

Detecção molecular e sorológica de *Potyvirus* que infectam maracujazeiro (*Passiflora sp.*) no estado da Bahia

Alessandra Oliveira Barbosa¹; Emanuel F. M. Abreu²; E.J. de Oliveira³; Cristiane de Jesus Barbosa³

¹Estudante de Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; ²Analista da Embrapa Mandioca e Fruticultura; ³Pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mails: emanuel@cnpmf.embrapa.br, eder@cnpmf.embrapa.br, barbosa@cnpmf.embrapa.br

O endurecimento dos frutos é a virose mais importante da cultura do maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims.) e é causada pelo *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), gênero *Potyvirus*. Plantas infectadas com essa virose apresentam mosaico foliar e frutos com endurecimento do pericarpo e grande redução da polpa. O Nordeste brasileiro é responsável por 66% do total da produção nacional de maracujá, sendo que o estado da Bahia produz 34%. Várias doenças afetam a cultura do maracujá no Brasil e o endurecimento dos frutos causado por *Potyvirus* é uma das mais limitantes à produção. Diante desse cenário, objetivou-se estabelecer a metodologia de detecção de *Potyvirus* que causa o endurecimento dos frutos pelo método sorológico do Elisa indireto (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) e RT-PCR. Utilizou-se o Elisa indireto para detecção e quantificação de anticorpos mediante o uso do anti-soro policlonal para o vírus (diluição 1:10.000), e o RT-PCR para detecção do CABMV e posterior sequenciamento dos fragmentos amplificados. A extração do RNA total foi realizada utilizando o método do Brazol, seguida pelas reações do RT-PCR. Para a síntese do cDNA viral, utilizou-se o Kit Reverse Transcription- (INVITROGEN) e para as reações de PCR, o Kit Real Taq. Polimerase (RBC) com os oligonucleotídeos específicos CABMV2R e CABMBF que amplificam um fragmento de DNA de aproximadamente 1200 pb. Também foram utilizados os primers EF1F e EF1R que amplificam um gene *housekeeping* da planta conhecido como fator de alongamento celular, para verificação da qualidade do RNA extraído. No PCR, as amostras de cDNA foram submetidas a 40 ciclos de amplificação, consistindo de desnaturação (94°C), anelamento (50°C) e extensão (72°C). Os produtos do PCR foram analisados em géis de agarose 10 g L⁻¹, preparados em tampão TBE, pH 8,0. Para análise do comportamento dos acessos do Banco de Germoplasma de maracujá da Embrapa Mandioca e Fruticultura, foram coletadas dez folhas de cada acesso (n=58) e foi avaliada a presença e severidade de sintomas via escala de notas. No Elisa indireto, todas as repetições foram positivas, pois apresentaram leitura de absorbância igual ou superior à média do controle negativo, acrescida do desvio padrão em cada teste, que foi de 0,163, diagnosticando a presença do antígeno (vírus) nas amostras foliares analisadas. No RT-PCR, das oito amostras analisadas com os primers CABMV2R/F, três delas foram positivas para a presença do CABMV, amplificando um fragmento de aproximadamente 1200 pb. Uma dessas amostras foi sequenciada, e o fragmento apresentou alta identidade com uma região correspondente ao genoma do *Cowpea aphid-borne mosaic virus*. A utilização dos primers EF1R/F, confirmaram a integridade do RNA extraído das amostras de maracujá, e as condições da reação foram adequadas para as mesmas, através da análise do DNA em gel de agarose.

Palavras-chave: CABMV; maracujá; PCR
