

Validação de método de inoculação do *Pineapple mealybug wilt-associated virus* em abacaxizeiro com a cochonilha *Dysmicoccus brevipes*

Danilo Barbosa Rebouças¹, Amanda Bahiano Passos Sousa², Fernanda Vidigal Duarte Souza³ e Eduardo Chumbinho de Andrade³

¹Estudante de Farmácia da Faculdade Maria Milza, bolsista da Fapesb, Governador Mangabeira, BA; ²Mestranda em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, bolsista CNPq da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA;

³Pesquisador(a) da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA.

O abacaxi (*Ananas comosus* var. *comosus*) é uma fruta tropical que tem destaque no mercado com sua grande produção. No ano de 2018 foram produzidas 27,9 milhões de toneladas de abacaxi no mundo. O Brasil é um dos grandes produtores mundiais, com destaque para as regiões norte (34,1%) e nordeste (33,6%). A cultura do abacaxi no Brasil enfrenta problemas com doenças que limitam a produção, destacando-se a fusariose e a murcha do abacaxizeiro. A murcha é uma doença causada pelo *Pineapple mealybug wilt-associated* (PMWaV). Trata-se de um complexo viral com três espécies descritas: PMWaV-1, PMWaV-2, PMWaV-3, pertencentes a família *Closteroviridae*, gênero *Ampelovirus*. A transmissão é mediada por cochonilhas rosa e a cinza, *Dysmicoccus brevipes* e *D. Neobrevipes*, respectivamente. Nesse contexto o objetivo desse trabalho foi avaliar o método de inoculação do PMWaV em mudas de abacaxizeiro utilizando a cochonilha *Dysmicoccus brevipes* como vetor biológico. Foram utilizadas cinco mudas da cultivar BRS Pérola obtidas por cultura de meristema, livres do vírus do PMWaV. Estas mudas se encontravam na casa de vegetação à temperatura ambiente (25 °C) em tubetes e, posteriormente, foram transplantadas para vasos. Quando essas plantas atingiram uma altura de 10 cm foi realizada a inoculação do PMWaV. Como fonte de inóculo foram utilizadas plantas de abacaxi que possuíam a infecção mista provocada pelo PMWaV-1, 2 e 3. Foram colhidas folhas das plantas contaminadas, que foram cortadas em pedaços menores e colocadas em uma bandeja. Ninfas de *D. brevipes* foram coletadas de uma colônia mantida em abóbora, transferidas para os pedaços de folha de abacaxi e mantidas para período de acesso de aquisição (PAA) de três dias. Após o PAA os pedaços de folhas com as cochonilhas foram transferidos para as plantas saudáveis mantidas em casa de vegetação para período de acesso de transmissão (PAT) de três dias. Após 45 dias, foram coletadas amostras foliares para análise da presença viral. Foi coletada a terceira folha mais jovem de cada planta, que foram identificadas e armazenadas a - 20 °C. Para a extração foi retirado 100 mg de tecido da região basal aclorofilada das folhas. O RNA total foi extraído utilizando protocolo do reagente Trizol®. O RNA extraído foi armazenado a - 80 °C. A detecção do vírus realizada pela reação de transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR), utilizados oligonucleotídeos específicos para cada vírus. Após RT-PCR as amostras foram submetidas a eletroforese para visualização das bandas amplificadas. O PMWaV-1 foi observado em 50% das amostras, enquanto que o PMWaV-2 em 25%, e o PMWaV-3 em 100%. Esse resultado mostra que o método de inoculação do PMWaV com o uso de cochonilha é efetivo e pode ser usado como metodologia para estudos da doença, e que os resultados indicam que o PMWaV-3 é mais eficiente de ser transmitido que as outras duas espécies.

Significado e impacto do trabalho: A uso do método de inoculação do *Pineapple mealybug wilt-associated* (PMWaV) é uma importante ferramenta para facilitar os futuros estudos que buscam entender a doença e o desenvolvimento de métodos de controle dos vírus.