

ERRADICAÇÃO DE VÍRUS LATENTES DE MACIEIRA POR MEIO DA TÉCNICA DE CRIOTERAPIA POR VITRIFICAÇÃO EM GOTAS

Suzana De Carli¹, Matheus Correa Borba¹, Juliana Aparecida de Souza², Amauri Bogo³

¹ Acadêmico(a) do Curso de Agronomia - CAV - bolsista PIBIC/CNPq

² Mestre no Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal – CAV.

³ Orientador, Departamento de Agronomia– CAV - amauri.bogo@udesc.br.

Palavras-chave: Criopreservação, *Malus prunifolia*, mudas de qualidade.

Apple stem grooving virus (ASGV) e apple stem pitting virus (ASPV) estão entre as espécies virais mais frequentes e responsáveis por substanciais danos na indústria mundial da maçã. ASGV e ASPV em *Malus* são disseminadas apenas por material propagativo infectado e, portanto, o controle se dá por meio de medidas preventivas com materiais propagativos de qualidade. Ferramentas biotecnológicas podem ser utilizadas para a produção de matrizes com qualidade fitossanitária. O objetivo do trabalho foi avaliar a efetividade da crioterapia por vitrificação em gotas na erradicação dos vírus ASGV e ASPV em plantas do porta-enxerto de macieira Marubakaido. Meristemas com 1 mm (contendo 2-3 primórdios foliares) foram excisados de culturas estoque *in vitro* do porta-enxerto Marubakaido infectado por ASGV e ASPV e cultivados por um dia em meio basal para a estabilização, seguido de pré-cultivo por um dia em meio contendo 2 M de glicerol e 0,8 M de sacarose e, exposição à solução de vitrificação de plantas 2 (PVS2) por 0, 20, 40, 50, 60 e 80 min à 22°C seguido de tratamento em nitrogênio líquido (NL) por 1 h. Após o tratamento em NL, os meristemas foram descongelados por 20 min em solução de descarregamento composta de 1,2 M de sacarose e inoculados em meio de regeneração. As taxas de sobrevivência e regeneração foram avaliadas com 4 e 8 semanas após a etapa de crioterapia, respectivamente. Meristemas expostos em PVS2 a 22°C seguidos de tratamento em NL apresentaram as maiores taxas de sobrevivência (75 e 65%) e regeneração (53 e 58%) após 20 e 40 min de exposição em PVS2, respectivamente (Figura 1A e 1B). A eficiência da crioterapia para a erradicação de ASGV e ASPV foi determinada em plantas provenientes do processo de crioterapia e que foram mantidas em casa de vegetação por seis meses em crescimento *ex vitro*. A detecção dos vírus foi realizada utilizando o método de transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR; reverse transcription-polymerase chain reaction) para 20 plantas aleatoriamente selecionadas que passaram pela crioterapia. A crioterapia por vitrificação em gotas mostrou frequência de 70% e 100% de erradicação dos vírus ASGV e ASPV, respectivamente (Figura 2A e 2B). As elevadas taxas de erradicação de ASGV e ASPV demonstram que a crioterapia por vitrificação em gotas é uma ferramenta eficaz para a produção de material vegetativo de *Malus prunifolia* livre de vírus.

Fig 1. Efeito do tempo de exposição a solução vitrificante PVS2 mantidas em temperatura ambiente (22°C) na sobrevivência (A) e regeneração (B) de meristemas criopreservados (tratados em nitrogênio líquido) e controles (sem o tratamento em nitrogênio líquido) de plantas do porta-enxerto de macieira Marubakaido no período 2018/2019.

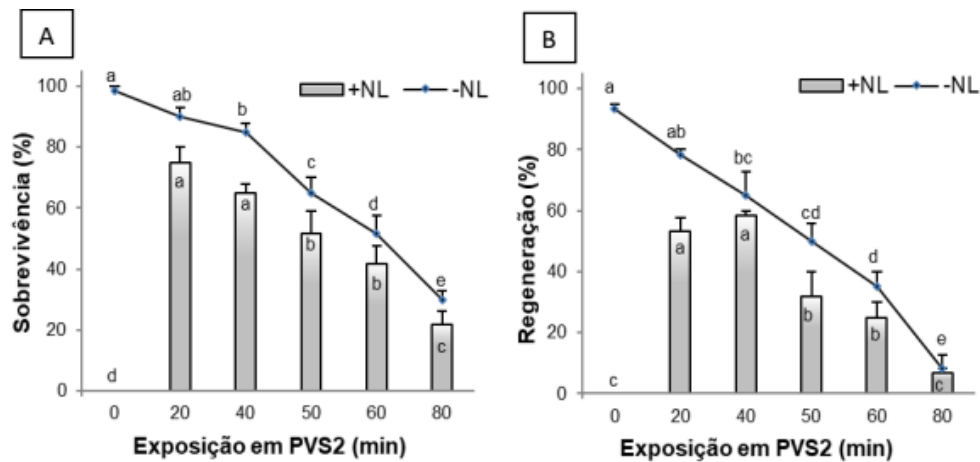
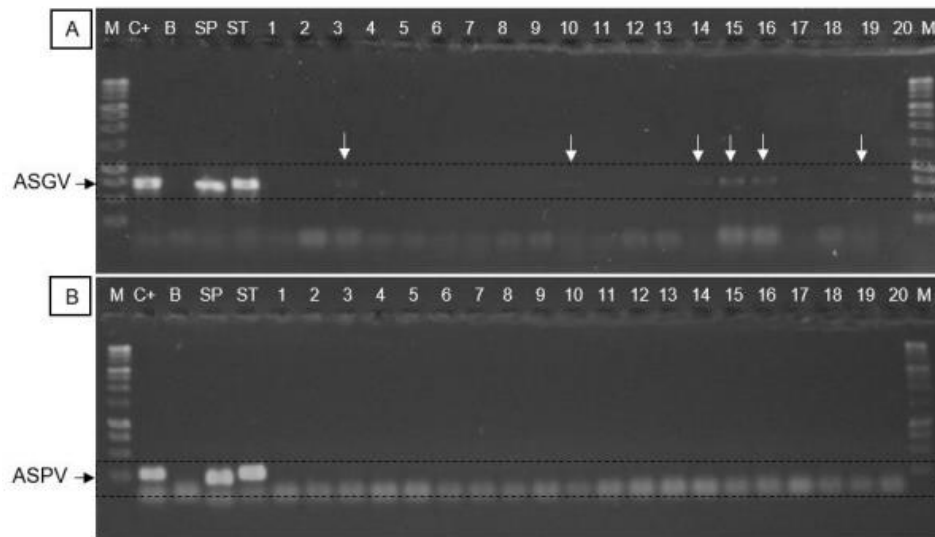


Fig 2. Detecção de ASGV (A) e ASPV (B) por RT-PCR a partir de plantas do porta-enxerto Marubakaido infectadas e tratadas pela técnica de crioterapia por vitrificação em gotas.



Marcador molecular (M); controle positivo (C+) (plantas de Marubakaido infectadas por ASGV em A e ASPV em B); controle branco (B); material in vitro infectado obtido pelas plantas infectadas em casa de vegetação (SP); explantes que passaram pelo procedimento de vitrificação em gotas sem congelamento em NL (ST); plantas após regeneração que passaram pela crioterapia por vitrificação em gotas (1-20). Setas brancas indicam a amplificação de vírus em amostras que passaram por crioterapia.