

Ajuste de protocolo laboratorial para detecção molecular de viroses em macieiras

João Frederico Mangrich dos Passos^{1*}, Murilo Dalla Costa¹, Marcus Vinícius Kvitschal²

¹Pesquisador EPAGRI/Estação Experimental de Lages (EEL) – Rua João José Godinho, s/nº, Morro do Posto, 88.506-080, Lages, SC; ²Pesquisador da Epagri, Estação Experimental de Caçador - EECd, - Rua Abílio Franco, 1.500, 89.501-032, Caçador, SC.
joapassos@epagri.sc.gov.br

Fruteiras de clima temperado, tais como a macieira, são afetadas por uma série de espécies virais, apresentando menor vigor, redução da produtividade e qualidade dos frutos, bem como uma maior suscetibilidade a outros agentes fitopatogênicos. São comumente encontrados materiais vegetais com infecções múltiplas de vírus, causando sintomas complexos que normalmente são mais evidenciados em tecidos maduros, nos quais ocorre maior concentração viral. A disponibilidade de materiais livres de agentes patogênicos é um fator limitante para a sustentabilidade e a longevidade na atividade agrícola, principalmente em espécies de plantas propagadas vegetativamente, como a macieira. Assim, o objetivo deste trabalho foi o de averiguar a qualidade de ácido nucleico viral extraído das amostras foliares estudadas a partir de um protocolo existente na literatura para a diagnose de presença e/ou ausência de três (03) viroses em oito (08) acessos copa de macieira e sete (07) acessos porta-enxerto via técnicas de PCR. Extraiu-se o RNA viral a partir de 100 mg de fragmentos de folhas de macieira triturados em nitrogênio líquido (NL), seguindo o protocolo de extração de ácido nucleico por CTAB 2%, adaptado para plantas lenhosas. Para realização dos ensaios experimentais, materiais vegetais de macieira foram coletados de plantas matrizes infectadas por vírus, previamente identificadas por indexação sorológica e/ou molecular. O protocolo de extração de RNA viral com o uso de CTAB 2%, a partir de amostras foliares de macieiras, embora tenha apresentado um resultado bom na qualidade das amostras de cDNA produzidas, na relação A260/280, não apresentou amplificação em nenhuma das amostras testadas. Devido às amostras não terem apresentado amplificação com o protocolo usando CTAB 2%. Novas extrações serão feitas, porém seguindo o protocolo descrito por Rott and Jelkmann (2001), utilizando sílica no processo de extração e amostras oriundas de raspagem do lenho e não de folhas.

Palavras-chave: *Malus* sp., diagnose, PCR.