Resumo 13

DOI: 10.31368/1980-6221c00132020

DETECÇÃO DE VÍRUS TRANSMITIDOS POR ÁCAROS *Brevipalpus* QUE AFETAM PLANTAS ORNAMENTAIS NO BRASIL: AJUSTE DE UM PROCEDIMENTO DE ALTA PERFORMANCE PARA A HOMOGENEIZAÇÃO DE TECIDOS VEGETAIS MEDIANTE UM MOINHO DE ESFERAS. GAROFALO LEÃO, I. G. F.^{1,2*}; RAMOS-GONZÁLEZ, P.L.²; FREITAS-ASTÚA, J.^{2,3}. ¹Universidade Anhembi Morumbi, SP. ²Instituto Biológico, Centro de Pesquisa de Sanidade Vegetal, URL em Biologia Molecular Aplicada, Av. Conselheiro Rodrigues Alves 1252, CEP 04014-900, SP. ³Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brasil. E-mail: isabelagarofalo@gmail.com. ***Detection of Brevipalpus-transmitted viruses affecting ornamental plants in Brazil: Customizing a high-throughput procedure for plant tissue homogenization based on bead mill technology.***

Os vírus transmitidos por ácaros do gênero *Brevipalpus* (VTBs) afetam uma ampla gama de espécies vegetais incluindo grandes culturas como os citros (*Citrus* spp.), café (*Coffea* spp.), outros de menor extensão como o maracujá (*Passiflora* spp.), e ornamentais de interesse econômico como as orquídeas. As infecções pelos VTBs produzem lesões necróticas e/ou cloróticas nas folhas, frutos e ramos, e em ocasionalmente a morte da planta. Atendendo às características biológicas e moleculares, os VTBs se classificam nos gêneros *Cilevirus* (bissegmentados [+] ssRNA) e *Dichorhavirus* (bissegmentados [-] ssRNA), das famílias *Kitaviridae* e *Rhabdoviridae*, respectivamente. Neste trabalho objetivou-se a detecção de VTBs em amostras de diferentes espécies orquídeas, e simultaneamente, otimizar um procedimento de alta performance para a maceração de tecido vegetal, o qual visa a eliminação do uso de $N_{2(l)}$ e reduz a contaminação externa ou entre amostras. O ajuste do protocolo de maceração de tecido foliar foi realizado com o equipamento FastPrep-24™ (MP Biomedicals, CA, EUA), microtubos (2 ml), esferas de aço e Trizol (Thermo Scientific, WI, USA). Foram realizados testes que combinaram diferentes número de esferas; e número, tempo de execução, e frequência dos ciclos do equipamento. O protocolo que demonstrou maior eficiência na maceração do tecido foi o seguinte: 0,1g de tecido foliar, 500 µL de Trizol, três esferas de aço, e dois ciclos de 30 seg a 6.5 MHz. Para a validação do protocolo foram processadas 48 amostras, cujos extratos de RNA foram avaliados por RT-PCR (GoScript™ Reverse Transcriptase e GoTaq polimerase, Promega, WI, USA) com iniciadores para o gene NADH desidrogenase. Vinte nove amostras (60%) foram positivas e no caso das negativas é possível a não adequação dos iniciadores com a espécie vegetal estudada. Para a segunda etapa, 16 amostras de orquídeas com sintomas característicos da infecção por VTB foram coletadas num jardim privado em Limeira, SP. Os ácaros *Brevipalpus* encontrados nas amostras e uma porção dos tecidos foram analisados mediante a microscopia de varredura e de transmissão, respectivamente. A partir dos extratos de RNA foram obtidos os cDNA, a presença viral foi verificada mediante PCR e a visualização dos amplicons em gel de agarose a 1%. Foi detectada a presença do dichoravirus orchid fleck virus, os cilevirus passion fruit green spot virus (PfGSV), e solanum violaefolium ring spot virus (SvRSV), um cilevirus tentativo cuja infecção em orquídeas é relatada pela primeira vez neste trabalho. A detecção molecular dos VTB condiz com a visualização de partículas de cilevirus nos tecidos infectados e com a identificação de ácaro das espécies *B. californicus* e *B. yothersi*, reconhecidos vetores deste tipo de vírus. Além do primeiro reporte de infecção natural de SvRSV em orquídeas, o trabalho identificou a ocorrência de infecção natural mista entre PfGSV e SvRSV.

*Bolsista PIBIC/CNPq/IB