



DETECÇÃO DE UM *Fabavirus* EM MATRIZEIROS DE PIMENTEIRA-DO-REINO

Caterynne Melo Kauffmann¹, Gabriela D'assunção Cordovil², Késsia de Fátima Cunha Pantoja³, Brenda Estefany Silva Gavinho⁴, Alessandra de Jesus Boari⁵

¹Graduanda em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia.

caterynne.kauffmann@hotmail.com

²Graduanda em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia. gcordovil17@gmail.com

³Doutoranda em Agronomia, Universidade Estadual Paulista. kessiapantoja66@gmail.com

⁴Graduanda em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia. brendagavinho1@gmail.com

⁵Pesquisadora D.Sc. em Fitopatologia, Embrapa Amazônia Oriental. alessandra.boari@embrapa.br

Resumo: o cultivo da pimenteira-do-reino é de grande importância para a região Norte, sendo a região a pioneira na produção. As viroses são doenças limitantes para a produção dessa cultura, podendo causar deformação foliar, mosaico, redução foliar culminando a diminuição do processo fotossintético da planta e reduzindo sua produtividade. As viroses já relatadas na pimenteira-do-reino são o *Cucumber mosaic virus* (CMV) e o *Piper yellow mottle virus* (PYMoV). Recentemente, foi detectada uma nova espécie pertencente ao gênero *Fabavirus* infectando pimenteira-do-reino no BAG da Embrapa Amazônia Oriental. Assim, esse trabalho teve como objetivo avaliar matrizeiros de três genótipos e uma cultivar de pimenteira-do-reino quanto à presença do *Fabavirus* de por meio de RT-PCR. O *Fabavirus* foi detectado nos três genótipos de pimenta-do-reino e não no cv. Kottanadan.

Palavras-chave: *Piper nigrum* L., Diagnose, RT-PCR.

Introdução

A pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma planta trepadeira pertencente à família Piperaceae. É originária da Índia e introduzida no Brasil no século XVII pelos japoneses. É cultivada em larga escala no país e seu cultivo é por propagação vegetativa (Lourinho et al., 2014). Nesse sentido, dois Estados brasileiros vêm se destacando na produção de pimenta-do-reino: Pará (PA), com 79%, e Espírito Santo (ES), com 13% da produção nacional. A região Norte é a maior produtora de pimenta-do-reino no Brasil. No ano de 2012, destacou-se com uma produção nacional de 79,38%. Neste estado, as microrregiões produtoras mais importantes



são Guamá, Tomé-Açu, Bragantina e Cametá, representando 70,96% da quantidade total produzida (Silva, 2018).

No Brasil, dois vírus já foram relatados: o *Cucumber mosaic virus* (CMV) relatado pela primeira vez em pimenta-do-reino em lavouras de Tomé-Açu, no Estado do Pará e o *Piper yellow mottle virus* (PYMoV) disseminado em plantios no Estado do Pará, Espírito Santo, Minas Gerais e Amazonas (Boari, 2014). Em estudos, plantas com sintomas característicos de viroses foram analisadas e não foram positivas para CMV e PYMoV, indicando que possa haver um terceiro vírus ou uma variante do CMV ou PYMoV nas lavouras de pimenta-do-reino no estado do Pará. Os vírus afetam o desenvolvimento das plantas ao longo do ciclo. Pode ocorrer à redução foliar, deformações, presença de mosaico, reduzindo o processo de fotossíntese e conseqüentemente levando à diminuição da produção e produtividade (Pantoja et al., 2009).

A partir do sequenciamento de alto desempenho (*Next-Generation Sequencing-NGS*) foi identificado um novo vírus da pimenteira-do-reino, com as identidades de aminoácido de cerca de 39% e 21% com a poliproteína dos RNA1 e RNA2 do *Prunus virus F* (PrVF), respectivamente. Sinalizando a ocorrência de uma terceira virose presente nas plantas de pimenta-do-reino (Kauffmann et al., 2019).

Assim, o objetivo deste trabalho foi identificar a nova espécie viral em matrizeiros de um cultivar e três genótipos de do Estado do Pará.

Material e métodos

Foram avaliadas vinte e quatro amostras de matrizeiros de pimenta-do-reino de três acessos genéticos e o cultivar Kottanadan, provenientes do município de Castanhal-PA. As amostras foram colocadas em sacos plásticos, acondicionadas em caixa de isopor e encaminhadas imediatamente para o Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental para a realização das análises.

A extração de ácido nucléico foi feita a partir de folhas novas coletadas, segundo o protocolo de Gibbs e Mackenzie (1997), modificado por Pantoja (2009). Para detecção do vírus, foi feita a síntese de cDNA, utilizando a M-MLV Reverse Transcriptase da Sigma-Aldrich, seguindo protocolo do fabricante. Em seguida, foi realizado o teste de *Polymerase Chain Reaction* (PCR), usando 3 µl da cDNA,



5,0 uL do tampão de reação 5X, 3 µL de MgCl₂(25 mM), 0,5 µL de dNTP (10 mM), 0,15 uL da Taq DNA Polimerase, 0,25 µl dos primers específicos para a nova espécie viral (Faba F e Faba R) e 12,85 uL de água ultra-pura. A reação consistiu de 30 ciclos de 94 °C, 54 °C para o anelamento e 72 °C para a extensão, com duração de 30s, além de uma extensão de 72 °C por 3 minutos. Foram utilizados primers específicos para o gênero *Fabavirus*, segundo o trabalho de Kauffmann et al. (2019).

Fragments de DNA foram observados e fotografados sob luz UV após a corrida eletroforética em gel de agarose (0,8%) e corados com GelRed. Como controle positivo foi utilizado a cultivar Perunkoidi e como controle negativo foi utilizado folha de *P. nigrum* proveniente de semente.

Resultados e discussão

Na avaliação do matrizeiro verificou-se que do total de vinte e quatro plantas de quatro materiais genéticos, treze foram positivas para o gênero *Fabavirus*. Não foi detectado o vírus nas cinco plantas amostradas do cv. Kottanadan.

Os fragmentos amplificados por PCR permitiram à amplificação de uma banda de 700 pb, aproximadamente. Mais de 54% das plantas avaliadas se apresentaram infectadas pelo *Fabavirus*, o que é preocupante, pois pode representar a incidência que ocorre nos campos produtores de pimenta-do-reino.

Conclusão

A nova espécie de *Fabavirus* foi detectada em alta incidência nos quatro diferentes genótipos de matrizeiros de pimenta-do-reino avaliados.

Referências bibliográficas

BOARI, A. J. Viroses. In: LEMOS, O. F. de; TREMACOLDI, C. R.; POLTRONIERI, M. C. (Ed.). **Boas práticas agrícolas para aumento da produtividade e qualidade da pimenta-do-reino no estado do Pará**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2014. p. 39-40. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/108261/1/Cartilha-Pimenta.pdf>>. Acesso em: 2 set. 2019.

KAUFFMANN, C. M.; BOARI, A. de J.; KITAJIMA, E. W.; BLAWID, R.; NAGATA, T. Detecção de uma nova espécie de *Fabavirus* em pimenteira-do-reino por

sequenciamento de alto desempenho. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 51., 2019, Recife. **Anais...** Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2019. p. 787.

LOURINHO, M. P.; COSTA, C.; SOUZA, L.; SOUZA, L.; NETO, C. Conjuntura da pimenta-do-reino no mercado nacional e na região norte do Brasil. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 18, p. 1016-1031, 2014.

PANTOJA, K. D. F.; BOARI, A. de J.; OLIVEIRA, A. C. S. de; SOUSA, C. M. de; SOUZA, C. Levantamento de viroses em pimenteira-do-reino no Estado do Pará. In: SEMINÁRIO CIENTÍFICO DA UFRA, 7.; SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 13.; SEMINÁRIO DE PESQUISA DA UFRA, 1., 2009, Belém. **Pesquisa e desenvolvimento tecnológico na formação do jovem cientista: anais.** Belém, PA: UFRA: Embrapa Amazônia Oriental, 2009.

SILVA, L. R do; LIMA, L. F. de; SOUZA, L. D. S. F.; PEREIRA, B. W. F. de; VIANA, R. G. Conjuntura do mercado da pimenta-do-reino no Pará. In: In: CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS, 2., 2017, Natal. **Anais...** [S.l.: s.n.], 2018.