

USO DA CRIOTERAPIA NA LIMPEZA DE ACESSOS DO BANCO DE GERMOPLASMA DE ABACAXI INFECTADOS COM O COMPLEXO VIRAL PMWaV (*PINEAPPLE MEALYBUG WILT-ASSOCIATED VÍRUS*)

Andressa Henrique Sousa^{1*}; Paulo Henrique da Silva²; Fernanda Vidigal Duarte Souza²

¹Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. ²Embrapa Mandioca e Fruticultura. *andressa.henrique.s@gmail.com.

A criopreservação e crioterapia a partir de ápices caulinares são estratégias voltadas para a conservação de germoplasma em longo prazo e para a erradicação de vírus e outros patógenos de planta. O complexo viral PMWaV (*Pineapple mealybug wilt-associated vírus*) associado à murcha do abacaxizeiro vem provocando perdas significativas do Banco Ativo de Germoplasma de Abacaxi da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência da crioterapia na remoção do complexo viral de plantas oriundas da técnica de vitrificação em gotas (*Droplet vitrification*). O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura com os acessos, BAG 877 e BAG 882 que apresentaram sintomas da murcha do abacaxizeiro em condições de campo. Foram utilizadas 25 plantas in vitro, sendo 13 do acesso BGA 877 e 12 do acesso BAG 882, das quais foram excisados os ápices caulinares com aproximadamente 1,0 mm e que foram inoculados em meio de pré- cultivo com alta concentração de sacarose, por 48 horas. Na sequência, foram tratados com a solução de vitrificação (PVS2) por 45 min e posterior imersão por 60 min em nitrogênio líquido, lavagem e cultivo em meio de regeneração. Após o crescimento e multiplicação das plantas, foi realizada a etapa de indexação, com extrações de RNA total a partir de amostras do tecido foliar, utilizando reagente Trizol®. Para a síntese do cDNA, utilizou-se 5µg de RNA total tratado com DNase de acordo as recomendações do fabricante do kit High Capacity RNA-to-cDNA. Na reação de PCR foram utilizados 2,0µL do cDNA, 0,2 pmoles dos oligonucleotídeos, 0,2mM de dNTPs, 5,0µL do tampão da reação, 200mM Tris-HCl, pH 8,4, 500mM KCl, 30mM de MgCL₂, e 1U da Taq DNA polimerase. Após o processo de indexação, constatou-se que, em 17 (68%) das plantas não foi registrado a presença do vírus, sendo 6 plantas do acesso 877 (46%) e 11 plantas do acesso 882 (92%). Em relação à frequência dos vírus, o PMWaV-3 apresentou maior prevalência, permanecendo em 7 plantas (87,5%), enquanto que o PMWaV- 1 foi detectado em apenas uma planta (12,5%). Os resultados obtidos com os dois acessos supracitados são promissores e deixam evidentes que essa é uma abordagem interessante para a conservação de germoplasma livre de vírus. Igualmente relevante é o resgate dos acessos contaminados e a possibilidade de reintegração de plantas sadias no Banco de Germoplasma de abacaxi que está em condições de campo.

Palavras-chave: Crioterapia; *Ananas comosus L. Merr*; Limpeza Viral.

Agradecimentos: CNPq, FAPESB, UFRB e a Embrapa Mandioca e Fruticultura.