraído a partir de folhas novas. Posteriormente, foi realizado o teste de PCR com *primers* específicos para PYMoV. Das 19 mudas podadas, 15 tiveram resultados positivos para o PYMoV. Este resultado permitirá a elaboração de estratégia de manejo para a cultura.

Palavras-chave: *Piper nigrum* L., PYMoV, disseminação

Introdução

A pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) é de grande importância para o comércio agrícola internacional, sendo o Vietnã o maior produtor e exportador, seguido da Índia, Indonésia e Brasil. No ano de 2010, o Estado do Pará foi responsável pela produção de 35 mil toneladas de pimenta seca.

No Brasil já foram relatados os vírus *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Piper yellow mottle virus* (PYMoV) e um isométrico ainda não identificado, sendo os dois primeiros verificados no Estado do



15^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
24 e 25 de agosto de 2011
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

Pará. O PYMoV causa sintomas de deformação foliar, mosqueado, clareamento das nervuras, manchas cloróticas e redução da produção de frutos em plantas de pimenta-do-reino (Albuquerque *et al.*, 1999). Entretanto, o vírus já foi detectado em muitas plantas assintomáticas. Na Índia, Silva *et al.* (2002) verificaram que este vírus é transmitido pela cochonilha *Planococcus citri* e pelo percevejo de renda *Corythucha ciliata* e, segundo Bhat *et al.* (2003), pela cochonilha *Ferrisia virgata*, por enxertia e mecanicamente. Já no Brasil, observou-se que o PYMoV é transmitido pelas cochonilhas *Ferrisia virgata* (Boari *et al.*, 2010) e *Planococcus minor* (Sousa *et al.*, 2010). Os vírus são propagados via estacas, sendo esta o principal meio de disseminação de viroses. Entretanto, a cultura da pimenta-do-reino sofre tratos culturais como a poda e sabe-se que em determinadas culturas os vírus podem ser transmitidos para plantas sadias por meio de ferramentas de cortes contaminados por seivas de plantas infectadas. Até o momento não há trabalhos relacionados a este tipo de transmissão.

Assim, este trabalho teve o objetivo de verificar a transmissão do PYMoV para mudas sadias de pimenta-do-reino por meio de podas.

Os resultados obtidos darão subsídios à elaboração de estratégias de defesa fitossanitária da pimenta-do-reino.

Material e Métodos

Inicialmente, foram obtidas mudas de pimenta-do-reino cv. Bento provenientes de sementes oriundas de plantas livres de PYMoV. Para contaminar a tesoura de poda, realizou-se cortes de uma planta cv. Apra infectada pelo PYMoV seguido da poda de vinte mudas com cerca de 3 meses. Para avaliar a transmissão do PYMoV para as mudas realizou-se o teste de PCR com primers específicos para o vírus .

A extração de ácido nucléico (DNA) foi feita a partir de 100mg de folha jovem, segundo o protocolo de Gibbs & Mackenzie (1997) modificado. Em seguida, foi realizado o teste de PCR e para isso foram utilizados 5 µl do ácido nucléico, 5 uL do tampão de reação 5X, 3 µL de MgCl₂ (25 mM), 0,5µL de dNTP, 0,15 uL da Taq DNA Polimerase, 0,25µl dos *primers* específicos para PYMoV 10,85 uL de água ultra-pura.

O par de primers utilizado foi o PMYMoV (F) 5' TAA CAG GAC TAG GGA TGG 3' e PYMoV 5' CAG CTG GTC TTC TTG ATA ATA 3'.

A reação consistiu de 30 ciclos de 94 °C, 49,6 °C e 72 °C, com duração de um minuto (no total de cada ciclo) além de uma extensão de 72 °C por 10 minutos. Fragmentos de DNA foram observados



15^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
24 e 25 de agosto de 2011
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

e fotografados sob luz UV após a corrida eletroforética em gel de agarose (1,0%) e coloração com Gel Red.

Resultados e Discussão

A extração de ácido nucléico total utilizando o protocolo de Gibbs & Mackenzie (1997) modificado, por meio da adição de 0,1% de mercaptoetanol propiciou a formação de um sedimentado sem oxidação. Observou-se as bandas de RNA ribossômicos 18S (1900 pb) e 28S (4700 pb) em todas as extrações de pimenta-do-reino, indicando a boa qualidade da extração.

Das 19 mudas podadas com tesoura de poda contaminada testadas, 15 apresentaram-se positivas pelo PCR (Figura 1), provando que o PYMoV pode ser disseminado de planta infectada para plantas saudas na lavoura por meio de podas.

Desta forma recomenda-se o tratamento químico das ferramentas de corte utilizado na cultura com água sanitária. Além de evitar o corte de plantas com sintomas de viroses seguido do de plantas sem sintomas.

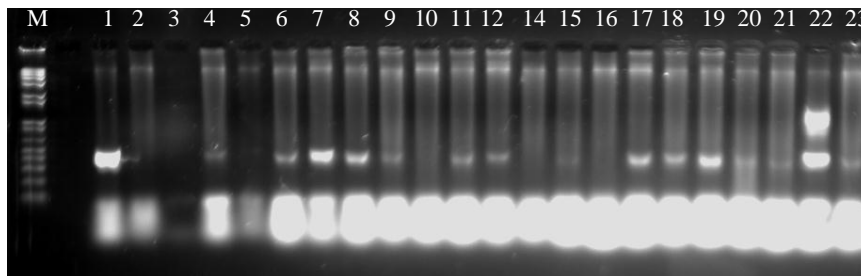


Figura 1. Gel de PCR para PYMoV a partir de mudas podadas. M. Marcador 1kb ladder; 1. Controle positivo; 2. Controle negativo; 3. Água; 4 a 23 amostras de plantas podadas.

Conclusões

O PYMoV pode ser transmitido por poda para plantas saudas de pimenta-do-reino.

Agradecimentos

Ao CNPq, MAPA e FINEP que apoiaram financeiramente esta pesquisa.

Referências Bibliográficas

ALBUQUERQUE, F.C.; TRINDADE, D.R.; POLTRONIERI, L.S.; DUARTE, M.L.R.; BRIOSO,



15^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
24 e 25 de agosto de 2011
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

P.S.T.; REZENDE, J.A.M.; KITAJIMA, E.W. Evidências preliminares da ocorrência do vírus do mosqueado da pimenteira-do-reino (*Piper yellow mottle virus* - PYMoV) no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 25., n.1, p. 36-36, 1999.

BHAT, A.I.; DEVASAHAYAM, S; SARMA, Y.R.; PANT, R.P. Association of a Badnavirus in black pepper (*Piper nigrum* L.) transmitted by mealbug. **Current Science**, v.84, n.12, p.1547-1550, 2003.

BOARI, A. J.; OLIVEIRA, A.C.S; PRADO, E.; PANTOJA, K.F.C.; SOUSA, C.M. *Ferrisia virgata* (Cockerell): vetora do *Piper yellow mottle virus* da pimenteira do reino. In: 50 Congresso brasileiro de olericultura, 2010, Guarapari. **Anais** do 50 Congresso brasileiro de Olericultura. Brasília: Sociedade brasileira de horticultura, 2010. v. 28.

GIBBS, A.; MACKENZIE, A. A primer pair for amplifying part of the genome of all potyvirids by RT-PCR. **Journal of virology methods**, v. 63, p. 9-16, 1997.

OLIVEIRA, A.C.S; BOARI, A. J.; SOUSA, C. M.; Pantoja, K.F.C.; SOUZA, C. A. Detecção de *Piper yellow mottle virus* da pimenteira do reino nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo e Amazonas. In: 50 Congresso brasileiro de olericultura, 2010, Guarapari. **Anais** do 50 Congresso Brasileiro de Olericultura. Brasília: Sociedade brasileira de horticultura, 2010. v. 28. p. 1-7.

SOUSA, C. M. ; BOARI, A. J. ; PRADO, E. ; PANTOJA, K. F. C. ; SOUSA, A. S. *Planococcus minor* Maskell: vírus-vector to piper yellow mottle virus on black pepper. In: XXI Encontro Nacional de Virologia e V Encontro de Virologia do Mercosul, 2010, Gramado. **Anais**. Virus: reviews & research. Gramado : SBV, 2010. v. 15. p. 306-307.