

DETECÇÃO DE dsRNA ASSOCIADO A ENDORNAVIRUS EM CULTIVARES DE FEIJOEIRO

Natália Chiareli Rosa (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Danielle Caroline Manenti (PGM/UEM), Eliezer Rodrigues de Souto (Orientador), e-mail: ersouto@uem.br

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

Área: Ciências Agrárias, subárea Agronomia

Palavras-chave: dsRNA, RT-PCR, *Phaseolus vulgaris*

Resumo:

Em plantas predominam os vírus patogênicos com genoma constituído de RNA de fita simples. No entanto, também podem ser encontrados vírus de RNA de fita dupla (dsRNA) não patogênicos, pertencentes ao gênero *Endornavirus*. O objetivo dessa investigação foi testar um protocolo para detecção de dsRNAs em cultivares de feijoeiro, e nas amostras positivas, detectar endornavírus por RT-PCR. De 15 cultivares de feijoeiro testadas, dsRNAs foram detectados em 13, confirmando-se por testes de RT-PCR a presença de endornavírus nessas cultivares, com ampliações esperadas de 381 pb com primers específicos para *Endornavirus*.

Introdução

Embora os vírus de RNA de fita simples predominem como patógenos de plantas, recentemente constatou-se a presença de fitas duplas de RNA (dsRNAs) no feijoeiro cv. Black Turtle Soup, representando duas novas espécies do gênero *Endornavirus* (Okada et al., 2013). Os *Endornavirus* são vírus não envelopados, cuja capa proteica abriga uma molécula simples de dsRNA, podendo infectar plantas, fungos e oomicetos, sem causar-lhes doenças (Valverde & Gutierrez, 2007). Neste trabalho o objetivo foi extrair dsRNAs de feijoeiros, e utilizando primers específicos para o gene da polimerase de *Endornavirus*, testar através de RT-PCR, amostras dsRNA positivas.

Materiais e métodos

Em solo adubado foram plantadas 15 variedades de feijão: BRS Compeixo, BRS Esplendor, BRS Talismã, BRS 7762 Supremo, BRS Horizonte, BRS Majestoso, BRS Ametista, BRS Estilo, BRS Requite, Pérola, BRS Madrepérola, BRS Grafite, BRS Pontal, BRS Notável e Rio Tibagi. De plantas adultas foram retiradas 2g de folhas, que após desidratadas em

sílica gel, foram submetidas à extração de dsRNA conforme o protocolo de Khankhum et al. (2017). Os produtos de extração obtidos foram analisados em gel de agarose a 1,2%, e amostras com a presença de bandas no gel foram tratadas com DNase I durante 30 min a 37 °C, e novamente submetidas à eletroforese para confirmação da presença de dsRNA. Posteriormente, estas mesmas amostras foram testados com primers que amplificam 381 pb do gene da replicase de *Endornavirus*, em reações de RT-PCR conforme Okada et al. (2011).

Resultados e Discussão

Houve detecção de dsRNA em 13 de 15 cultivares de feijoeiro testadas (Tabela 1 e Fig.1), assim como obteve-se a amplificação de 381 pb correspondentes à amplificação de parte do genoma de endornavírus, em 13 cultivares. Na Fig.2 são apresentadas as amplificações de RT-PCR obtidas a partir do dsRNA extraído de 3 amostras dsRNA positivas. Estes resultados confirmaram a infecção de *Endornavirus* em cultivares de feijoeiro testadas.

Tabela 1 – Detecção de dsRNA e RT-PCR com primers para *Endornavirus* em cultivares de *Phaseolus vulgaris*.

Cultivar de <i>P. vulgaris</i>	dsRNA	RT-PCR p/ <i>Endornavirus</i>
Rio Tibagi	+	+
BRS Esplendor	-	-
BRS Notável	+	+
BRS Estilo	+	+
Pérola	+	+
BRS Grafite	+	+
BRS Ametista	+	+
BRS Horizonte	-	-
BRS Pontal	+	+
BRS Talismã	+	+
BRS Madrepérola	+	+
BRS 7762 Supremo	+	+
BRS Requite	+	+
BRS Compeixo	+	+
BRS Magestoso	+	+

(+) Positivo, (-) Negativo

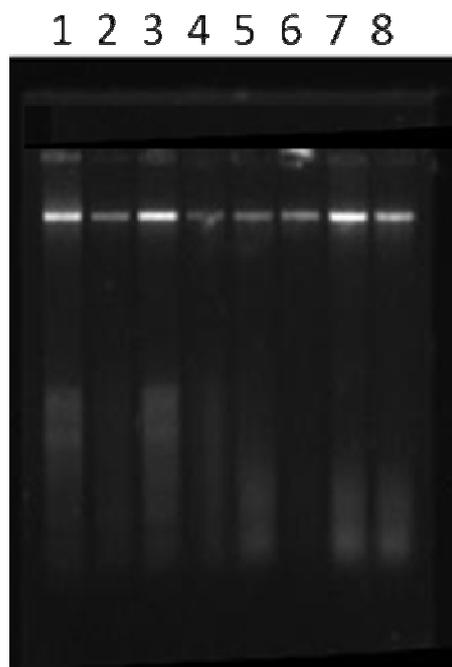


Figura 1 – Detecção de dsRNA em gel de agarose a 1.2% em cultivares de *P. vulgaris*, após tratamento com DNase I. 1- Rio Tibagi, 2- BRS Majestoso, 3- Pérola, 4- BRS Pontal, 5- Requite, 6- BRS Ametista, 7- BRS Grafite, 8- BRS Notável.

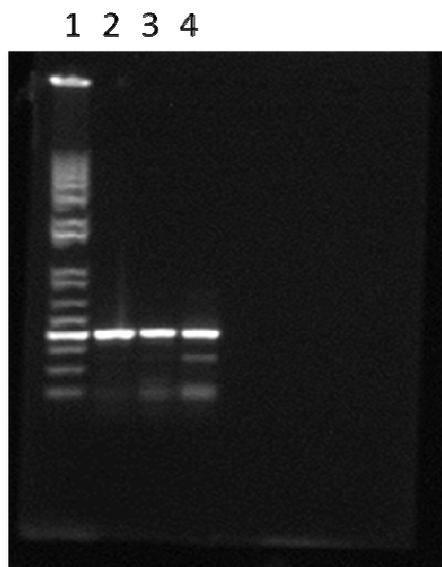


Figura 2 – Amplificações de RT-PCR de 381 pb com primers específicos para o gene da replicase de *Endornavirus*. 1- DNA ladder 100 pb, 2- Rio Tibagi, 3- BRS Notável, 4- BRS Estilo.

Conclusões

- O protocolo utilizado foi eficiente na detecção de dsRNA em 13 de 15 cultivares de feijoeiro testadas.
- As amplificações de RT-PCR obtidas indicaram que os dsRNA detectados correspondem a parte do genoma de *Endornavirus*.

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da bolsa de iniciação científica.

Referências

Khankhum, S, escalante C, Souto E.R., 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., Valverde R.A. Bell pepper endornavirus: molecular and biological properties, and occurrence in the genus Capsicum. **Journal of General Virology**, v.92, n.11, p. 2664-73, 2011.

Okada R., Yong C. K., Valverde R. A., Sabanadzovic S., Aoki N., Hotate S., Kiyota E., Moriyama H., Fukuhara T. Molecular characterization of two evolutionarily distinct endornaviruses co-infecting common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of General Virology**, v. 94, n.1, p.220-229, 2013.

Valverde R A & Gutierrez D L. Transmission of a dsRNA in bell pepper and evidence that it consists of the genome of an endornavirus. **Virus Genes**, v. 35, p. 399–403. 2007.