

DETECÇÃO DE dsRNA EM FEIJOEIRO 'RIO TIBAGI' E NO FUNGO CAUSADOR DA FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA

Karolina Ribeiro da Rocha (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Eliezer Rodrigues de Souto (Orientador), e-mail: ersouto@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências Agrárias/Maringá PR.

5.01.00.00-9 Agronomia / 5.01.02.00-1 Fitossanidade

Palavras-chave: dsRNA, *Endornavírus*, Micovirus

Resumo:

A maioria dos vírus causadores de doenças de plantas apresenta genoma constituído de RNA de fita simples. No entanto, recentemente, também foram encontrados vírus com genoma composto de RNA de dupla fita (dsRNA), os *Endornavírus*, não patogênicos. Em fungos a infecção por vírus, conhecidos por micovírus, também é comum, sendo estes, na sua maioria, possuidores de genoma de dsRNA. O objetivo desse trabalho foi testar um protocolo de extração de dsRNA em amostras foliares da cultivar de feijoeiro 'Rio Tibagi', e nos urediniosporos do fungo causador da ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*). Foi constatada a presença de dsRNA no feijoeiro 'Rio Tibagi', provavelmente pertencente ao genoma de endornavírus, e nos esporos da ferrugem, típicos dos encontrados em micovirus.

Introdução

A maioria dos vírus que infectam plantas possuem genoma constituído por RNA de fita simples. Porém, recentemente foi constatada a presença de fitas duplas de RNA (dsRNAs) no feijoeiro cv. Black Turtle Soup, representando duas novas espécies do gênero *Endornavirus*, distantemente relacionadas (Okada et al., 2013).

Desde a primeira descrição de micovirus há cerca de 50 anos (Hollings, 1962), a detecção de vírus em fungos tem sido comum, sendo que a grande maioria dos micovirus possuem genoma de dsRNA, muito embora, a descoberta de micovirus com genoma de RNA de fita simples seja significativa (Pearson et al., 2009).

Materiais e métodos

Amostras foliares de feijoeiro 'Black Turtle Soup' e de 'Rio Tibagi' foram picadas, embaladas em papel de filtro, e acondicionadas em frascos de vidro contendo sílica gel granulada, e armazenadas em geladeira a 9 °C por pelo menos 48h para desidratação. A cultivar de feijoeiro 'Black Turtle Soup', foi utilizada como padrão, por conter uma linhagem conhecida por conter endornavirus, (BTS+), e outra linhagem negativa (BTS-).

Folhas de soja contendo pústulas do fungo causador da ferrugem foram coletadas no campo, e de cada lesão foliar foram coletados os esporos com auxílio de um pincel de 0,5 cm de largura. Foi utilizado o protocolo proposto por Khankhum *et al.* (2017), nas extrações de dsRNA a partir de 50-70 mg de tecido foliar macerado em almofariz e pistilo, acondicionado em microtubos de 1,5 ml, ou de 50-70 mg de esporos do fungo, também acondicionados em tubos de 1,5 ml. Cada produto de extração (40 µl) foi dividido em alíquotas de 20 µl para tratamento com DNase, visando a degradação de eventuais bandas constituídas de DNA.

Resultados e Discussão

Na figura 1 são apresentados os resultados das extrações de dsRNA a partir de amostras foliares de feijoeiro e de urediniósporos de *P. Pachyrhizi*. As bandas localizadas na parte superior do gel correspondem provavelmente a dsRNA de endornavírus presentes em feijoeiro 'Rio Tibagi', similares ao padrão descrito para endornavírus da linhagem de feijoeiro 'Black turtle soup' + (Okada *et al.*, 2013). Já o padrão de bandas presentes nas linhas 7 e 8, foram similares aos obtidos para micovírus da ferrugem da soja, conforme Khankhum *et al.* (2017).

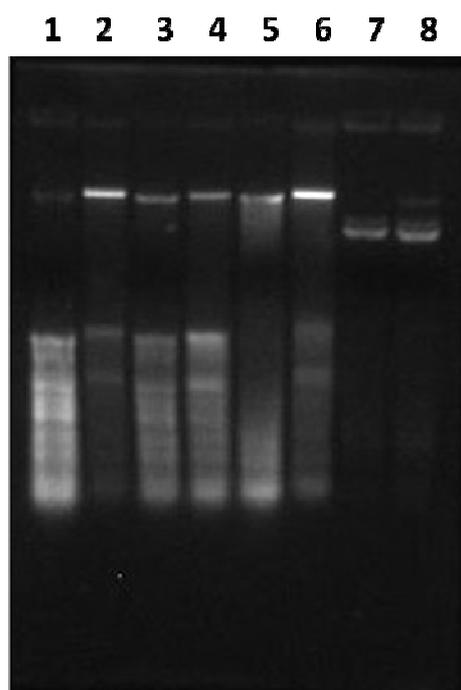


Fig.1 - Eletroforese em gel de agarose a 1,2% de produtos de extração de dsRNA. Linha 1- Linhagem de feijoeiro 'Black Turtle Soup' dsRNA negativa (BTS-), 2- BTS+, 3 e 6- Feijoeiro 'Rio Tibagi' não tratado com DNase, 4 e 5- 'Rio Tibagi' tratado com DNase, 7- Urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* (ferrugem da soja) não tratado, 8- *P. pachyrhizi* tratado com DNase.

Conclusões

O protocolo utilizado para detecção de dsRNA em amostras de feijoeiro, e nos urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* foi eficiente.

Os padrões de bandas obtidos corresponderam ao esperado para endornavírus de feijoeiro, e para os micovírus de ferrugens.

Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa PIBIC concedida.

Referências

HOLLINGS, M. Viruses associated with a die-back disease of cultivated mushroom. **Nature**, v.196, p.962–965, 1962.

KHANKHUM, S, ESCALANTE C, SOUTO ER, VALVERDE R A. Extraction and electrophoretic analysis of large dsRNAs from desiccated plant tissues infected with plant viruses and biotrophic fungi. **European Journal of Plant Pathology**, v.147, p. 431-441, 2017.

OKADA R, KIYOTA E, SABANADZOVIC S, MORIYAMA H, FUKUHARA T, SAHA P, ROOSSINCK M J, SEVERIN A, and VALVERDE R A. Bell pepper endornavirus: molecular and biological properties, and occurrence in the genus *Capsicum*. **Journal of General Virology**, v.92, p. 2664-2673, 2013.

PEARSON, M. N., BEEVER, R. E., BOINE, B. and ARTHUR, K. Mycoviruses of filamentous fungi and their relevance to plant pathology. **Mol. Plant Pathol**, v. 10, p.115–128, 2009.