

Título

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

Resumo

tt

Trabalhos

Título

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

Autor(es)

ALESSANDRA OLIVEIRA BARBOSA

Emanuel Felipe Medeiros Abreu

Eder Jorge Oliveira

Cristiane de Jesus Barbosa

Resumo

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 1:10000), 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 1200pb. 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 1,0%, 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 avaliado a presença e severidade de sintomas via escala de notas. No ELISA indireto, todas as repetições foram positivas, pois apresentaram leitura de absorvância 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 1200pb. 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-Chaves

- 1 - CABMV
- 2 - Maracujá
- 3 - PCR