

Incidência do Pineapple Mealybug wilt Associated Vírus, PMWAV no Banco Ativo de Germoplasma de abacaxi in vitro da Embrapa Mandioca e Fruticultura

Keilla Cidreira dos Santos¹; Adriana Fiuza dos Santos¹; Eduardo Chumbinho de Andrade²

¹Estudante da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; ²Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura

INTRODUÇÃO

O abacaxi (*Ananas comosus* var. *comosus*) é uma das frutas tropicais mais apreciadas no mundo. O Brasil, como um dos centros de origem e diversidade genética, tem se preocupado com a conservação de germoplasma desta importante fruteira. O abacaxizeiro por ser de propagação vegetativa, possui a vantagem da multiplicação clonal do material de plantio, entretanto, esta prática favorece a disseminação de doenças como as viroses.

O PMWaV (*Pineapple mealybug wilt-associated virus*) é um vírus que infecta o abacaxi causando a doença denominada popularmente de “Mucha do abacaxi”. O vírus transmitido pela cochonilha *Dysmicoccus brevipes*, e atualmente, acredita-se que a doença seja causada por um complexo viral, denominados PMWaV-1, PMWaV-2 e PMWaV-3, que se diferenciam pela sequência e organização do genoma. O PMWV pertence a família Closteroviridae, gênero Ampelovirus, possui partícula alongada flexuosa e genoma de RNA fita simples com aproximadamente 14Kb.

Além dos danos diretos na produção da planta, a contaminação dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma -BAG é um fator preocupante. Diante disto, o objetivo deste trabalho foi a avaliar a incidência do PMWaV-1,2,3 nos acessos do BAG in vitro da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no Laboratório de Virologia, avaliou um total de 134 acessos do BAG mantidos in vitro. O procedimento para a detecção viral se iniciou com a extração de RNA total utilizado Trizol, seguindo as recomendações do fabricante. Para a síntese do cDNA, utilizou-se 5ug de RNA total, 2 pmol do oligonucleotídeo reverso, 0,5mM de dNTPs, tampão da reação,

250mM Tris-HCl, pH 8.3, 375mM KCl, 15mM MgCl₂, 0,1M DTT, e 200U da enzima transcriptase reversa.

Na reação de PCR foram utilizados 2,5uL do cDNA, 0,2 pmoles dos oligonucleotídeos, 0,2mM de dNTPs, 5,0uL do tampão da reação, 200mM Tris-HCl, pH 8,4, 500mM KCl, 30mM de MgCl₂, e 1U da Taq DNA polimerase. Os produtos da PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 2,5%. As amostras positivas foram novamente testadas utilizando no PCR a combinação dos oligonucleotídeos degenerado reverso com os específicos de cada tipo viral.

RESULTADOS

Os acessos de abacaxi provenientes do Banco ativo de Germoplasma in vitro da Embrapa Mandioca e Fruticultura não apresentavam sintomas da infecção por PMWaV, situação já esperada visto que a indução de sintomas só ocorre quando uma planta infectada também colonizada pela cochonilha vetora. O primeiro teste de detecção foi realizado utilizando oligonucleotídeos degenerados capazes de detectar indiscriminadamente a presença dos três tipos de PMWaV. Este teste nos mostrou que dos 134 acessos do BAG, 11 estavam contaminados com o PMWaV, sem indicar qual(is) tipo(s) de vírus estão presentes.

Posteriormente, para saber quais tipos virais estavam presentes nestes acessos, foram realizadas novas reações de PCR utilizando o cDNA sintetizado com o oligonucleotídeo degenerado, mas com combinando o oligonucleotídeo degenerado reverso com cada um dos específicos forward. Utilizando esta estratégia foi possível saber que os três tipos virais estavam presentes, inclusive formando infecções mistas

CONCLUSÃO

Os três tipos de PMWaV estão presentes nos acessos BAG de abacaxi in vitro da Embrapa Mandioca e Fruticultura e frequentemente presente em infecções mistas.