

Detecção da infecção sistêmica do *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV) em duas espécies de *Passiflora*

Zanon Santana Gonçalves¹; Lucas Kennedy Silva Lima²; Onildo Nunes de Jesus³; Ronan Xavier Corrêa⁴

¹Doutorando em Genética e Biologia Molecular, Universidade Estadual de Santa Cruz, zyarck@gmail.com;

²Bolsista Pós-Doutorado Jr. CNPq/Embrapa Mandioca e Fruticultura, lucas18kennedy@gmail, ³Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, onildo.nunes@embrapa.br; ⁴Professor da Universidade Estadual de Santa Cruz, ronanxc@uesc.br

As viroses estão no grupo de doenças mais significativas para os produtores de maracujá, pois afetam a produção, produtividade e qualidade dos frutos. Até o momento, não foram identificados cultivares de maracujá amarelo ou azedo (*Passiflora edulis* Sims) com resistência ao vírus do endurecimento dos frutos (*Cowpea aphid borne mosaic virus* – CABMV), além disso, há pouco conhecimento da interação *Passiflora* vs. CABMV. Estudos sobre o tempo de infecção sistêmica da doença em diferentes espécies de *Passiflora* são de grande importância, pois permitem elaborar estratégias de controle evitando a disseminação da doença. Os mesmos servem também como base para estudos moleculares que visem identificar genes candidatos de resistência para uso no desenvolvimento de novas cultivares. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a reação e detectar a infecção sistêmica do *Cowpea aphid borne mosaic virus* em duas espécies de *Passiflora* contrastantes para a resistência. O ensaio foi conduzido em sistema de câmara climática para crescimento de plantas (FITOTRON) com controle de temperatura (26 °C dia/21 °C noite), fotoperíodo (6h00/18h00), umidade (70% dia/80% noite), luminosidade LED e radiação fotossinteticamente ativa, utilizando duas espécies de *Passiflora* spp.: *Passiflora edulis* (genótipo “seleção A”) e *Passiflora cincinnata* Mast. (genótipo “seleção B”). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 17 (2 espécies x 17 tempos), composto por 12 plantas em cada tempo, para *P. edulis* (inoculadas com vírus) e seis plantas de cada tempo em para *P. cincinnata* (inoculadas com vírus). Outras três plantas de cada tempo para ambas as espécies, foram mantidas como controle (não inoculadas). Após 48 horas de aclimação, as plantas foram inoculadas com o CABMV a partir do preparo de extrato foliar contendo 1,0 g de tecido foliar com sintomas severo da doença em 10 mL de tampão fosfato (pH 7,0) e 0,2 g de celite. Em seguida, as plantas foram inoculadas mecanicamente friccionando suavemente o dedo umedecido na superfície adaxial no primeiro par de folhas. Após minutos (MAI), horas (HAI) e dias das inoculações (DAI), foi coletado tecido foliar apical de cada uma das plantas nos seguintes tempos: 30 MAI, 60 MAI, 2 HAI, 4 HAI, 8 HAI, 12 HAI, 24 HAI, 48 HAI, 4 DAI, 6 DAI, 8 DAI, 10 DAI, 12 DAI, 14 DAI, 16 DAI, 18 DAI e 20 DAI. Ao longo das coletas, o ensaio foi monitorado para avaliar a incidência (%) de plantas com sintomas da doença, até os 30 DAI. As avaliações da sintomatologia foliar foram realizadas a partir do sétimo dia após inoculação (DAI). As avaliações subsequentes foram feitas semanalmente, até completar 35 DAI em cinco folhas apicais. Para avaliar os sintomas foliares, foi utilizada uma escala de notas que varia de 1 (sem sintomas) a 4 (sintomas severos), e a severidade dos sintomas quantificada a partir do uso do índice de doença (ID%) aos 35 DAI. Para classificar as espécies, foi adotado intervalos de ID que variam de 0,00-10,99% (resistente), 11,00-25,99% (moderadamente resistente), 26,00-60,99% (susceptível), ≥61,00% (altamente susceptível). Os tecidos foliares de cada uma das plantas em cada tempo foram utilizados para a extração de RNA total e a identificação sistêmica da doença determinada com uso de *primers* randômicos, Oligos dT₍₁₈₎ e iniciadores específicos para o CABMV a partir da técnica de transcrição reversa (RT-PCR – *Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction*). Em *P. edulis*, os sintomas foliares típicos do CABMV foram observados a partir de 7 DAI, com 10,7% de plantas sintomáticas. Aos 11 DAI e 30 DAI, 56,8% e 68,6% das plantas apresentaram sintomas, com ID médio de 48,39% (susceptível). Em contrapartida, os sintomas em *P. cincinnata* foram observados aos 10 DAI, com 4,9% de plantas sintomáticas. Aos 12 DAI e 16 DAI, 26,4% e 37,2% das plantas com sintomas, com ID médio de 13,86% (moderadamente resistente). A análise por RT-PCR qualitativo detectou a infecção sistêmica do CABMV aos 4 DAI, em *P. edulis* (plantas assintomáticas) e aos 6 DAI em *P. cincinnata* (plantas assintomáticas), com amplificação do fragmento genômico de 156 pb da região de inclusão cilíndrica do vírus. Esse resultado é útil, pois a partir da técnica de RT-PCR é possível detectar o CABMV em plantas assintomáticas, evitando, a inserção de plantas infectadas em áreas de produção.

Significado e impacto do trabalho: A presença da virose na planta de maracujá limita a produção e inviabiliza a comercialização dos frutos, uma vez que ficam endurecidos e com pouca polpa. O uso de técnica molecular pode identificar precocemente o vírus na planta e essa informação pode ser utilizada para controle da doença. Com a utilização de técnica molecular foi possível detectar plantas infectadas mesmo na ausência de sintomas nas folhas, evitando, a inserção de plantas infectadas em áreas de produção.