

Análise proteômica em plantas de *Passiflora edulis* inoculadas com o Cowpea aphid borne mosaic virus (CABMV)

Alessandra Oliveira Barbosa¹, Rafael Bandarra Neves², Onildo Nunes de Jesus³, Cristiane de Jesus Barbosa⁴, Alessandra Selbach Schnadelbach⁵, Carlos Priminho Pirovani⁶

¹Doutoranda em Recursos genéticos Vegetais da Universidade Estadual de Feira de Santana, biologia.tafnes@yahoo.com.br;

²Estudante de Agronomia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, rafa_bandarra@hotmail.com; ³Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, onildo.nunes@embrapa.br;

⁴Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, cristiane.barbosa@embrapa.br, ⁵Professora e Pesquisadora Universidade Federal da Bahia, alessandra.schnadelbach@gmail.com; ⁶Professor Titular A/ Coordenador e Pesquisador do PPG-GBM/ Universidade Estadual de Santa Cruz, pirovanicp@gmail.com

A virose do endurecimento dos frutos causada pelo vírus *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV) se destaca em alguns polos de produção, causando grandes prejuízos sociais e financeiros. O vírus causa alterações foliares, que incluem mosaico e bolhosidades e os frutos apresentam um endurecimento e redução no pericarpo, diminuindo a qualidade e a produtividade. O desenvolvimento de pesquisas que possam ser utilizadas futuramente para subsidiar novas formas de controle da virose são de grande importância. Os estudos proteômicos possibilitam compreender porque determinados grupos de proteínas estão sendo produzidas em um organismo frente a um estresse abiótico ou biótico, como na presença de um patógeno. Estudos desta natureza na interação *Passiflora* x CABMV ajudará a compreender melhor os mecanismos relacionados à resistência. Assim o objetivo deste estudo foi extrair as proteínas foliares diferencialmente expressas, em plantas de *Passiflora edulis*, resultantes da inoculação com o CABMV, bem como obter os perfis eletroforéticos 1D e 2D das proteínas extraídas. Foram utilizadas sementes do genótipo BGP328 de *Passiflora edulis* do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Foram utilizadas mudas de 40 plantas que foram colocadas em uma câmara com condições de temperatura, umidade e fotoperíodo controladas. Após sua aclimatização foram inoculadas mecanicamente com o CABMV. A partir do quarto par de folhas do ápice para a base da planta, as folhas foram coletadas em oito tempos distintos após a inoculação: 0, 30 minutos, 3, 5, 8, 12, 20 e 28 dias. Cada tratamento constou de cinco plantas (três inoculadas com o vírus e duas com tampão de inoculação sem o vírus). O processo de extração foi feito apenas no tempo 8, seguindo o protocolo desenvolvido por Pirovani et al. (2008), com algumas modificações. Os extratos proteicos obtidos foram então quantificados com o 2D Quant Kit (GE Healthcare Life Sciences), conforme as recomendações do fabricante. Após a quantificação, as amostras foram submetidas à eletroforese SDS-PAGE, para observação do perfil das bandas das proteínas. Para separação das proteínas pelo ponto isoeletrico, utilizou-se o equipamento de focalização isoeletrica Ettan IPGphor III (GE Healthcare), controlado pelo software Ettan IPGphor III. As strips geradas foram preparadas para a corrida do gel em segunda dimensão, em géis de poliacrilamida a 12,5%. Ao término da corrida, os géis foram transferidos para um tampão de fixação e em seguida corados em azul de coomassie coloidal, sendo incubado em agitação por 7 dias, seguido pelo processo de descoloração durante o mesmo período. Por fim, após a descoloração, os géis foram digitalizados no programa LabScanner (Amersham Bioscience) e armazenados em solução de ácido acético 7% a 4°C, para melhor conservação. Os perfis eletroforéticos SDS-PAGE para as proteínas de *Passiflora edulis* mostraram bandas bem coradas, apresentando uma boa definição, sem indicativo de arrasto e com rendimento proteico satisfatório. Observou-se nas plantas de *Passiflora edulis* analisadas, um perfil proteico bidimensional com distribuição de algumas proteínas, separadas por kDa (massa molecular) e pI (ponto isoeletrico).

Significado e impacto do trabalho: Geração de conhecimento para o estabelecimento de estratégias de controle da virose do endurecimento dos frutos, em virtude da ocorrência de doenças se constituir como um dos principais problemas da cultura do maracujazeiro, uma vez que causa uma série de prejuízos de ordem social e financeira.