



## AVALIAÇÃO DAS GRAMÍNEAS *Brachiaria decumbens* E *Pennisetum clandestinum* COMO HOSPEDEIRAS DO *Papaya meleira virus* (PMeV)

Astrid Viviana Santacruz Benavides, Mateus Melotti Martins, Aline Brito Vaz, Raquel Juliana Vionette do Amaral, José Aires Ventura e Patrícia Machado Bueno Fernandes

Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Laboratório de Biotecnologia Aplicada ao Agronegócio, CEP 29040-090, Vitória – ES. E-mail: patricia.fernandes@ufes.br

### INTRODUÇÃO

A fruticultura é uma atividade de importância não só por sua contribuição nutricional como fonte de vitaminas e minerais, mas também por cooperar nos aspectos sociais, econômico e no crescimento do PBI dos países produtores (ODEPA, 2010).

Conforme a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), em 2014 o Brasil foi o segundo maior produtor mundial de mamão, ficando atrás apenas da Índia (FAO, 2014). O Estado do Espírito Santo é o maior exportador de mamão do Brasil e o segundo Estado onde mais se produz a fruta pelo uso de tecnologias modernas e pelo manejo adequado das plantações. Informações indicam que no ano de 2013 do 1,85 milhão de toneladas a nível nacional, 560 mil foram provenientes do Espírito Santo (IBGE, 2013). Entretanto, um dos fatores mais limitantes da produção dos mamoeiros são as doenças de origem viral, acarretando em grandes perdas de até um 100% na produção, dependendo do manejo da cultura e condições ambientais (TAVARES et al., 2004; SARAIVA et al., 2006). Um dos vírus que mais ameaça a cultura do mamão hoje no Brasil é o *Papaya meleira virus* (PMeV). Essa doença, conhecida vulgarmente como meleira, teve seu primeiro relato em 1980 afetando pomares de mamão no sul da Bahia e no norte do Espírito Santo (NAKAGAWA; TAKAYAMA e SUZUKAMA, 1987; CORREA et al., 1988; RODRIGUES et al., 1989). Dois anos depois, difundiu-se rapidamente, causando sérios danos nas culturas de mamão (RODRIGUES et al., 1989) no Brasil e, mais recentemente, no México (PEREZ BRITO et al., 2012).

Em geral, para ocorrer à disseminação de doenças virais é necessária a presença de plantas hospedeiras que crescem no entorno dos pomares, constituindo-se fonte de inóculo e reservatórios longevos da doença em campo (VENTURA et al., 2003). A habilidade de dispersão de um vírus de um hospedeiro a outro é componente fundamental no ciclo de infecção, e os vírus têm desenvolvido estratégias especializadas e particulares para sua transmissão e sua sobrevivência (BROW e CZONSNEK, 2006). Em pomares de mamão tem sido comprovada a existência de uma ampla gama de plantas invasoras, entre elas as gramíneas que têm potencial de ser hospedeiras do vírus no campo (VENTURA et al. 2003). Pesquisas de

epidemiologia da meleira do mamoeiro demonstraram que os focos iniciais da doença ocorriam próximo das áreas com gramíneas (ROELFS e BUSHNELL, 2014).

No presente trabalho o envolvimento das gramíneas *Brachiaria decumbens* e *Pennisetum clandestinum* foi avaliado como possíveis hospedeiras para o *Papaya meleira vírus*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados em casa de vegetação e no laboratório de Biotecnologia Aplicada ao Agronegócio do Núcleo de Biotecnologia da Universidade Federal do Espírito Santo. A obtenção e propagação das gramíneas *B. decumbens* Stapf. e *P. clandestinum* Hochst. ex Chiov., foi realizada através da multiplicação vegetativa natural de plantas fornecidas pelo Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER). Os procedimentos experimentais com as gramíneas foram totalmente conduzidos em casa de vegetação. As *Brachiarias* foram indexadas através de RT-PCR. Após o diagnóstico, as plantas foram inoculadas de acordo à metodologia descrita por Rodrigues et al. (2009). O desenho experimental conduzido foi o que se segue: Grupo 1 (Controle negativo): Gramíneas inoculadas com 10 µL de tampão citrato de sódio (pH 5, 1M); Grupo 2 (Controle negativo 2): Gramíneas inoculadas com 10 µL de látex sadio diluído em tampão citrato de sódio pH 5 (1:1 v/v); Grupo 3 (Teste): Gramíneas inoculadas com 10 µL de látex infectado com PMeV diluído em tampão citrato de sódio pH 5 (1:1 v/v); Grupo 4 (Controle negativo 3): Testemunha absoluta.

As inoculações foram realizadas de acordo com a metodologia desenvolvida por Rodrigues et al, (2005). As avaliações das folhas das regiões apical, basal e dos estolões foram feitas com 15, 30, 45 e 60 dias após a inoculação (DAI), através de diagnóstico por RT-PCR. Além disso, foi avaliada a presença de sintomas por observação da presença de lesões locais cloróticas, deformação foliar, bolhosidade, cloroses ou sua ausência total segundo a metodologia descrita por Chung; Azeved e Colariccio (2007). Também foi avaliada a inoculação por abrasão, com o propósito de verificar a efetividade da transmissão. No momento da inoculação, a área da folha foi isolada com plástico visando garantir que no processo de diagnóstico não tenha sido detectado o inoculo empregado no momento da inoculação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A susceptibilidade das gramíneas *B. decumbens* e *P. clandestinum* ao PMeV foi determinada através de avaliação visual diária e não foi observado nenhum tipo de alteração nas características fenotípicas das duas espécies de plantas em todos os tempos de avaliação (30, 45 e 60 DAI) para todos os grupos (Grupo 1, Grupo 2, Grupo 3 e Grupo 4).

Foi detectado, através do diagnóstico por RT-PCR, a presença de fragmentos de 300pb referente ao genoma viral nos controles positivos, semelhante aos padrões de eletroforeses reportados por Abreu et al.

(2012) em extrações de PMeV e amplificação com iniciadores específicos. Estes tipos de bandas foram visíveis em todos os tempos da avaliação. Vale notar que não foi observada a banda nas amostras coletadas dos estolões (Figura 1).



FIGURA 1. Diagnóstico do PMeV por PCR em gramíneas. A linha 1 corresponde ao marcador 1 kb (Invitrogen. Life Tecnologies). Faixa número 2: controle positivo folhas de mamão com meleira com uma banda correspondente a um fragmento de 300 pb do PMeV. A linha número 3: o branco. A linha 4 (Folhas apicais de *B. decumbens*), 5 (Folhas basais de *B. decumbens*), 9 (Folhas apicais de *P. clandestinum*), 10 (Folhas basais de *P. clandestinum*) representam os controles inoculados com látex infectado. Enquanto as linhas 6, 7, 8, 11, 12, 13 correspondem os controles negativos.

As plantas das duas espécies desenvolveram-se normalmente no transcorrer do tempo. Foi possível comprovar a existência de movimento viral a curta e longa distância para o método de inoculação por injeção em todos os tempos de avaliação. Para o método de inoculação do PMeV por abrasão, os resultados observados foram positivos para *B. decumbens* nas amostras correspondentes às folhas coletadas da região apical da planta 30 dias após a inoculação (Figura 2).



FIGURA 2. Diagnóstico do PMeV por PCR em gramíneas pelo método de inoculação por abrasão. A linha 1 corresponde ao marcador 1 kb (Invitrogen. Life Tecnologies), linha número 2: o branco, linha número 3: controle positivo. As linhas 4, 5 são amostras de número 3: controle positivo. As faixas 4, 5 são amostras de folhas de *B. decumbens*. Enquanto as faixas 6, 7, 8 correspondem aos controles negativos. As faixas 9, 10 são amostras de folhas de *P. clandestinum*. Faixas 11, 12, 13 correspondem aos controles negativos.

Para a espécie *B. decumbens* a detecção do PMeV foi confirmada com os dois métodos de inoculação. Sugere-se que a presença de tricomas facilita a infecção e penetração do vírus pelas injúrias ocasionadas ao momento da fricção no processo de inoculação por abrasão. Para o *P. clandestinum* no método de inoculação

por abrasão o resultado foi negativo para as plantas inoculadas do grupo 3. A possível causa desta variação, conforme aos dados obtidos no primeiro método de inoculação testado, é a interferência de um ou vários elementos ambientais que afetam a suscetibilidade da gramínea a uma infecção.

## CONCLUSÕES

Foi confirmada experimentalmente a capacidade do PMeV de se replicar nas gramíneas *B. decumbens* e *P. clandestinum*. A presença destas duas espécies de gramíneas em pomares comerciais de mamão passa a representar um fator adicional na epidemiologia da doença, que pode explicar a sua dispersão temporal e espacial, bem como a maior incidência de plantas infectadas nos pomares próximos às pastagens.

## AGRADECIMENTOS

Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, FINEP, FAPES.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, P. M; PICCIN, J. G; RODRIGUES, S. P; BUSS, D. S; VENTURA, J. A; FERNANDES, P. M. Molecular diagnosis of Papaya meleira virus (PMeV) from leaf samples of *Carica papaya* L. using conventional and real-time RT-PCR. **Journal of virological methods**, London, v. 180, n. 1, p. 11-17, 2012.
- BROWN, J. K. Y H. CZOSNEK. **Whitefly transmission of plant viruses. Advances in Botanical Research**. San Diego, USA. Plumb. Academic Press, 2006. 100 p.
- CHUNG, R; AZEVED, J; COLARICCIO, A. Reaction of *Lactuca sativa* L. lines to Lettuce mosaic virus (LMV). **Bragantia**, Campinas, v. 66, n 1, p. 61-68, 2007.
- CORREA, F. J. F; FRANCO, B. J. D. C; WATANABE, H. S; SAKAY, M. Y; YAMASHITA, E. M. A. Estudo preliminar sobre exsudação do látex do mamoeiro - Teixeira de Freitas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DA CULTURA DO MAMOEIRO, II., 1988. Jaboticabal, SP. **Anais...** p. 409-428.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Medium-term prospects for agricultural commodities: Tropical fruits. Roma, 2010. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/006/y5143e/y5143e1a.htm>> Acesso em: 20 mar. 2015.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Production crops (papayas) by countries and year: FAOSATAT: 2010. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>> Acesso em: 20 mar. 2015.

- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA Banco de dados agregados 2015. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=1613&z=p&o=28&i=P>>. Acesso em: 6 Jan. 2015.
- NAKAGAWA, J; TAKAYAMA, Y; SUZUKAMA, Y. Exsudação de látex pelo mamoeiro. Estudo de Ocorrência em Teixeira de Freitas, BA. In: Anais, Congresso Brasileiro de Fruticultura, IX, 1987. Campinas, SP. **Anais...** p.555-559.
- PEREZ-BRITO, D; TAPIA-TUSSELL, R; CORTES-VELAZQUEZ, A; QUIJANORAMAYO, A; NEXTICAPAN-GARCEZ, A; MARTÍN-MEX, R. First report of papaya meleira virus (PMeV) in Mexico. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 11, n. 71, p. 13564-13570, 2012.
- RODRIGUES, C. H; ALVES, F. L; MARIN, S. L. D; MAFFIA, L. A; VENTURA, J. A; GUTIERREZ, A. S. D. Meleira do mamoeiro no estado do Espírito Santo: enfoque fitopatológico. Linhares: EMCAPA, In: **Selecta de Trabalhos sobre a meleira do mamoeiro**, 1989.
- RODRIGUES, S. P. et al. Método de diagnóstico molecular simples para a detecção do vírus da meleira do mamoeiro em látex e tecidos de plantas infectadas. **Summa Phytopathologica**, v. 31, n. 3, p. 281-283, 2005.
- RODRIGUES, S. P; CUNHA, M; VENTURA, J. A; FERNANDES, P. M. B. Effects of the Papaya meleira virus on papaya latex structure and composition. **Plant Cell Reports**, Berlin, v.28, n. 5, p.861-871, 2009.
- ROELFS, A. P; BUSHNELL, W. R. **Diseases, Distribution, Epidemiology, and Control**. Orlando: Academic Press, 2014. 630 p.
- SARAIVA, A. C. M; PAIVA, W. O; RABELO FILHO, F. O. A. C; LIMA, J. A. A. Transmissão por mãos contaminadas e ausência de transmissão embrionária do vírus do amarelo letal do mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.31, n. 1, p.79-83, 2006.
- TAVARES, E. T; TATAGIBA, J. S; VENTURA, J. A; SOUZA JÚNIOR, M. T. Two new systems of early diagnosis of papaya sticky disease. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n. 5, p.563-566, 2004.
- VENTURA, J. A; COSTA, H; TATAGIBA, J. D. S; ANDRADE, J. D. S; MARTINS, D. D. S. Meleira do mamoeiro: etiologia, sintomas e epidemiologia. In: **Papaya Brasil: Qualidade do mamão para o mercado interno**. Vitória. INCAPER. 2003. p. 267-276.