

RESUMO APRESENTAÇÃO ORAL CURTA - CAMPUS DUQUE DE
CAXIAS/GENÉTICA

**IDENTIFICAÇÃO DE ISOLADOS DE CLRDV, VÍRUS CAUSADOR DA
DOENÇA AZUL DO ALGODOEIRO, EM PULGÕES COLETADOS EM
CAMPO E EM CASA DE VEGETAÇÃO**

Vanessa Sales Da Rocha (vanessasales@ufrj.br)

Anna Karoline Fausto Da Silva (anna.karol@gmail.com)

Maite Vaslin De Freitas Silva (maite@micro.ufrj.br)

A Doença Azul do algodoeiro (DA) ou Cotton blue disease é um grave problema fitossanitário na cultura do algodão nas regiões produtoras brasileiras por provocar quedas na produtividade e obrigar o uso de inseticidas para seu controle. A doença é causada pelo Cotton leafroll dwarf virus (CLRDV), membro da família Luteoviridae, e do gênero Polerovirus. (MAYO & ZIEGLER-GRAFF, 1996) Há hoje circulantes dois grupos de isolados do CLRDV. Os que causam a DA típica e os que causam a DA atípica, e conseguem infectar plantas de variedades de algodão resistentes aos isolados do primeiro grupo. Sabe-se que o *Aphis gossypii* é o vetor obrigatório deste vírus, entretanto não há estudos mostrando a detecção molecular do vírus nestes vetores. A fim de avaliar a presença de isolados do CLRDV em pulgões coletados em campos de cultivo de algodão, foram realizados os testes de biologia molecular Nested RT-PCR e Taqman qPCR nestas amostras. Extrações de RNA total foram realizadas utilizando kit NucleoSpin® RNA Plant and Fungi. Foi necessário estabelecer modificações no protocolo de extração a fim de conseguir extrair RNA de boa qualidade das amostras de insetos liofilizados. Após obtenção dos

RNAs, eles foram submetidos a PCR tempo real Taqman segundo Galbieri et al. (2017). Este protocolo, entretanto, foi otimizado para aumentar a sensibilidade de detecção do vírus. A fim de determinar os níveis de detecção do protocolo de Taqman qPCR, foi feita uma quantificação absoluta com a finalidade de saber o potencial de detecção em quantidade de partículas/g. Nested RT-PCR foi utilizado para confirmação dos resultados de qPCR. Foram obtidas amplificações tanto no qPCR quanto no Nested indicando a presença do CLRDV em diversas amostras. Amostras positivas nos dois testes para o CLRDV foram enviadas para sequenciamento genético na empresa Macrogen, Coréia do Sul. A análise de bioinformática confirmou que as amostras amplificadas nas duas metodologias correspondiam ao CLRDV. Desta forma, foi possível estabelecer um protocolo de extração de RNA eficiente a partir de amostras de pulgões liofilizados e/ou conservados em álcool absoluto e identificar a presença de isolados de CLRDV atípico nestas amostras pelo teste de Taqman qPCR desenvolvido por Galbieri et al (2017).

Apoio financeiro: PIBIC CNPq, FAPERJ e BAYER

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MAYO, M. A., ZIEGLER-GRAFF, V. Molecular biology of luteoviruses. *Advances in virus research*, v. 46, p. 413–60, 1996.

Galbieri, R., Boldt, Alberto S., Scoz, Leonardo, B., Rodrigues, Sandra, M., Rabel, Diego O., Belot, Jean L., Vaslin, Maite F. S., Silva, Tatiane F., Kobayashi, Leimi., Chitarra, Luiz G. Cotton blue disease in central-west Brazil: Occurrence, vector (*Aphis gossypii*) control levels and cultivar reaction. (2017)