

Acúmulo das espécies de vírus causadores da murcha do abacaxizeiro em mudas inoculadas pela cochonilha *Dysmicoccus brevipes*

Danilo Barbosa Rebouças¹ e Eduardo Chumbinho de Andrade²

¹Estudante de Farmácia da Faculdade Maria Milza, Governador Mangabeira, BA, estagiário Embrapa Mandioca e Fruticultura, bolsista Fapesb;

²Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA.

Introdução

O cultivo de abacaxi é praticado em vários países de todos os continentes. O abacaxizeiro é uma planta de clima tropical que tem grande importância na geração de riquezas para o Brasil. Contudo, a produção do fruto sofre com doenças que atingem a planta e provocam danos e perdas na produção, como a murcha do abacaxizeiro, doença causada pelo complexo do *Pineapple mealybug wilt-associated virus* (PMWaV-1, PMWaV-2 e PMWaV-3). Os vírus deste complexo possuem genoma de RNA fita simples, e são diferenciados pela sequência e organização do genoma. Os vírus possuem como vetor biológico as cochonilhas *Dysmicoccus brevipes* e *D. neobrevipes*, que adquirem o vírus ao se alimentarem de plantas infectadas. Neste contexto, métodos de diagnósticos são imprescindíveis para a identificação da doença permitindo desta forma a utilização de práticas eficazes para a prevenção e controle, evitando prejuízos econômicos para a cultura.

Objetivo

Analisar comparativamente o acúmulo das espécies do complexo da murcha em plantas inoculadas utilizando cochonilhas virulíferas sob diferentes períodos de acesso de aquisição (PAA).

Material e Métodos

O trabalho foi realizado na Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA. Um total de 24 mudas sadias da cultivar 'BRS Pérola' foi selecionado para o ensaio de transmissão. Estas mudas foram analisadas previamente para a presença do vírus PMWaVs pelo método da reação de transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR), utilizando iniciadores específicos para cada espécie viral. A transmissão do complexo viral foi realizada por meio de *D. Brevipes* obtidas da colônia estabelecida em abóbora e mantidas no Insetário da Unidade. Como fonte de inóculo foi utilizada uma planta de abacaxizeiro exibindo sintomas típicos de murcha e que foi confirmada a presença das três espécies de PMWaV por RT-PCR. Folhas coletadas desta planta foram cortadas em pedaços de 6 cm, em seguida 20 cochonilhas foram transferidas para cada pedaço e acondicionados em copos plásticos que tiveram a abertura fechada com tecido do tipo *voal*. Três tratamentos foram estabelecidos, relativos a três períodos diferentes de acesso de aquisição (PAA), 12, 24 e 48 h. Como controle negativo, cochonilhas foram colocadas para se alimentar por 48 h em folhas de uma planta sadia. Após o PAA, os pedaços de folhas contendo as cochonilhas foram transferidos para as mudas sadias. Após 40 dias da inoculação, foram coletadas as folhas mais jovem de cada planta por tratamento para extração do RNA e avaliação da presença viral. A extração do RNA total foi realizada utilizando o protocolo do reagente Trizol®, conservando o RNA extraído à -80 °C. Para a detecção viral nos RNAs armazenados foi feita uma reação de RT-PCR, utilizando iniciadores específicos para os vírus do PMWaV-1, PMWaV-2 e PMWaV-3, e o resultado da amplificação visualizada por eletroforese em gel de agarose 2%. Para os estudos de análise comparativa do acúmulo de cada espécie viral nas plantas inoculadas, os RNAs totais foram tratados com DNase, a concentração de RNA padronizada para todas as amostras e submetidos à técnica de PCR em tempo real (RT-qPCR). A análise comparativa entre os PMWaVs nas amostras foi realizada utilizando-se o método ddCt, e o gene da actina como padrão.

Resultados

A avaliação da presença do complexo viral por análise de RT-PCR demonstrou que, apesar de as cochonilhas que tiveram um PAA de 12 h serem capazes de transmitir os PMWaVs, os PAAs de 24 e 48h resultaram em maior eficiência de inoculação, principalmente para a transmissão dos PMWaV-1 e 2. A avaliação comparativa do acúmulo viral nas plantas inoculadas mostrou que o PMWaV-1 foi a espécie que acumulou mais (8x mais que PMWaV-2 e 2x mais que o PMWaV-3) e o PMWaV-3 acumulou 4x mais que o PMWaV-2.

Conclusão

A inoculação do complexo PMWaVs utilizando a cochonilha *D. brevipes* se mostrou um método efetivo independente do PAA. A avaliação comparativa do acúmulo viral nas plantas inoculadas mostrou que o PMWaV-1 foi a espécie que mais acumulou, seguido pelo PMWaV-3 e PMWaV-2.

Significado e impacto do trabalho

A busca por técnicas no controle de doenças é essencial para a diminuição de perda na produção do abacaxizeiro. A utilização de técnicas de detecção do PMWaV é importante nessa busca, visto que dá suporte a trabalhos que irão contribuir na redução do complexo viral e consequentemente para a cadeia produtiva do abacaxi.