XVI Encontro Sobre a Cultura do Amendoim
15 a 17 de agosto de 2019 na Estação de Eventos Cora Coralina e FCAV/UNESP,
Jaboticabal-SP

DETECÇÃO DE TCSV E GRSV EM AMOSTRAS DE AMENDOIM COM
SINTOMAS DE MANCHA ANELAR

Fernanda Oliveira da Cunha Magalhães¹; Jair Heuert²; Marcel Rodrigo Bazanella³; Nelson Dias Suassuna⁴; Rodolfo Pires Ribeiro⁵ e Taís de Moraes Falleiro Suassuna⁴

¹Química, Analista da Embrapa Algodão, Santo Antônio de Goiás-GO, fernanda.magalhaes@embrapa.br; ²Engenheiro Agrônomo, Núcleo Cerrado, Embrapa, Santo Antônio de Goiás-GO, jair.heuert@embrapa.br; ³Engenheiro Agrônomo; Amenco Agroindustrial Ltda. Tupã-SP; ⁴Pesquisadores, Núcleo Cerrado, Embrapa, Santo Antônio de Goiás-GO, tais.suassuna@embrapa.br, nelson.suassuna@embrapa.br; ⁵Engenheiro Agrônomo, Beatrice Comércio Importação e Exportação de Amendoim Ltda. Tupã-SP, rodolfopiresribeiro@gmail.com

RESUMO: Durante a safra 2016-17, em áreas de avaliação das linhagens da Embrapa na região Oeste de São Paulo, foram observadas plantas com sintomas de mancha anelar: redução do crescimento e presença de anéis cloróticos. Foram coletadas 16 amostras de plantas sintomáticas no local, para avaliação quanto a presença de espécies de *Orthospovirus* por meio de RT-PCR. As amostras foram identificadas, acondicionadas em embalagens plásticas umedecidas, mantidas em caixa refrigerada por 24 horas e armazenadas em freezer a -80 °C no laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Arroz e Feijão. Foram utilizados primers específicos para detecção das espécies de *Tospovirus* TSWV, GRSV e TCSV. Os padrões de amplificações foram visualizados em três amostras para TCSV e em nove amostras para GRSV, das quais duas amostras apresentaram infecção mista de TCSV e GRSV. Anteriormente, dois estudos independentes detectaram GRSV em amostras de amendoim coletadas em São Paulo e de TCSV em amostras de amendoim coletadas em Goiás. A identificação dos agentes causais de mancha anelar é um importante alerta para o monitoramento da ocorrência de mancha anelar (área de ocorrência e severidade das epidemias), visando subsidiar o manejo cultural, cuja tecnologia mais eficiente é o desenvolvimento de cultivares resistentes.

Palavras-Chave: *Tospovirus*, RT-PCR, Amendoim.

INTRODUÇÃO

Epidemias de mancha anelar, uma doença do amendoim causadas por vírus do gênero *Tospovirus*, tem sido frequentes em áreas de produção em São Paulo nos últimos anos (CAMELO-GARCIA, 2014; SUASSUNA et al., 2016; RIBEIRO et al., 2017). As epidemias causadas por *Tospovirus* são disseminadas por diversas espécies de tripses virulíferos, o único meio conhecido de disseminação destas viroses. Não há manejo eficiente do vetor, e o desenvolvimento de cultivares

XVI Encontro Sobre a Cultura do Amendoim
15 a 17 de agosto de 2019 na Estação de Eventos Cora Coralina e FCAV/UNESP,
Jaboticabal-SP

resistentes e tolerantes é um dos pilares para o manejo cultural desta doença no amendoim (CULBREATH; SRINIVASAN, 2011).

Desde o primeiro relato de mancha anelar, em plantas de amendoim coletadas em São Paulo, em 1938 e 1939 (COSTA, 1950), esta doença foi detectada em muitas outras culturas e países. Porém, nenhum relato de epidemia causando perdas significativas havia sido registrado no Brasil. Recentemente, na safra 2012-13, epidemias severas de mancha anelar foram observadas em alguns plantios, tendo como agente causal o *Groundnut ring spot virus* (GRSV), e o vetor *Frankliniella schultzei* (Trybom) (CAMELO-GARCÍA, 2014). Durante a safra 2015-16, foram observadas plantas de amendoim com sintomas de mancha anelar na área experimental da Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás-GO; entre os sintomas clássicos, como anéis cloróticos, havia também folíolos com clareamento internerval. O agente causal identificado foi a espécie *Tomato Chlorotic Spot Virus* e o vetor *Frankliniella schultzei* (Trybom) (SUASSUNA et al., 2016).

Na safra 2016-17, foram novamente observadas plantas com sintomas de mancha anelar em área de avaliação de linhagens no município de Herculândia - SP. O objetivo deste trabalho foi identificar o agente causal de mancha anelar, em amostras coletadas no município de Tupã, São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de folíolos de amendoim com sintomas de clareamento das nervuras, mosaico e afundamento do tecido internerval, e anéis cloróticos foram coletadas em 16 pontos, na Fazenda Santa Luíza, Herculândia-SP, em área precedida por cultivo de cana de açúcar. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas sob refrigeração até análise de detecção de vírus.

O RNA total de cada amostra foi extraído pelo método Trizol, sendo posteriormente submetido à RT-PCR com a enzima transcriptase reversa M-MLV. As reações de RT-PCR com os primers específicos para detecção do RNA S de GRSV, TCSV e TSWV foram feitas com enzima Super Script III à 55°C e as PCRs subsequentes à 60°C e 65°C com os primers para detecção de TSWV e GRSV/TCSV, respectivamente (ALMEIDA et al. 2014). As análises foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás-GO.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das dezesseis amostras avaliadas, oito apresentaram resultado positivo para detecção de *Tospovirus*. Padrões de amplificações foram visualizados em sete amostras para *Groundnut ring spot virus* (GRSV) e, em três amostras para *Tomato Chlorotic Spot Virus* (TCSV). Duas amostras apresentaram infecção mista com GRSV e TCSV (Tabela 1).

O resultado das interações entre as cultivares de amendoim utilizadas nas áreas comerciais com as diversas espécies de vetores e as espécies de *Tospovirus* associadas à mancha anelar irá

XVI Encontro Sobre a Cultura do Amendoim
15 a 17 de agosto de 2019 na Estação de Eventos Cora Coralina e FCAV/UNESP,
Jaboticabal-SP

determinar a ocorrência de epidemias no Brasil. Em São Paulo e Goiás, o principal vetor associado à mancha anelar é a espécie de tripes *Frankliniella schultzei* (Trybom) (CAMELO-GARCIA, 2014; SUASSUNA et al., 2016). Duas espécies de *Tospovirus* também foram identificadas pelos mesmos autores: GRSV e TCSV.

Tabela 1 – Detecção de Orthotospovirus em amostras sintomáticas de folhas de amendoim.

Amostra	Espécie detectada
1	-
2	-
3	-
4	-
5	<i>Groundnut ring spot virus</i> (GRSV)
6	<i>Groundnut ring spot virus</i> (GRSV)
7	-
8	<i>Groundnut ring spot virus</i> (GRSV)
9	-
10	-
11	-
12	<i>Tomato Chlorotic Spot Virus</i> (TCSV)
13	<i>Groundnut ring spot virus</i> (GRSV)
14	<i>Groundnut ring spot virus</i> (GRSV) e <i>Tomato Chlorotic Spot Virus</i> (TCSV)
15	<i>Groundnut ring spot virus</i> (GRSV) e <i>Tomato Chlorotic Spot Virus</i> (TCSV)
16	<i>Tomato Chlorotic Spot Virus</i> (TCSV)

Em outras culturas, como tomate e melão, GRSV e TCSV foram recentemente consideradas espécies emergentes causadoras de mancha anelar, havendo também infecções mistas (WEBSTER et al., 2015). Relatos de infecção mista de vírus de RNA, como *Tospovirus*, são preocupantes devido à chance de recombinação ou rearranjo dos genomas, e a geração de mudanças no agente causal, como maior virulência.

CONCLUSÕES

Foi detectado, via RT-PCR com primers específicos, a presença de GRSV e TCSV em amostras de amendoim, coletadas na região Oeste do estado de São Paulo;

XVI Encontro Sobre a Cultura do Amendoim
15 a 17 de agosto de 2019 na Estação de Eventos Cora Coralina e FCAV/UNESP,
Jaboticabal-SP

A identificação de infecções mistas de GRSV e TCSV reforçam a necessidade de maiores estudos, visando o monitoramento e a prevenção de epidemias severas no futuro, incluindo o desenvolvimento de cultivares resistentes.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem pela cooperação técnica e financeira da Amenco Agroindustrial e da Beatrice Peanuts.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M.M.S.; ORÍLIO, A.F.; MELO, F.L.; RODRIGUEZ, R.; FELIZ, A.; CAYETANO, X.; MARTÍNEZ, R.T.; RESENDE, R.O. The First Report of Tomato chlorotic spot virus (TCSV) Infecting Long Beans and Chili Peppers in the Dominican Republic. **Plant Disease**, 2014. vol. 98, p. 285.
- CAMELO-GARCIA, V.M.; LIMA, E.F.B.; MANSILLA-CÓRDOVA, P.J, REZENDE, J.A.M.; KITAJIMA, E.W.; BARRETO, M. Occurrence of groundnut ringspot virus on Brazilian peanut crops. **Journal of Genetics and Plant Pathology**, 2014. vol. 80, p. 282–286.
- COSTA, A.S Mancha anular do amendoim causada pelo vírus de vira-cabeça. **Bragantia**, 1950. vol. 10, p. 67-69.
- CULBREATH, A.K.; SRINIVASAN, R. Epidemiology of spotted wilt disease of peanut caused by *Tomato Spotted Wilt Virus* in Southeastern U.S. **Virus Research**, 2011. vol. 159, p. 101-109.
- CULBREATH, A.K.; TUBBS, R.S.; TILLMAN, B.L.; BEASLEY JR., J.P.; BRANCH, W.D.; HOLBROOK, C.C.; SMITH, A.R.; SMITH, N.B. Effects of seeding rate and cultivar on tomato spotted wilt of peanut. **Crop Protection**, 2013. vol. 53, p. 118-124.
- RIBEIRO, R. P.; HEUERT, J.; SUASSUNA, N. D.; SUASSUNA, T. M. F. Desempenho de linhagens de amendoim sob alta severidade de doenças foliares. In: Anais do encontro sobre a cultura do amendoim, 2017, São Paulo. **Anais eletrônicos...** Campinas, GALOÁ, 2017.
- Disponível em: < <https://proceedings.science/encontro-amendoim-2017/papers/desempenho-de-linhagens-de-amendoim-sob-alta-severidade-de-doencas-foliares?lang=pt-br>> Acesso em: 22 jun. 2019.
- SRINIVASAN, R.; ABNEY, M.R.; LAI, P.C., CULBREATH, A.K.; TALLURY, S. e LEAL-BERTIOLI, S.C.M.. Resistance to Thrips in Peanut and Implications for Management of Thrips and Thrips-Transmitted Orthospoviruses in Peanut. **Frontiers in Plant Science**, 2018. 9:1604. doi: 10.3389/fpls.2018.01604

XVI Encontro Sobre a Cultura do Amendoim
15 a 17 de agosto de 2019 na Estação de Eventos Cora Coralina e FCAV/UNESP,
Jaboticabal-SP

SUASSUNA, T.M.F; ALMEIDA M.M.S; RESENDE, R.O; LIMA, M.G.A; FARIA, J.C; HEUERT, J.; SUASSUNA, N.D.; (2016) Identificação de Tospovírus em amostras de amendoim com sintomas de clareamento das nervuras no estado de Goiás. XIII Encontro sobre a cultura do amendoim, **Anais eletrônicos...** UNESP Jaboticabal: 97-102.

SUNDARAJ, S.; SRINIVASAN, R.; CULBREATH, A.; RILEY, D.; PAPPU, H. Plant resistance against tomato spotted wilt virus (TSWV) in peanut (*Arachis hypogaea*) and its impact on susceptibility to the virus, virus population genetics, and vector feeding behavior and survival. **Phytopathology**, 2014. vol. 104, p. 202–210.

WEBSTER, C.G.; FRANTZ, G.; REITZ, S.R.; FUNDERBURK, J.E.; MELLINGER, H.C.; MCAVOY, E.; TURECHEK, W.W.; MARSHALL, S.H.; TANTIWANICH, Y.; MCGRATH, M.T.; et al. Emergence of Groundnut ringspot virus and Tomato Viruses in Vegetables in Florida and the Southeastern United States. **Phytopathology** 2015, 105, 388–398.