



LEVANTAMENTO DE VIROSE EM PLANTIO DE MARACUJAZEIRO NO CARIRI PARAIBANO

ANA VERÔNICA SILVA DO NASCIMENTO; FAGNER JOSÉ DA COSTA OLIVEIRA

RESUMO

O gênero *Passiflora* possui aproximadamente 500 espécies descritas, sendo que cerca de 120 são endêmicas do Brasil. Das espécies brasileiras de *Passiflora*, exploradas comercialmente, o maracujá-azedo e o maracujá-doce são as mais importantes. Devido a expansão da cultura, problemas fitossanitários têm sido observados. Dentre os problemas bióticos, destacam-se a doença conhecida como o endurecimento dos frutos do maracujazeiro, ocasionando perdas significativa na cultura. Plantas infetadas apresentam mosaico e frutos com endurecimento do pericarpo e grande redução da polpa. Atualmente verifica-se uma carência de estudos que visem detectar o vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro no Cariri Paraibano. Dessa forma, o trabalho teve como objetivo realizar um levantamento em plantios de maracujazeiro nas plantações dos produtores locais no município de Sumé, PB. A metodologia consistiu em coletas das amostras apresentando sintomas típico da doença, extração de RNA e RT-PCR com *primer* específico para identificação do vírus. As amostras coletadas apresentaram sintomas típico da doença do endurecimento dos frutos do maracujazeiro. No diagnóstico molecular, foi amplificado um fragmento correspondente ao gene da CP do potyvírus em estudo.

Palavras-chave: Fitovírus; Sintomas; Diagnóstico; RT-PCR; *Passiflora*.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil por ser um país tropical, abriga quatro gêneros da família *passifloraceae* (Bernacci, 2003). Entre esses quatros gêneros dessa família o maracujazeiro pertencente ao gênero *Passiflora*, destacando-se como importante planta nos pomares brasileiros (Meletti, 2011). O baixo rendimento da cultura de maracujá no país deve-se principalmente a falta de controle de doenças, provocando grandes prejuízos na lavoura.

Dentre as doenças que atacam a cultura de maracujá no país, as viroses são as mais importantes, pois se propagam muito rápido por todas as regiões do Brasil, sendo a mais importante doença para essa cultura, o vírus do endurecimento dos frutos que pode ser causada principalmente pelo *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), doença de etiologia viral mais importante no Brasil e que está disseminada na maioria das regiões produtoras (Nascimento *et al.*, 2006). Esse vírus pertence ao gênero *Potyvirus* da família *Potyviridae*. Os potyvírus possuem partícula alongada e flexuosa, com 690-760 nm de comprimento por 11-16 nm de largura. O genoma é constituído por um RNA de fita simples, sentido positivo, com aproximadamente 10.000 nucleotídeos (Van Regenmortel *et al.*, 2000).

A disseminação do vírus se dá por meio de afídeos (Pulgões) que, ao sair pra se alimentar acaba confundindo as folhas do maracujazeiro com as de plantas que usam pra se alimentar e durante a picada de prova infecta planta. A disseminação pode ocorrer também por

mudas contaminadas por ferramentas utilizadas nos tratos culturais e por microenxertia (Santana *et al.*, 2008). A sintomatologia observada nas folhas pela infecção desses vírus pode variar de mosaico leve a mosaico severo, seguido de deformação foliar e bolhosidade. Nos frutos são observados endurecimento do pericarpo (Kitajima *et al.*, 1986). Apesar dos prejuízos acarretados em diversas culturas, que incluem o maracujazeiro no Brasil, verifica-se uma carência de estudos baseados em identificar o vírus causador do endurecimento dos frutos em maracujazeiro na região do Cariri Paraibano, tendo em vista que a definição do agente casual permitirá uma elaboração de estratégias para o seu combate e manejo nas condições locais. Com isso, torna-se necessário efetuar um levantamento de graus de incidência de vírus em diferentes pomares da região do Cariri paraibano. Diante disso, o objetivo realizar um levantamento e identificar isolados de *Potyvirus* induzindo endurecimento dos frutos em maracujazeiro, coletados em áreas de pequenos produtores do cariri paraibano.

2 MATERIAL E MÉTODOS

- COLETA DAS AMOSTRAS

A coleta do material foi realizada através de visitas em propriedades de pequenos produtores locais no município de Sumé, Paraíba. Foram coletadas amostras de plantas de maracujá-amarelo que apresentaram algum sintoma típico de infecção por vírus. As amostras coletas foram postas em pequenos sacos de papel e devidamente identificados com data da coleta, nome do produtor onde a amostra foi coletada.

- DIAGNÓSTICO MOLECULAR

A extração do RNA foi feita de acordo com a metodologia de Maritan (2004), onde foi usado o vírus purificado usando-se o kit "RNeasy Plant Mini" de acordo com instruções do fabricante (Qiagen). O RNA viral foi empregado como molde para a síntese de cDNA via transcrição reversa, utilizando-se o kit "SuperScript Preamplification System for First Strand cDNA Synthesis" (GibcoBRL) e um oligonucleotídeo com uma sequência de bases timina (poli-T: 5'G-A-C-T-G-G-A-T-C-C T₍₁₄₎3').

A reação de PCR consistiu na amplificação da região codificadora da CP via reação em cadeia da polimerase (PCR). Foram utilizados os oligonucleotídeo poli-T em conjunto com um oligonucleotídeo específico, desenhado a partir da sequência da região codificadora da CP de um isolado de potyvirus causador de endurecimento dos frutos do maracujazeiro de Minas Gerais (poty-5: 5'G-C-G-G-G-A-T-C-C-A-T-G-T-C-T-G-A-T-G-G-A-A-A-G-G-A-C-A-A-A-G-A3') (BRAZ, 1999). O ciclo da reação consistiu em desnaturação inicial por 10 min e 30 ciclos de 1 min de desnaturação a 94 °C, 1 min de anelamento dos oligonucleotídeos a 47 °C e 2 min de extensão a 72 °C, em um Termociclador MJ Research. A preparação do gel de agarose consistiu de 1 grama de agarose e 100 mL de tampão TBE 0,5% (Tris, Borato e EDTA). Após solidificação do gel em cuba eletroforética, as amostras foram aplicadas e coradas com SYBR Green I, comparadas com marcador de peso molecular 1Kb e visualizadas em fotodocumentador.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

AVALIAÇÕES DOS SINTOMAS NAS AMOSTRAS COLETADAS

As amostras de folhas de maracujazeiro coletadas foram levadas para o laboratório de Cultura de Tecidos Vegetal UFCG/CDSA/UAEB para o prévio diagnóstico. A sintomatologia observada consistiu de mosaico severo, deformação foliar e sintoma típico do endurecimento dos frutos (Figura 1). Os resultados apresentados nesse trabalho estão de acordo com Cavichioli *et al.* (2011), na avaliação da incidência e severidade do vírus do endurecimento do fruto em maracujazeiros enxertados em pé – franco no estado de São Paulo.

Nas amostras testadas foi confirmada o fragmento amplificado correspondente ao tamanho da banda esperada (Figura 2). Este resultado está de acordo com a literatura, quando descrevem os sintomas de infecção do endurecimento dos frutos em maracujazeiro (Nascimento, *et al.* 2006). Os resultados deste trabalho contribuem para o desenvolvimento de novos estudos mais aprofundado como a caracterização molecular do vírus CABMV no cariri paraibano, já que não existia trabalhos de detecção do vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro na região, abrindo caminhos para posteriores estudos direcionando o manejo apropriado das lavouras, a fim de diminuir a proliferação desse potyvírus. Assim aumentar a produtividade das plantações e sua vida útil nos campos, já que o clima da região possui suas peculiaridades, podendo adaptar o manejo dos pomares as condições climáticas da região.

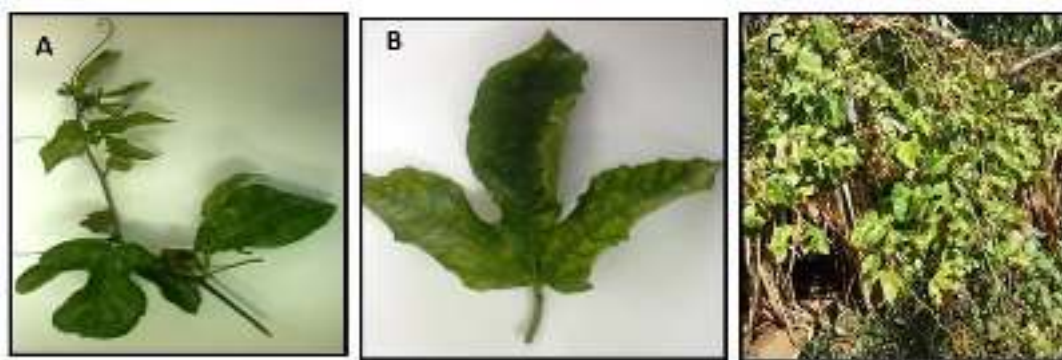


Figura 1. Plantas de maracujazeiro amarelo exibindo sintomas do endurecimento dos frutos coletadas nos municípios do Cariri Paraibano.

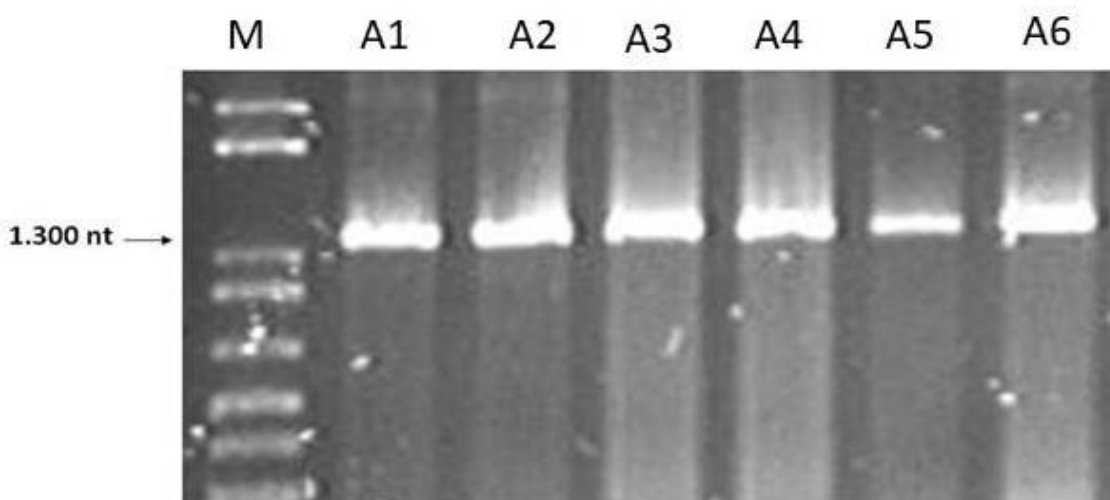


Figura 2. Diagnóstico RT-PCR de amostras infectadas com Potyvírus.

3 CONCLUSÃO

- As amostras coletadas apresentaram sintomas típico da doença endurecimento dos frutos do maracujazeiro;
- O Teste Molecular RT-PCR utilizando *primer* específico para CABMV confirmou a infecção das amostras.

REFERÊNCIAS

BRAZ, A.S.K. **Clonagem e seqüenciamento dos genes da proteína capsidial e da replicase de um *Potyvirus* causador de endurecimento dos frutos do maracujazeiro, e transformação de maracujá-amarelo com construção derivada desses genes.** Tese M.S., Dep. de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 1999. Acesso 27 abril 2018.

CAVICHIOLO, J. C.; CORRÊA, L. S.; NARITA, N.; KASAI, F. S. Incidência e severidade dos vírus do endurecimento dos frutos em maracujazeiros enxertados em pé-francoi. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, Volume Especial, E. 411-414, Outubro 2011.

KITAJIMA, E.W., CHAGAS, C.M. & CRESTANI, O.A. Enfermidades de etiologia viral e associadas a organismos do tipo micoplasma em maracujazeiro no Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 11:409-432. 1986

MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Rev. Bras. Fruticultura**, Jaboticabal - SP, Volume Especial, E. 083-091, outubro 2011.

NASCIMENTO, A.V.S.; SANTANA, E.N.; BRAZ, A.S.K.; ALFENAS, P.F.; PIO-RIBEIRO, G.; ANDRADE, G.P.; CARVALHO, M.G.; ZERBINI, F.M. Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) is widespread in passion fruit in Brazil and causes passionfruit woodiness disease. **Archives of Virology**, New York, v.151, p. 1797-1809, 2006.

SANTANA, E. N.; MARTINS, M. V. V.; COSTA, H.; VENTURA, J. A.; COSTA A. F. S.; LIMA I. M. Vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro no estado do espírito santo. **Documento nº 161**, Vitória- ES, abril 2008.

VAN REGENMORTEL, M.H.V., FAUQUET, C.M., BISHOP, D.H.L., CARSTENS, E., ESTES, M.K., LEMON, S., MANILOFF, J., MAYO, J.A., McGEOCH, D.J., PRINGLE, C.R. & WICKNER, R. (Eds.) *Virus taxonomy. Classification and nomenclature of viruses. Seventh report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses.* New York: Academic Press. 2000.